

UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

Nikola M. Horvacki

**FITOHEMIJSKA KARAKTERIZACIJA AUTOHTONIH
SORTI JABUKE IZ SRBIJE**

Doktorska disertacija
Beograd, 2025.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF CHEMISTRY

Nikola M. Horvacki

**PHYTOCHEMICAL CHARACTERISATION OF
AUTOCHTHONOUS APPLE VARIETIES FROM SERBIA**

Doctoral dissertation
Belgrade, 2025.

Mentori:

Dr Dušanka Milojković – Opsenica, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Hemijski Fakultet

Dr Milica Fotirić – Akšić, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni Fakultet

Komisija:

Dr Maja Natić, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Hemijski Fakultet

Dr Filip Andrić, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Hemijski Fakultet

Dr Dejan Đurović, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni Fakultet

U Beogradu, __. __. 2025.

FITOHEMIJSKA KARAKTERIZACIJA AUTOHTONIH SORTI JABUKE IZ SRBIJE

Predmet ove disertacije je fitohemijski sastav autohtonih i odomaćenih sorti jabuke (*Malus domestica* Borkh.) sa teritorije Republike Srbije. Radi poređenja ispitane su i alohtone sorte – komercijalne internacionalne standardne sorte i rezistentne sorte. Ispitivani uzorci su prikupljeni sa istog lokaliteta. Ispitivani su plod (razdvojen na mezokarp i pokožicu) i list. Analizirani fitohemijski parametri (sadržaj šećera, organskih kiselina i elemenata, kao i ispitivanje sadržaja i profila fenolnih jedinjenja) su razmotreni u cilju isticanja pozitivnih osobina autohtonih sorti i postavljanja temelja za dalje studije. Takođe su optimizovane neke od upotrebljenih analitičkih metoda.

Pojedinačna jedinjenja su kvantifikovana primenom HPAEC-PAD, HPAEC-CD, ICP-OES, ICP-QMS i UHPLC-DAD MS/MS metoda. Fenolni profil je ispitivan kod mezokarpa odabranih uzoraka, primenom tačne hromatografije spregnute masenom spektrometrijom, LTQ Orbitrap XL MS sistemom. Primenom bioautografije ispitana je antimikrobna aktivnost ekstrakata mezokarpa, pokožice i lista jabuke. Zatim je razdvajanje odabranih ekstrakata ponovljeno da bi ekstrakti bili frakcionisani ekstrakcijom iz zona definisanih prema antimikrobnoj aktivnosti na razvijenoj TLC ploči. Detaljna karakterizacija jedinjenja u dobijenim frakcijama je obavljena primenom UHPLC QToF MS tehnike.

Rezultati kvantifikacije sadržaja saharida i organskih kiselina u mezokarpu ukazuju da pojedine autohtone sorte mogu da nađu sličnu primenu kao i standardne desertne sorte. Analiza sadržaja elemenata ne ukazuje njihov uticaj u razdvajanju uzoraka po sortama, ali postoje razlike prema tipu tkiva. U poređenju sa ispitivanim standardnim i rezistentnim sortama, kod autohtonih sorti u većoj količini su prisutni floretin, florizin, 5-*O*-kfeoilkininska kiselina, kamferol, i *p*-kumarinska kiselina. Primetan je i veći sadržaj ukupnih fenola i veća antioksidativna aktivnost kod autohtonih sorti. Metanolni ekstrakti pokožice i lista su pokazali antimikrobnu aktivnosti na ispitivanim sojevima bakterija (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* i *Erwinia amylovora*), pri čemu je u inhibicionim zonama ustanovljeno prisustvo triterpenoida, kumaroil- i kefeoilkininskih kiselina i njihovih metil- derivata, kvercetina i njegovih glikozida, floretina i njegovih glikozida, kao i acilovanih derivata floretina, koji su prvi put opisani u listu i plodu jabuke.

Ključne reči: Jabuka; Autohtone sorte; Bioautografija; Tačna hromatografija spregnuta sa masenom spektrometrijom; Jonska hromatografija.

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Analitička hemija

PHYTOCHEMICAL CHARACTERISATION OF AUTOCHTHONOUS APPLE VARIETIES FROM SERBIA

The subjects of this study was the phytochemical content of autochthonous and nostrificated apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) from the territory of Serbia. For comparison, commercial international standard cultivars and resistant apple cultivars were also analysed. All samples were obtained from the same locality, fruits (separated into mesocarp and peel) and leaves were analysed. The evaluated phytochemical parameters (sugar, organic acid, element, and phenolic content) were assessed with the aim to express the positive properties of autochthonous apple cultivars and to create a foundation for further studies. Also, some of the used analytical methods were optimised.

Quantification of individual compounds was performed with HPAEC-PAD, HPAEC-CD, ICP-OES, ICP-QMS and UHPLC-DAD MS/MS methods. Phenolic profile in mesocarp of selected cultivars was obtained by the usage of high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry, with LTQ OrbiTrap XL MS system. Antimicrobial activity in mesocarp, peel, and leaves was assessed with the employment of bioautography. The separation of selected extracts was repeated to fractionate the extracts correspondingly to the delineated inhibition zones on the TLC plate. Detailed characterisation of the compounds present in the fractions was performed with the usage of UHPLC QToF MS system.

Obtained results of sugars and organic acid quantification in mesocarp are implying that some autochthonous cultivars have potential to be used in the same manner as commercial dessert apple cultivars. The analysis of elemental content does not indicate their influence on separation of samples by variety, although there are differences dependent on the tissue type. Phloretin, phlorizin, 5-O-caffeoylquinic acid, kaempferol, and *p*-coumaric acid are present in significantly higher levels in the autochthonous cultivars, in comparison to the examined standard and resistant cultivars. Higher total phenolic content and antioxidant activity was also determined in autochthonous cultivars. Obtained results of Peel and leaf extracts have shown antimicrobial activity against the investigated bacteria strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Erwinia amylovora*). In the growth-inhibition zones presence of triterpenoids, coumaoyl-, and coffeoylquinnic acids, their glycosides, and phloretin glycosides and acylated derivatives was determined. Some acylated phloretin derivatives were described for the first time in apple leaves.

Keywords: Apple; autochthonous cultivars; Bioautography; UHPLC-LTQ OrbiTrap XL; UHPLC-DAD MS/MS; Ion-chromatography

Scientific area: Chemistry

Field of Academic Expertise: Analytical Chemistry

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	2
2.1. Poreklo, agroekologija i značaj jabuke	2
2.2. Hemijski sastav jabuke	3
2.3. Metode analize fitohemijskog sastava	5
2.3.1. Spektrofotometrijske metode	5
2.3.1.1. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih fenola	5
2.3.1.2. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidativne aktivnosti	6
2.3.2. Hromatografske metode	7
2.3.2.1. Visokoeffikasna tankoslojna hromatografija (HPTLC)	7
2.3.2.2. Visokoeffikasna jonska hromatografija	7
2.3.2.3. Ultraeffikasna tečna hromatografija sa masenom detekcijom (UPLC-MS)	9
2.3.3. Metode određivanja pojedinačnih elemenata	10
2.4. Obrada rezultata	11
2.4.1. Analiza varijanse	11
2.4.2. Analiza glavnih komponenata	13
2.4.3. Priprema sirovih hromatografskih podataka za multivarijantnu analizu	13
3. EKSPERIMENTALNI DEO	16
3.1. Uzorci	16
3.2. Reagensi i standardi	17
3.3. Ekstrakcija uzoraka	18
3.3.1. Priprema metanolnih ekstrakata mezokarpa i pokožice	18
3.3.2. Priprema vodenih ekstrakata mezokarpa	18
3.3.3. Priprema metanolnih ekstrakta lista	18
3.3.4. Priprema vodenih ekstrakata lista	18
3.4. Visokoeffikasna jonska hromatografija	19
3.5. Određivanje sadržaja elemenata	21
3.5.1. Digestija uzoraka za elementalnu analizu	21
3.5.2. Analiza sadržaja elemenata	21
3.6. Spektrofotometrijski testovi	22
3.6.1. Određivanje ukupnog sadržaja fenola (TPC)	22
3.6.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti inhibicijom DPPH radikala	22
3.7. Tankoslojna hromatografija	22
3.8. Visokoeffikasna tečna hromatografija – analiza bioaktivnih jedinjenja	24
3.8.1. Kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja (UHPLC-DAD MS/MS)	24
3.8.2. Određivanje polifenolnog profila	25
3.9. Statistička obrada podataka	26

4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	27
4.1. Analiza sadržaja pojedinačnih šećera i karboksilnih kiselina kratkog niza u mezokarpu	27
4.2. Analiza sadržaja pojedinačnih šećera i karboksilnih kiselina kratkog niza u listu.....	34
4.3. Analiza sadržaja elemenata	40
4.5. Analiza sadržaja pojedinačnih fenola	47
4.6. Visokoeffikasna tankoslojna hromatografija (HPTLC)	58
4.6.1. HPTLC – hemijska derivatizacija – obrada rezultata.....	60
4.6.2. HPTLC – bioautografija	62
4.7. Hromatografija spregnuta sa masenom spektrometrijom visoke rezolucije	66
4.7.1. Određivanje profila fenolnih jedinjenja u ekstraktima mezokarpa.....	66
4.7.2. Identifikacija biološki aktivnih jedinjenja u ekstraktima pokožice i lista	73
4.7.3. Upoređivanje LC-MS profila i TLC ispitivanja.....	78
5. ZAKLJUČAK.....	79
6. LITERATURA	81
7. PRILOG.....	93

Spisak čestih skraćenica

ANOVA	<i>Analysis of variance</i> , analiza varijansi
APCI	<i>Atmospheric-pressure chemical ionisation</i> , Hemijska jonizacija pri atmosferskom pritisku
APPI	<i>Atmospheric-pressure photoionisation</i> , fotojonizacija pri atmosferskom pritisku
ASA	Anisaldehyd – sumporna kiselina reagens
CD	<i>Conductometric detection</i> , konduktometrijska detekcija
DAD	<i>Diode array detection</i> , detekcija sa nizom dioda
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal
GAE	<i>Gallic acid equivalent</i> , Ekvivalent galne kiseline
ESI	<i>Electrospray Ionisation</i> , elektrosprej jonizacija
GA	Galna kiselina
HPAEC	<i>High Performance Anion Exchange Chromatography</i> , visokoefikasna anjonoizmenjivačka hromatografija
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> , visokoefikasna tečna hromatografija
HPTLC	<i>High performance thin layer chromatography</i> , visokoefikasna tankoslojna hromatografija
ICP	<i>Inductively coupled plasma</i> , indukovano kuplovana plazma
QMS	<i>Quadrupole MS</i> , masena spektrometrija sa kvadrupol analizatorom
LB	<i>Luria Bertani</i> podloga
LOD	<i>Limit of detection</i> , granica detekcije
LOQ	<i>Limit of quantification</i> , granica kvantifikacije
MANOVA	<i>Multivariate analysis of variance</i> , multivarijantna analiza varijansi
MS	<i>Mass spectrometry</i> , masena spektrometrija
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NEU	Neu-ov reagens (rastvor 2-aminoetil-difenilborinata)
OES	<i>Optical emission spectroscopy</i> , optička emisiona spektroskopija
PAD	<i>Pulsed amperometric detection</i> , pulsno amperometrijska detekcija
PCA	<i>Principal component analysis</i> , analiza glavnih komponenti
PEG	Polietilen-glikol
QqQ	Trostruki kvadrupol analizator
RF	<i>Radio frequency</i> , radio frekvencija
RP-C18	Reverzno fazni hromatografski sistem sa oktadecil modifikovanim silikagelom kao stacionarnom fazom
RSA	<i>Radical scavenging activity</i> , relativna antioksidativna aktivnost
TE	Ekvivalent troloksa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina)
TLC	<i>Thin layer chromatography</i> , tankoslojna hromatografija
TOF	<i>Time of flight</i> , MS analizator na principu vremena preleta
TPC	<i>Total phenolic content</i> , sadržaj ukupnih fenola
UPLC	<i>Ultra performance liquid chromatography</i> , ultravisokoefikasna tečna hromatografija
UV-VIS	Ultraljubičta – vidljiva (svetlost, detekcija)

1. UVOD

Smatra se da je jabuka (*Malus domestica* Borkh) jedna od najbitnijih gajenih kultura voća u umerenim i hladnijim klimatskim regionima, a uspešno se gaji i u tropskim oblastima ¹. Iako je opisano skoro 10.000 sorti i genotipova jabuke, mali broj sorti je prisutan u komercijalnim plantažama ². Veći deo genetskog biodiverziteta jabuke sačuvan je u profesionalnim i amaterskim kolekcijama, kao i u izolovanim, nekomercijalnim zasadima koji broje po nekoliko stabala ³. Stare i autohtone sorte jabuke karakteriše veća morfološka raznolikost, a u mnogim slučajevima i bogatiji i složeniji fitohemijski profil u poređenju sa trenutno najzastupljenijim sortama jabuke ^{4,5}. Autohtone sorte jabuke su, po pravilu, prilagođene lokalnim uslovima gajenja, a može se očekivati i bolja otpornost autohtonih sorti prema patogenim organizmima ^{3,4}.

Poznavanje fitohemijskog sastava velikog broja sorti voća i njihovo povezivanje sa morfološkim i agroekonomskim karakteristikama je neophodno kako bi se omogućio dalji razvoj oplemenjivačkih programa i sortimenta. Cilj oplemenjivačkih programa je da se odgovori potrebama potrošača, ali i prevaziđu izazovi koji su uzrokovani klimatskim promenama, napadima štetočina i bolesti, i sve to uz zaštitu životne sredine. Poznavanje hemijskog sastava autohtonih sorti jabuke, može da ukaže na mogućnosti njihove upotrebe sa ciljem razvoja i dobijanja proizvoda sa poboljšanim svojstvima kao što je veće prisustvo antioksidanata. Porast svesti potrošača o prednostima fitohemijski bogatih proizvoda i zahtevi za specifičnim dijetetskim režimom, takođe otvaraju potrebu i za ispitivanjem starih i autohtonih sorti ².

U više evropskih zemlja (Italija, Velika Britanija, Poljska, Nemačka, Danska, Hrvatska) prethodnih godina su ispitivana svojstva starih sorti jabuke ⁶. U studijama koje su obuhvatale veći broj komercijalnih i lokalnih sorti ispitivan je sadržaj polifenola, elemenata, šećera i isparljivih (mirisnih) supstanci ⁷. Međutim, u Srbiji je mali broj autohtonih sorti jabuke bio predmet fitohemijskih ispitivanja pri čemu je težište bilo na određivanju sadržaja polifenola i elemenata ⁸. Zbog toga je u okviru ove disertacije planirano ispitivanje statistički značajnog broja sorti jabuke iz grupe standardnih i rezistentnih internacionalnih sorti, kao i autohtonih sorti (ukupno 30 sorti jabuke), i to ploda, kao ekonomski značajnog proizvoda i lista kao primarnog izvora metabolita koji određuju rast i razvoj biljke.

Cilj planiranih istraživanja je sistematska fitohemijska karakterizacija autohtonih sorti jabuke sa teritorije Republike Srbije i njihovo poređenje sa konvencionalnim rezistentnim sortama jabuke. Pored karakterizacije uzoraka, istraživanja su podrazumevala i optimizaciju dela primenjenih analitičkih tehnika u kako bi postojali optimalni uslovi razdvajanja ispitivanih jedinjenja.

2. OPŠTI DEO

2.1. Poreklo, agroekologija i značaj jabuke

Jabuka (*Malus domestica* Borkh) je višegodišnja drvenasta biljka, rasprostranjena vrsta voća u umerenim klimatskim regionima. Rod *Malus* pripada porodici Rosaceae i potfamiliiji *Pomoideae* (*Maloideae*), koja takođe obuhvata i druge vrste gajenog voća kao što su kruška (*Pyrus communis*) i dunja (*Cydonia oblonga*)^{9,10}.

Pretkom gajene jabuke (*M. domestica* Borkh) smatra se srednjeazijska divlja jabuka *M. sieversii*, sa kojom postoji morfološka sličnost. *M. sieversii* karakteriše raznolikost u načinu rasta i visine drveta, kao i raznolikost u kvalitetu, prinosu i veličini ploda. Veličina ploda *M. sieversii* može da dostigne prečnik od 60 mm, što je više u poređenju sa plodovima drugih biljaka iz roda *Malus*. Postoji značajan doprinos *M. sylvestris*, *M. baccata* i *M. orientalis* karakteristikama savremene gajene jabuke¹. Jabuku karakteriše mehanizam potpune ili delimične samonekompatibilnosti koji značajno utiče na raznolikost sorti i genotipova¹¹. Na genetsku i morfološku raznolikost jabuke pored planskog oplemenjivanja uticali su i raznoliki uslovi sredine kojima je jabuka bila izložena prilikom čovekovih migracija tokom istorije^{1,10}. Kao epilog selekcije jabuke, koja traje više vekova, u zemljama umerenog klimatskog regiona razvijen je veliki broj sorti. Očuvanju postojećih sorti u velikoj meri je doprinelo vegetativno razmnožavanje biljaka⁵.

Iako se jabuka uglavnom gaji u umerenim klimatskim regionima, ovu vrstu karakteriše prilagodljivost različitim klimatskim uslovima. Gaji se u različitim klimatskim uslovima: u hladnijim (Kanada, Norveška i Rusija), umerenim (deo Evrope i Severne Amerike) i u tropskim oblastima (Brazil i Meksiko)¹. Na severnoj hemisferi se gaji u oblasti od 25 °N do 52 °N¹². U tropskim oblastima pojedine sorte, na većim nadmorskim visinama, mogu dati dve berbe u toku godine¹³.

Ekonomski značajan proizvod je plod jabuke, koji se koristi u ljudskoj ishrani i kao industrijska sirovina¹⁴. Prema podacima FAOSTAT-a za 2023. godinu, jabuka se gaji na površini od 4,6 miliona hektara, uz proizvodnju nešto više od 97 miliona tona. Najveći proizvođač je NR Kina, dok se u Evropi proizvodi 18% globalne proizvodnje jabuke, pri čemu su najveći proizvođači Poljska i Italija¹⁵. U državama koje su vodeći proizvođači jabuke na području Evropske unije između 2017. i 2021. godine najzastupljenije sorte su Zlatni delišes (19,1%), Gala (12,9%), Ajdared (6,7%), Crveni delišes (6,7%), i Šampion (5,9%)¹⁶. Na području Srbije, ekonomski najznačajnije sorte jabuke su: Gala, Jonagold, Zlatni delišes, Crveni delišes, Ajdared i Greni Smit. Zlatni delišes, Crveni delišes su uvedeni u praksu gajenja 40-ih godina XX veka, Jonagold, Ajdared i Greni Smit 70-ih godina XX veka, a Gala i njeni klonovi, kao i novi klonovi Zlatnog delišesa i Crvenog delišesa se uvode početkom 2000-ih godina¹⁷.

Od početka milenijuma povećana pažnja se posvećuje ispitivanjima postojećih genetskih resursa voća kao i očuvanju lokalnih i starih sorti. Autohtone sorte poseduju potencijalno pozitivne pomološke osobine i rezistentnost prema biotskom i abiotiskom stresu, što ih čini pogodnim za primenu u radi unapređenja održivosti proizvodnje hrane^{2,18}. Poželjne osobine ploda jabuke jesu transportabilnost i postojanost pri skladištenju, određeni nivo slasti ili kiselosti, adekvatna boja, oblik, kao i odsustvo oporog ukusa¹⁰. Klimatske promene, ograničavanje upotrebe pesticida i zahtevi potrošača, su glavni pokretači selekcije novih sorti. Važan cilj je razvoj sorti koje su tolerantnije prema suši i izraženim promenama temperature, kao i sorti koje su manje privlačne parazitskim insektima i otporne pre svega na izazivače čađave krastavosti (*Venturia inaequalis*) i plamenjače (*Erwinia amylovora*), kao bolesti koje nanose najveću ekonomsku štetu u zasadima jabuke¹³.

2.2. Hemijski sastav jabuke

Plod jabuke ulazi u ljudsku ishranu kao sirov plod ili u obliku prerađevina (sok, džem i drugo). Jabuka je značajan izvor šećera, minerala, biljnih vlakana i bioaktivnih supstanci, kao što su vitamin C, fenolna jedinjenja (fenolne kiseline i flavonoidi), karotenoidi i terpeni¹⁹⁻²¹. Fitohemijski sastav i nutritivna svojstva zavise od sorte, podloge, uslova gajenja, prihrane biljke i drugih agrotehničkih mera, kao i faktora koji zavise od uslova skladištenja proizvedenog ploda²².

U plodu jabuke najzastupljeniji šećer je fruktoza^{2,23}. Po koncentraciji slede saharoza i glukoza, čija zastupljenost zavisi od sorte i klimatskih uslova. Primera radi, u rezultatima autora *Aprea i sar.*, *Li i sar.* i *Tschida i sar.*, kod većine uzoraka kvantifikovana je veća količina glukoze u odnosu na fruktozu, ali ipak postoji i manji broj uzoraka kod kojih je fruktoza dominantna²³⁻²⁵. Čelijski zid ploda jabuke se uglavnom sastoji iz celuloze, metilovanih pektina bogatih ksilogalakturonima i hemiceluloze koje sadrže fukogalaktoksiloglukan i manan²⁶. Najzastupljeniji šećerni alkohol u plodu jabuke je sorbitol²⁴, koji učestvuje u transportu ugljenika od lista, kao organa u kome se vrši fotosinteza, do ploda i drugih organa potrošača ugljenika²⁷.

Najzastupljenija kiselina u plodu je jabučna kiselina^{28,29}. U plodu divljih biljaka iz roda *Malus* (*M. toringoides*, *M. sargentii* *M. manshurica*) prisutna je relativno velika količina limunske kiseline, što kod gajene jabuke nije slučaj²⁸.

Od minerala, najzastupljeniji je kalijum, kojeg slede kalcijum, magnezijum i fosfor^{23,30}.

U plodu jabuke je zastupljeno pet klasa fenolnih jedinjenja: hidroksicimetne kiseline, monomerni i oligomerni flavan-3-oli (proantocijanidini), dihidrokalkoni, flavonoli i antocijanidini (u pokožici, ili u mezokarpu samo kod sorti jabuke sa crvenom bojom mezokarpa)^{26,31,32}. Osnovu strukture ovih jedinjenja čini jedno ili više fenolnih jezgara. Brojem fenolnih jezgara i stepenom polimerizacije uslovljena je složenost njihove strukture³³. Najjednostavnija podela u zavisnosti od strukture je na ne-flavonoide i flavonoide. Prema ovom kriterijumu u flavonoide se kategorišu sva fenolna jedinjenja sa C₆-C₃-C₆ strukturom, dok ne-flavonoide čine derivati hidroksibenzoeve kiseline (C₆-C₁ struktura), kao i cimetne kiseline (C₆-C₃ struktura)³⁴. Takva podela svodi u okvire neke od dve pomenute kategorije jedinjenja koje su prema pojedinim podelama hijerarhijski ravnopravne sa flavonoidima. Fenolna jedinjenja, odnosno polifenoli, imaju ulogu kao fitoalekseni, repelenti, atraktanti, boje, antioksidanti, ligandi jona metala i faktori zaštite od ultra-ljubičastog zračenja. Prisutvo pojedinih jedinjenja i njihova koncentracija pre svega zavisi od biljnog tkiva koje se ispituje, biljne vrste i sorte, uslova u kojima jedinka živi i razvojne faze u kojoj se nalazi^{33,35}. Prekursor fenolnih jedinjenja kod biljaka je fenilalanin, koji je proizvod šikimatnog puta (**Slika 1**)³⁵.

U površinskim tkivima, kao što su pokožica ploda i list, prisutne su relativno velike količine glikozida kvercetina, kao što su: kvercetin-3-*O*-galaktozid, kvercetin-3-*O*-rhamnoid, kvercetin-3-*O*-glukozid³⁶⁻³⁸. List jabuke se posebno ističe po sadržaju floretina i njegovih glikozida^{38,39}.

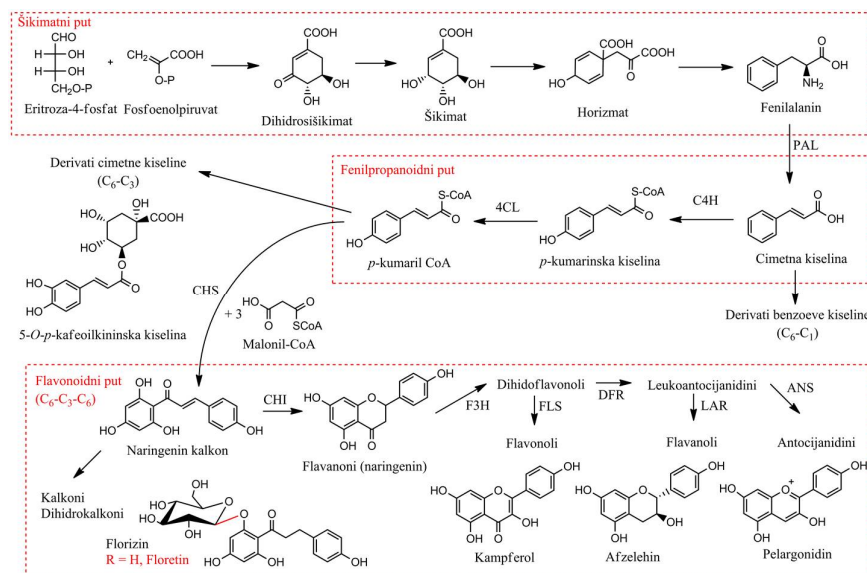
U unutrašnjem delu ploda zastupljeni su derivati fenolnih kiselina i kininske kiseline (hlorogene kiseline)⁴⁰. Hlorogene kiseline se smatraju jakim antioksidantima i njihovo konzumiranje ima pozitivan uticaj na ljudsko zdravlje⁴¹, a takođe je opisano da imaju i antimikrobna svojstva⁴².

Floretin i njegovi glikozidi su fenolna jedinjenja karakteristična za jabuku, iako su prisutni još u nekim biljkama iz porodice Rosacea^{39,43}, ali u primetno manjim koncentracijama³⁹. Florizin (floretin-2'-*O*-glukozid) je fitoaleksin koji je povezan sa smanjenjem osetljivosti jabuke prema patogenima^{43,44}. U literaturi je opisano da florizin ima pozitivan efekat na homeostazu glukoze i metabolizam lipida^{43,45}.

Isoprenoidi, odnosno terpenoidna jedinjenja, prvenstvo se posmatraju kao sekundarni metaboliti, ali imaju značajne uloge i u primarnom metabolizmu kao komponente ćelijske membrane, pigmenti pri fotosintezi (fitol, deo strukture hlorofila), obavljaju transfer elektrona (ubihinoni), imaju ulogu kao hormoni (giberelinska kiselina) i antioksidanti (β-karoten). Kao sekundarni metaboliti doprinose mirisu cveta i ploda biljke i dejstvuju kao repelenti prema štetnim insektima⁴⁶.

Osnovom strukture terpena se smatra jedinica izoprena koja sadrži pet atoma ugljenika. U zavisnosti od broja ostataka izoprena, terpeni se dele na hemiterpene (C5), monoterpene (C10), seskviterpene (C15), diterpene (C20), triterpene (C30) i tetraterpene (C40).⁴⁷

Među terpenskim jedinjenjima, izraženu biološku aktivnost imaju triterpeni, kao što su ursolna i oleanska kiselina i njihovi derivati. Ova jedinjenja su prisutna na površinskim voskovima biljaka, pa tako i na pokožici ploda jabuke^{19,44,48}. Derivati triterpena ursanskog i oleanskog tipa skeleta sa *p*-kumarinskom kiselinom⁴⁹ i estri masnih kiselina sa terpenima ursanskog tipa⁵⁰ ispitivani su u ekstraktima pokožice jabuke. Yamaguchi i sar. su demonstrirali *in vitro* supresiju rasta tumorskih ćelija pod uticajem ekstrakata pokožice jabuke sorte Fudži bogatih ursolinskom kiselinom⁴⁸. Monoterpeni i diterpeni kao činioci isparljivih komponenti doprinose percipiranom mirisu i ukusu ploda jabuke. Opisano je prisustvo više od 300 isparljivih jedinjenja u svežim uzorcima jabuke. Detektovani su različiti alkoholi, aldehidi, kiseline, ketoni, terpenoidi i estri⁵¹. Pri ispitivanjima komponenti mirisa ploda jabuke iz grupe terpena opisano je prisustvo linalola, (Z)-linalol-oksida, farnezoila, geranilacetona⁵¹, α -farnezena^{52,53}, β -damaskona⁵⁴.



Slika 1. Pojednostavljeni prikaz biosinteze fenolnih jedinjenja. Skraćenice: PAL – fenilalaninamonija-liaza, C4H – cinamat-4-hidroksilaza, 4CL – 4-kumaoil-CoA-ligaza, CHS – kalkon-sintaza, CHI – kalkon-izomeraza, F3H – flavno-3-hidroksilaza, FLS – flavanol-sintaza, DFR – dihidroflavonol-reduktaza, LAR – leukoantocijanidin-reduktaza, ANS – antocijanidin-sintaza.

Seme jabuke je takođe bilo predmet više ispitivanja proteklih godina i prepoznato je kao izvor nezasićenih masnih kiselina, različitih derivata tokoferola i drugih antioksidanata. Seme jabuke čini značajan deo otpada prilikom proizvodnje soka^{55,56}. Fromm i sar. su ispitivali sadržaj ulja u semenu jabuke, pri čemu su ustanovili sadržaj od 14,3 do 29,4 g/100 g suve mase semena. U ulju je primenom gasne hromatografije sa masenom detekcijom (GC-MS) detektovano prisustvo palmitinske kiseline (C16:0), palmitoleinske (C16:1), stearinske (C18:0), oleinske (C18:1), linoleinske (C18:2), α -linoleinske (α -C18:3), arahidinske (C20:0), gondoinske (C20:1, Δ 11) i beheninske kiseline (C22:0). Kod ispitivanih sorti koje su tipične desertne jabuke (Gala, Topaz, Jonagold i Ajdared) izmeren je sadržaj ulja u rasponu od 23,1 do 25,1 g/100 g. U pomenutoj studiji je naglašeno da postoji izražen uticaj sorte i uslova sredine na lipidna jedinjenja koja se akumuliraju u semenu jabuke⁵⁵. Pored pomenutih masnih kiselina, u studiji Gornas i sar. su opisali i prisutvo terpenoidnih jedinjenja: kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol, avenasterol, Δ 7-stigmasterol i cikloartenol⁵⁶. U kasnijoj studiji ispitivan je sadržaj tokohromanola u semenkama jestivog voća familije Rosaceae, uključujući i jabuku. Opisano je prisustvo α -tokoferola, β -tokoferola, γ -tokoferola i δ -tokoferola. U semenkama jabuke najzastupljeniji su α i β -tokoferol⁵⁷.

2.3. Metode analize fitohemijskog sastava

U cilju kvantifikacije većine pomenutih jedinjenja prisutnih u jabuci, a i uopšteno u namirnicama biljnog porekla, u uobičajenoj laboratorijskoj praksi se najčešće primenjuju hromatografske metode zasnovane na različitim mehanizmima odvajanja i detekcije⁵⁸⁻⁶⁰. Takođe su značajne i jednostavne metode koje kao analizirane parametre imaju ukupan sadržaj neke klase jedinjenja. Tako su od značaja parametri kao što su sadržaj suve supstance prema Briksu¹⁰, ukupna kiselost i spektrofotometrijski testovi, kao što je sadržaj ukupnih polifenola (*Total phenolic content*, TPC), sadržaj ukupnih flavonoida (*Total flavonoid content*, TFC) i testovi antioksidativne aktivnosti^{33,61}. Uobičajeni parametar za opis slasti je Briksova skala koja na osnovu indeksa refrakcije rastvora predstavlja sadržaj suve supstance kao sadržaj saharoze. Za 85 % sadržaja suve supstance se smatra da je uslovljen sadržajem šećera i poliola. Kiselost se obično karakteriše preko količine titrabilnih kiselina u uzorku, koje se određuju volumetrijski¹⁰.

2.3.1. Spektrofotometrijske metode

Spektroskopija u ultraljubičastom (190 – 400 nm) i vidljivom delu spektra (400 – 700 nm) se koristi za identifikaciju i kvantifikaciju supstanci koje imaju hromofore i apsorbuju elektromagnetno zračenje na navedenim oblastima talasnih dužina. Koncentracija ispitivanog analita je proporcionalna njegovoj apsorbciji i izračunava se primenom Lambert-Beerovog zakona⁶². Apsorbanca ukazuje na koncentraciju prema sledećem obrascu:

$$A = \epsilon cl$$

Gde je:

- A - apsorbacija
- ϵ - molarni apsortivitet
- c - koncentracija
- l - dužina optičkog puta

2.3.1.1. Spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih fenola

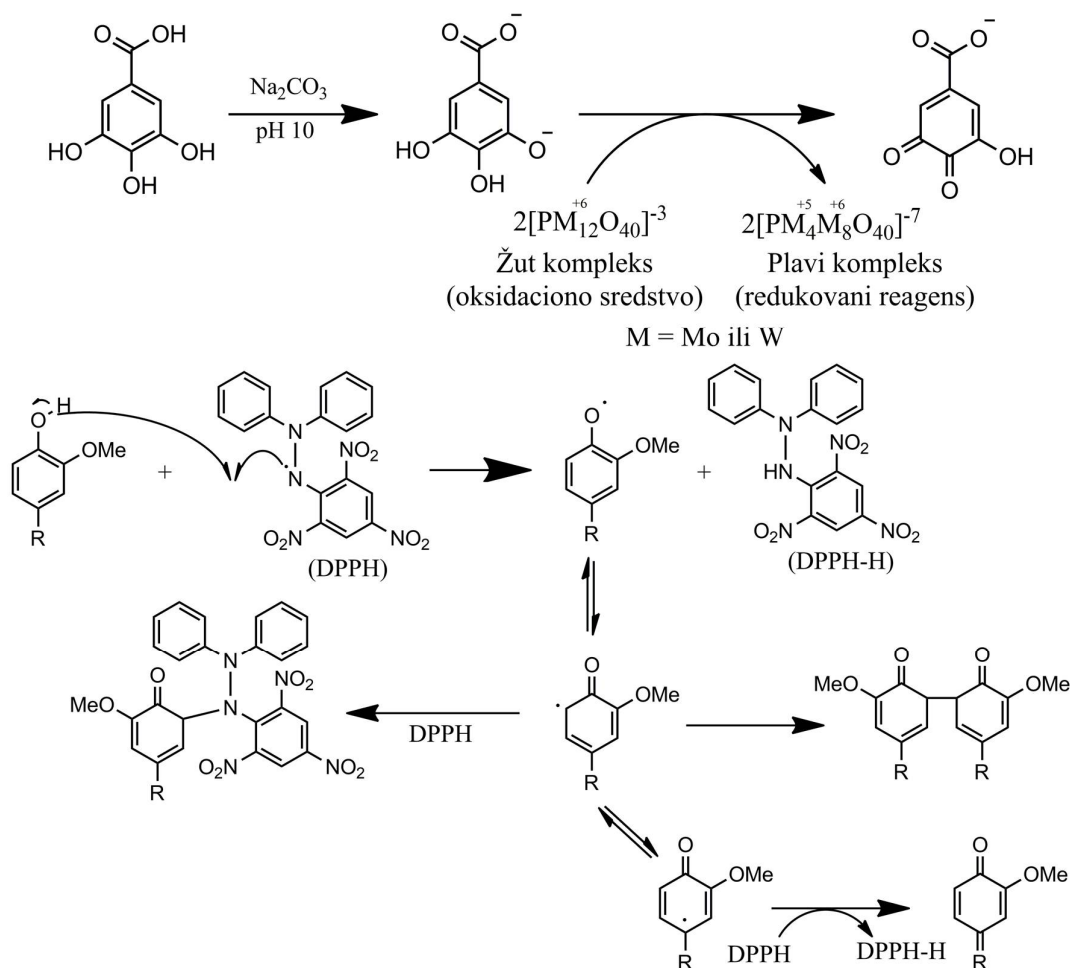
Za određivanje ukupnog sadržaja fenola, Folin-Čikalteu (*Folin-Ciocalteu*) esej nalazi široku primenu³³. Metoda je zasnovana na redoks reakciji (**Slika 2**), u kojoj fenolna jedinjenja u baznoj sredini predaju elektron reagensu koji se sastoji od fosfovolframata i fosfomolibdata. Reakcija se odvija u vodenom rastvoru. Polazni reagens je žute boje, a meri se apsorbcija tamnoplavog kompleksa dobijenog redukcijom reagensa. Kalibraciona prava se konstruiše najčešće upotrebom galne kiseline kao standarda, a rezultat se izražava kao ekvivalent broju mg galne kiseline u jediničnoj masi ili zapremini uzorka^{63,64}.

Ovaj metod nije potpuno selektivan prema fenolnim jedinjenjima. Druge redukujuće hemijske vrste kao aromatični amini, sumpor(IV)-oksid, askorbinska kiselina, bakar(I) i Fe(II) joni, učestvuju u redukciji Folin-Čikalteu reagensa. Iako je analiza vremenski zahtevna (većina protokola propisuje inkubaciono vreme od 2h) i zahteva vodenu sredinu, metod se široko primenjuje uz više standardizovanih varijacija i pokazuje zadovoljavajuću ponovljivost kalibracije i merenja⁶³.

2.3.1.2. Spektrofotometrijsko određivanje antioksidativne aktivnosti

Za spektrofotometrijsko određivanje antioksidativne aktivnosti najčešće se koristi hromogeni radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•), purpurne boje. Prilikom redukcije daje odgovarajući derivat hidrazina žute boje (**Slika 2**)^{63,65}. Meri se opadanje apsorbancije u odnosu na polazni rastvor reagensa, na osnovu koje se računa procenat inhibicije polaznog reagensa/radikala. Kalibraciona prava se konstruiše upotrebom troloksa, koja daje zavisnost procenta inhibicije od koncentracije troloksa. Ovako je omogućeno izražavanje antioksidativne aktivnosti kroz ekvivalente broja μmol -a troloksa⁶⁶.

Sterne smetnje prilikom prilaska reagensu ograničavaju reaktivnost. Stoga su mali molekuli podobniji za određivanje. Karotenoidi takođe remete određivanje jer imaju apsorbanciju na sličnoj talasnoj dužini kao na kojoj se obavlja merenje kod ovog esej. DPPH radikal je komercijalno dostupan i ne mora da se generiše prilikom reakcije kao što je slučaj sa ABTS testom⁶³.



Slika 2. Prikaz mogućih hemijskih reakcija kod Folin-Čikalteu esej (Pérez i sar., 2023⁶⁴) i kod DPPH testa (Brand-Williams i sar., 1995⁶⁵).

2.3.2. Hromatografske metode

Hromatografija je metoda razdvajanja komponenata smeše između mobilne i stacionarne faze. Razlika u afinitetu supstanci prema stacionarnoj ili mobilnoj fazi uslovljava zadržavanje supstance u hromatografskom sistemu i dovodi do razdvajanja komponenata polazne smeše ⁶⁷.

2.3.2.1. Visokoeфикасна tankoslojna hromatografija (HPTLC)

Visokoeфикасна tankoslojna hromatografija je fleksibilna i robustna metoda koja nalazi značajnu primenu pre svega kod inicijalnih i skrining ispitivanja, kao i ispitivanja profila prirodnih uzoraka. Kod tankoslojne hromatografije stacionarna faza je postavljena planarno, na ravnoj površini, odnosno na ploči, koja je obično od stakla, aluminijuma ili plastike. U slučaju kada je prečnik čestica stacionarne faze od 5 μm do 7 μm govorimo o visokoeфикаsnoj tankoslojnoj hromatografiji, koja usled manjeg prečnika čestica omogućava bolju rezoluciju odvajanja. Hromatografija na tankom sloju omogućava istovremeno ispitivanje većeg broja uzoraka, kao i standardnih supstanci pod istim uslovima ⁶⁷. Ploča sa stacionarnom fazom je predviđena za jednokratnu upotrebu, te stoga ne postoji efekat prenosa (eng. *carryover effect*). Ispitivani analit se može naneti na tanak sloj u zapremini od 0,1 μL–1 mL. Mogu se ispitivati uzorci sa velikim opterećenjem matriksa, pri čijoj pripremi se ne mora posvetiti prekomerna pažnja pre svega u smislu uklanjanja ometajućih supstanci i supstanci koje bi trajno oštetile stacionarnu fazu, kao što je neophodno kod visokoeфикаsne tačne hromatografije ⁶⁰. Detekcija jedinjenja nakon HPTLC razdvajanja se vrši vizuelno ili pomoću nekog vida UV-Vis detekcije (TLC skener ili kamera). Ukoliko jedinjenja nemaju hromoforu, onda je neophodna njihova derivatizacija. Razvijeni su reagensi različite selektivnosti, kao i reagensi koji su specifični za određene grupe jedinjenja ⁶⁸.

Bioautografija je sinonim za detekciju jedinjenja na HPTLC ploči primenom suspenzije enzima ili živih mikroorganizama, u većini slučajeva bakterija. Princip je identičan kao kod hemijske derivatizacije. Cilj je lokalizacija antimikrobne aktivnosti na razvijenoj hromatografskoj ploči ⁶⁹. Nakon nanošenja reagensa, ploča se inkubira, kako bi se ispoljila aktivnost enzima ili odvijao razvoj bakterija. Kod mikroorganizama potrebna je i prethodna inkubacija suspenzije do trenutka maksimuma krive rasta da bi mogla da se koristi kao reagens. Za vizuelizaciju je obično potreban dodatak odgovarajućeg reagensa i dodatna inkubacija. Kod bakterijskih eseja je uobičajena upotreba 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromida (MTT), koji metabolišu aktivne bakterije i menja boju iz žute u ljubičastu. Stoga, svetle zone karakteriše inhibicija aktivnosti bakterija. U poređenju sa spektrofotometrijskim testovima i testovima na mikrotitar pločama, bioautografija omogućuje ispitivanje dejstva pojedinačne komponente. Time se minimalizuje antagonističko ili sinergističko dejstvo komponenata u polaznoj smeši ⁶⁰.

2.3.2.2. Visokoeфикасна jonska hromatografija

Visokoeфикасна jonska hromatografija je veoma osetljiva i robustna hromatografska tehnika, koja ima široku primenu u identifikaciji i kvantifikaciji šećera i organskih kiselina. Zasnovana je na primeni stacionarnih faza na bazi anjonskih izmenjivača, kao što je stiren/divinil-benzen funkcionalizovan kvaternarnim amino-grupama, koje su stabilne u širokom opsegu pH vrednosti. Kao mobilna faza najčešće se koriste vodeni rastvori jakih baza poput NaOH ili KOH, pri čemu se povećanjem njihove koncentracije u mobilnoj fazi pojačavaju interakcije između ispitivane supstance i eluenta, utičući na efikasnost razdvajanja. Pri ovim uslovima ispitivani analit se deprotonuje a dobijeni anjoni se lako razdvajaju na polimernim anjon-izmenjivačkim kolonama, na osnovu svojih pK_a vrednosti. Kako bi se smanjilo retenciono vreme, u mobilnu fazu se dodaju modifikatori („*Pushers*“, obično acetati ili nitrati) koji ostvaruju jače interakcije od hidroksida sa aktivnim mestima izmene anjona ⁷⁰.

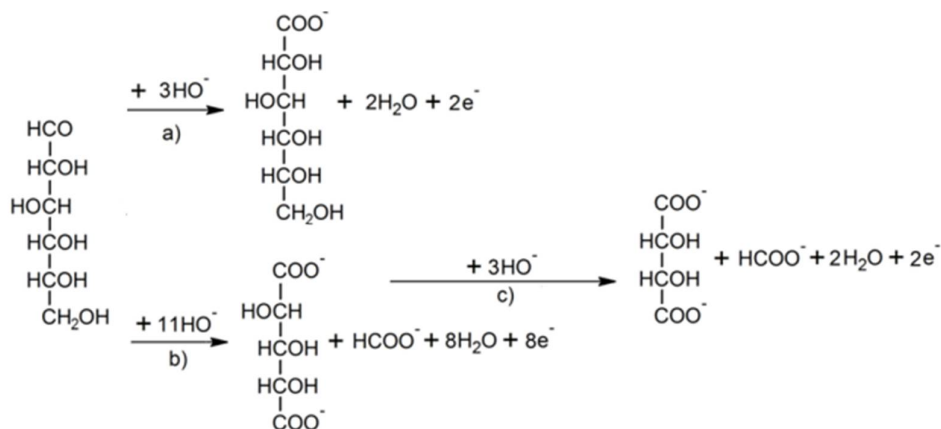
Kod HPLC metoda postoji više mogućnosti analize koje se mogu prilagoditi prirodi uzorka kao i ispitivanim jedinjenjima. Moguća je primena gel-ekskluzione hromatografije kod analize oligo- i polisaharida, primena reverzno-faznih sistema uz oktadecil-modifikovani silikagel, upotreba

katjonskih izmenjivča zasićenih katjonima kalcijuma, olova i srebra (eng. *Ligand exchange chromatography*). U sistemima sa pomenutim stacionarnim fazama uobičajeni eluent je voda, a detekcija se vrši merenjem indeksa refrakcije (*Refractive index – RI*), merenjem apsorpcije rastvorene ispitivane supstance (UV detektor) ili praćenjem osobina aerosola (*Evaporative light-scattering detector – ELSD i Charged aerosol detector – CAD*)⁷¹⁻⁷³.

Najmanju selektivnost ima RI detektor, veoma je osetljiv na promene temperature i brzine protoka i nije upotrebljiv ako je eluiranje gradijentno. RI detektor daje signal u zavisnosti od indeksa refrakcije, odnosno od karakteristike eluiranog rastvora na izlazu iz kolone, stoga bilo kakva koeluirana supstanca predstavlja značajnu smetnju. Absorpcija u oblasti od 190 nm do 210 nm, može da se koristi za optičku detekciju nederivatizovanih aldoza, ketoza, disaharida i deoksi šećera⁷³. ELSD i CAD detektori daju signal koji ne zavisi od optičkih svojstava analita i detektuju se samo one supstance koje su manje isparljive od mobilne faze. Kod oba navedena detektora se odvija raspršivanje rastvora koji izlazi iz kolone, formiranje aerosola u struji gasa i detekcija signala. Čestice aerosola kod CAD detektora postaju naelektrisane pomoću jonskog izvora sa koronarnim pražnjenjem, i detektuju se pomoću elektrometra. Kod ELSD detektora se meri rasipanje svetlosti snopa koji se propušta kroz detekcionu ćeliju^{73,74}.

Pulsno-amperometrijski detektor je selektivan i osetljiv prema redukujućim i neredukujućim monosaharidima, šećernim alkoholima, oligosaharidima i sličnim jedinjenjima⁷⁰. Ova detekcija se zasniva na oksidaciji keto i hidroksilne grupe, kao i oksidativnom raskidanju C-C veze, na površini elektrode od platine ili zlata (**Slika 3**). Alkalna sredina je potrebna da bi se na zlatnoj elektrodi odvijala reakcija, dok je na platinskoj elektrodi reakcija moguća i u kiselj sredini⁷⁵.

Poslednji korak reakcije zavisi od koncentracije ispitivanih supstanci. U koncentrovanim rastvorima (preko 30 mM analita) dešava se samo oksidacija aldehidne ili terminalne alkoksi-grupe. Kod razblaženijih rastvora (2 – 30 mM analita), dešava se i oksidacija doterminalnih keto- ili alkoksi-grupa, a moguće je i dodatno skraćivanje niza obe reakcije se odvijaju uz oslobađanje formijata (mravlje kiseline, **Slika 3**)⁷⁶. Pošto se detekcija odvija direktno na neoksidovanoj površini, nakon primene potencijala radne elektrode na kojoj se odvija detekcija, primenjuje se viši potencijal čišćenja elektrode i katodna reaktivacija elektrode na potencijalu koji je niži od detekcionog potencijala. Opšti problem analize šećera u realnim uzorcima je složenost matriksa. Glavne prednosti HPAEC-PAD analize su relativno mala količina uzorka, brzina, osetljivost i ekonomičnost detektora⁷⁰.



Slika 3. Moguće reakcije na radnoj elektrodi pri PAD detekciji šećera (*Larew i Johnson 1989*.⁷⁶ i *Johnson i LaCourse 1990*.⁷⁵)

Anjonizmenjivačke metode su zastupljene i u analizi karboksilnih kiselina kratkog niza i drugih anjona, uz upotrebu konduktometrijske detekcije. Konduktometrijska detekcija se zasniva na merenju provodljivost eluata, koja podrazumeva zbir provodljivosti eluenta (mobilne faze) i jona analita. Kako je provodljivost zavisna od koncentracije svih elektroaktivnih vrsta, da bi se postigla dovoljna osetljivost konduktometrijske detekcije jona analita neophodna je adekvatna čistoća vode od koje se priprema mobilna faza (provodljivost 0,55 $\mu\text{S}/\text{cm}$) i supresija hidroksilnih ili hidronijum jona koji čine mobilnu fazu. Supresija se izvodi neutralizacijom pomenutih jona, pomoću supresorske kolone koja sadrži jone potrebne za neutralizaciju ili pomoću elektrohemijski generisanih jona za neutralizaciju. U oba slučaja, proizvod supresije je voda koja ne doprinosi povećanju osnovne provodljivosti i time se postiže niži pozadinski signal⁷⁷. Pri analizi karboksilnih kiselina opisane su metode bazirane na reverznofaznim sistemima kod kojih je detekcija zasnovana na promeni indeksa refrakcije eluenta ili UV optičkoj detekciji uz derivatizaciju^{77,78}. Derivatizacija je zasnovana na uvođenju hromofore, a opisana je upotreba derivata kumarina, alkil halida, diazoalkena, antracena i hidrazina kao reagenasa za derivatizaciju⁷⁸.

2.3.2.3. Ultraefikasna tečna hromatografija sa masenom detekcijom (UPLC-MS)

Pri analizi polifenola najčešće se primenjuju reverzno-fazni sistemi, sa kolonama koje sadrže oktadecil-modifikovani silikagel (RP-C18) kao stacionarnu fazu. Kao mobilna faza se često koriste binarni sistemi rastvarača, koji sadrže vodu i kiselinu, kao i odgovarajući organski rastvarač. Uglavnom se primenjuje gradijentno eluiranje, za zakišeljavanje se koriste mravlja ili sirćetna kiselina, a kao organska komponenta metanol ili acetonitril⁵⁹.

Kada se analizira jednostavniji matriks i kada se ispituje relativno mali broj jedinjenja, mogu da se koriste jednostavnije metode detekcije. Tada kao detektori mogu da se upotrebe: UV-VIS DAD (*Diode array detector*), UV-fluorescentni detektor ili elektrohemijski, kulometrijski detektor^{33,34}. Selektivnije i pouzdanije identifikacija komponenata omogućena je kuplovanjem tečne hromatografije i masene spektrometrije (LC-MS). Najčešće primenjivana tehnika jonizacije pri LC-MS analizi polifenola je elektrosprej jonizacija (ESI) u negativnom modu, pri čemu se dobija deprotonovani polazni molekul. Moguća je i primena elektrosprej jonizacije u pozitivnom modu, kao na primer u slučajevima analize antocijanina koji imaju vrste u obliku flavinijum jona^{58,59}. Iako se ređe koriste u analizi polifenola, opisani su i drugi izvori jonizacije pri atmosferskom pritisku kao što su hemijska jonizacija pri atmosferskom pritisku (*Atmospheric-pressure chemical ionisation* APCI) i fotojonizacija pri atmosferskom pritisku (*Atmospheric-pressure photoionisation* APPI). Iako fotojonizacija pri atmosferskom pritisku nije tipičan izbor za analizu polifenola, jer se oni lako jonizuju ESI metodom, u određenim slučajevima može biti dobra alternativa jer može povećati osetljivost za neke polifenole i manje je osetljiv na matriks-efekte u poređenju sa ESI⁵⁹.

Za identifikaciju i kvantifikaciju fenolnih jedinjenja često se koriste različiti tipovi masenih analizatora zbog njihove preciznosti i selektivnosti. Jedan od najčešće korišćenih je kvadrupolni maseni analizator koji može raditi kao jednostavan MS (maseni spektrometar), MS/MS (tandem maseni spektrometar) ili kao trostruki kvadrupol (QqQ). Pored kvadrupola, u analizi polifenola se često koriste i *Time of Flight* (TOF) maseni analizatori i orbitrap. Ovi analizatori se odlikuju visokom rezolucijom i tačnošću merenja mase jona. Pomenuto je neophodno kod identifikacije novih ili nepoznatih jedinjenja, kao i kod detaljne karakterizacije kompleksnih uzoraka u metabolijskim i fitohemijskim istraživanjima.^{34,59}

Opisane su HPLC metode analize pentacikličnih triterpena sa UV i MS detekcijom. Veliki nedostatak HPLC-UV metode je nepostojanje adekvatne hromofore kod ove klase jedinjenja. Primera radi, u radu Butkevičiūtė i sar. talasna dužina za određivanja je 205 nm⁷⁹. Na navedenoj talasnoj dužini i mnoge druge supstance apsorbuju, a i mnogi eluenti imaju relativno visoku apsorbciju, pa ove metode karakteriše visoka granica detekcije. Alternativno, opisane su GC-MS metode koje podrazumevaju derivatizaciju i dobijanje silanolnih derivata⁸⁰.

2.3.3. Metode određivanja pojedinačnih elemenata

Indukovano spregnuta plazma sa optičkom emisionom spektroskopijom (ICP-OES) i indukovano kuplovana plazma sa masenom spektrometrijom (ICP-MS) su široko korišćene tehnike u analitičkoj praksi za višeelementalnu analizu bioloških uzoraka, zemljišta, stena, hrane i farmaceutskih proizvoda.

Ispitivani rastvor se uvodi u plazmu argona u kojoj se ekscituju prisutni elementi. Plazma se inicira električnim lukom koji jonizuje argon. Plazma se formira i održava pomoću magnetnog polja radiofrekventnog (RF) generatora. Pri inicijaciji, nakon prvobitnog odvajanja elektrona dolazi do njihovog ubrzanja dejstvom magnetnog polja. Dobijeni elektroni visoke energije jonizuju druge atome argona (noseći gas) i atome drugih prisutnih elemenata (iz aerosola). Temperatura plazme je u opsegu od 6000 K do 10000 K^{81,82}.

Torč se sastoji od tri koncentrične cevi, a vrh je okružen kalemom RF generatora. U spoljašnju cev se uvodi struja argona koja se kreće spiralno i služi za hlađenje. Gas koji se uvodi u srednju cev služi za održavanje plazme na odgovarajućoj udaljenosti od cevi (pomoćni tok gasa). U unutrašnju cev se uvodi gas koji nosi aerosol uzorka. Pri ulasku u plazmu uzorak se uvodi u najtopliju zonu, rastvarač isparava iz aerosola i dolazi do formiranja slobodnih atoma ispitivane supstance koji se potom jonizuju i ekscituju. Kao analitički signal se može uzeti intenzitet svetlosti na zadatim talasnim dužinama (ICP-OES) ili da se nastali joni preko interfejsa uvedu u maseno spektroskometrijski detektor (ICP-MS)^{81,82}.

2.4. Obrada rezultata

Statistička obrada podataka je neophodna da bi se procenio i osigurao kvalitet dobijenih eksperimentalnih podataka, kao i razmotrila struktura podataka, te izvukli relevantni zaključci. To podrazumeva dva ključna elementa obrade podataka: prvi je izdvajanje podataka kod kojih merna odstupanja prevazilaze prihvatljive parametre (tzv. spoljašnje vrednosti ili nestandardne opservacije), a drugi je statističko testiranje koje podrazumeva proveru nultih hipoteza na određenom nivou poverenja primenom različitih statističkih modela i metoda. Ispitivanjem nultih hipoteza se na osnovu dobijenih eksperimentalnih rezultata, na određenom nivou poverenja, utvrđuje statistički značajno postojanje pravilnosti, trenda ili karakterističnih anomalija u podacima, kao posledica sistematskih efekata eksperimentalnih uslova na posmatrana merenja (u odnosu na stohastičke efekte koji inherentno prate izvođenje eksperimenata i sam proces merenja). Pod pomenutim se podrazumeva eksplorativna analiza podataka (EDA - *Exploratory data analysis*), koja kao termin obuhvata i grafičko predstavljanje podataka^{83,84}. Jednostavniji i takođe bitan pristup je deskriptivna statistika, koja služi za sagledavanje i predstavljanje ključnih svojstava seta podataka. Dobija se jednostavan pregled prikazima centralne tendencije (srednje vrednosti i medijane), disperzije (standardne devijacije, opsega vrednosti) i distribucija podataka⁸⁴. Distribucija podataka uslovljava primenu parametrisiranih testova značajnosti (kod normalne, odnosno Gausove raspodele) ili neparametrijskih testova značajnosti (kada su odstupanja od normalne raspodele značajna ili je veličina statističkih uzoraka mala)⁸⁵.

2.4.1. Analiza varijanse

Analiza varijanse (eng. *Analysis of Variance* - ANOVA) pripada familiji tzv. generalizovanih linearnih modela. Za razliku od ostalih metoda, ANOVA pretpostavlja linearni model koji povezuje zavisnu promenljivu (posmatrano obeležje) iskazanu na intervalnoj skali, sa kategorijskim zavisnim promenljivama (tzv. faktorima). Kako faktori poseduju kategorijski karakter svaki od njih deli celokupni skup objekata na određeni broj grupa, zavisno od broja kategorija koje faktor opisuje. ANOVA ispituje statističku značajnost svakog pojedinačnog faktora (ili njihove kombinacije) tako što proverava pretpostavku da su sve pojedinačne grupe podataka uzorkovane iz populacije sa istim srednjom vrednošću. Ovo se postiže tako što se ukupan varijabilitet posmatranog obeležja (zavisne promenljive) raščlanjuje na varijabilitet unutar i između faktorom definisanih grupa, a potom se izvodi poređenje prosečnog varijabiliteta unutar grupa sa varijabilitetom između grupa⁸⁴⁻⁸⁶.

Svaki varijabilitet posmatranog obeležja se može iskazati kao suma kvadrata odstupanja (eng. *sum of squares* - SS), kojoj se pridružuje određeni broj stepeni slobode (eng. *Degrees of freedom* - $d.f.$). Količnik sume kvadrata i stepeni slobode predstavlja tzv. usrednjeni kvadrat odstupanja (eng. *Mean square* - MS) koji se kasnije koristi za procenu uticaja svakog ispitivanog faktora. Tako se u slučaju samo jednog faktora (tzv. jednofaktorska ANOVA), ukupan varijabilitet (SS_{tot}) razlaže na zbir varijabiliteta između grupa (SS_{btw}) i varijabiliteta unutar grupa (SS_{wth}). Kvadrat odstupanja između grupa (SS_{btw}) se računa kao suma kvadrata razlika svih pojedinačnih vrednosti i srednje vrednosti svih pojedinačnih vrednosti, a kada se podeli sa odgovarajućim brojem stepeni slobode dobija se usrednjeni kvadrat odstupanja između grupa (MS_{btw}). Za razliku od njega, kvadrat odstupanja unutar grupa (SS_{wth}) se računa kao suma razlika pojedinačnih vrednosti i srednje vrednosti unutar date grupe, a deljenjem sa odgovarajućim brojem stepeni slobode dobija se usrednjeni kvadrat odstupanja unutar grupa (MS_{wth})^{84,85}.

ANOVA pretpostavlja da je varijabilitet između grupa posledica sistematskog uticaja datog faktora na posmatrano obeležje, dok je varijabilitet unutar grupa posledica stohastičnog uticaja koji se može opisati normalnom raspodelom. Stoga se količnik usrednjenih kvadrata između grupa (MS_{btw}) i unutar grupa (MS_{wth}) može iskoristiti za utvrđivanje statističke značajnosti datog faktora. Kako ovaj količnik podleže Fišerovoj F -raspodeli, to se za određeni nivo poverenja i kombinaciju stepeni slobode između i unutar grupa može izračunati kritična F -vrednost (F_{crit}). Ukoliko je F -vrednost izračunata kao gore pomenuti količnik veća od F_{crit} , to na datom nivou poverenja postoji statistički

značajan uticaj ispitivanog faktora, odnosno varijabilitet između grupa je statistički značajno veći u odnosu na varijabilitet unutar grupa^{84,85}.

U slučaju većeg broja faktora ukupan varijabilitet se razlaže na zbir suma kvadrata koji potiče od svakog pojedinačnog faktora i/ili njihovih kombinacija i rezidualnog varijabiliteta. Rezidualni varijabilitet (SS_{res}) je varijabilitet posmatranog obležja koji se ne može opisati kao posledica gore pomenutih faktora ili njihovih kombinacija, već bi trebalo da bude posledica isključivo stohastičnih uticaja. Stoga je važno napomenuti da rezidualne vrednosti treba da pokazuju stohastičku prirodu tj. odsustvo bilo kog trenda i pokoravaju se normalnoj raspodeli. U suprotnom, pretpostavljeni ANOVA model nije adekvatan i potrebno je uključiti dodatne faktore ili određenu kombinaciju faktora. Statistička značajnost svakog pojedinačnog faktora se testira poređenjem njemu pridruženog usrednjenog kvadrata (MS) u odnosu na MS_{res} . Ukoliko je dobijeni količnik (F-vrednost) veći od F_{crit} , ili je njemu odgovarajuća statistička značajnost manja od predefinisane, onda dati faktor, na predefinisanoj nivou poverenja, ima statistički značajan uticaj^{84,85}.

ANOVA se izvršava izводи pod pretpostavkom: a) da se radi sa zavisnim obeležjima iskazanim na intervalnoj skali numeričkim vrednostima, b) da je varijansa među grupama podataka slična (homoskedastičnost), c) da su sva merenja (zapažanja) nezavisna, d) da su grupe sličnih veličina (simetričnost) i e) da podaci podležu normalnoj distribuciji podataka unutar grupa⁸⁵. Važno je napomenuti da ANOVA nije podjednako osetljiva na odstupanja od datih zahteva, kada može doći do iskrivljenih zaključaka. Najviše je osetljiva na asimetrične veličine pojedinačnih kategorija i prisustvo spoljašnjih vrednosti, odnosno krnjih podataka i nedostajućih vrednosti. Nešto manje je osetljiva na nehomogenost varijansi u kategorijama, dok je najmanje osetljiva na odstupanje podataka od normalne raspodele^{84,85}.

MANOVA je multivarijantna varijanta ANOVA u slučajevima kada se ispituje više varijabli sa osvrtom na faktore⁸⁶. Proračun MANOVA je zasnovan na istom principu kao i ANOVA, sa tom razlikom da se nakon serije pozitivnih multivarijantnih testova, pristupa proračunu se izvršava za svaku varijablu zasebno (univarijantni testovi). Multivarijantni testovi, koji prethode univarijantnim, se izvode tako što se posmatraju kako pojedinačne varijable, tako i svi njihovi parovi, te se rezultati na kraju prikupljaju u odgovarajućim matricama, nakon čega se ponavlja za svaki par varijabli, pa se rezultat prikuplja u matrici. Tako se rezultujući ANOVA zbirovi kvadrata prevode u MANOVA zbirovi kvadrata i matrice. Umesto odnosa usrednjenih vrednosti kvadrata za svaki ANOVA efekat imamo proizvod matrice jednog uzorka i inverzije matrice drugog uzorka. Statistička značajnost celokupnog varijabiliteta seta podataka se dalje određuje testovima poput Wilks-ovog lambda test, Pillai i Hotelling-Lawley testa⁸⁷. Faktorijalna ANOVA rukuje sa većim brojem faktora simultano⁸⁸.

2.4.2. Analiza glavnih komponentata

Analiza glavnih komponentata (eng. *Principal component analysis* – PCA) je jedna od osnovnih multivarijantnih statističkih metoda. Često se koristi kao prvi korak analize strukture prikupljenih podataka. PCA procenjuje korelacionu strukturu varijabli, a ulaznu tabelu čini n objekata (uzoraka) koje karakteriše k varijabli⁸⁹. Cilj primene PCA je pojednostavljivanje seta podataka, detekcija obrazaca i spoljnih vrednosti (eng. *outlier*) u setu podataka, analiza doprinosa varijabli varijabilitetu seta podataka i postavljanje modela uslovljenog ponašanjem posmatranog sistema^{89,90}. PCA redukuje dimenzionalnost podataka i time omogućuje vizualizaciju uz očuvanje najviše informacija prisutnih u polaznim podacima. PCA transformiše originalni set podataka u nove nekorelisane varijable – glavne komponente (PC), a svaka od njih je linearna kombinacija polaznih varijabli. Ovakve grupe dobijenih ortogonalnih pravaca predstavljaju pravac najvećeg varijabiliteta podataka. Tako prva komponenta (PC1) sadrži maksimum varijabiliteta, a druga (PC₂) sadrži maksimum rezidualnog varijabiliteta i ortogonalna je na prethodnu. Latentne varijable su linearni koeficijenti koji imaju inverznu zavisnost od komponentata⁹⁰.

2.4.3. Priprema sirovih hromatografskih podataka za multivarijantnu analizu

Prilikom obrade celovitih hromatograma za multivarijantnu analizu, neophodna je njihova korekcija kako bi se uklonile nepoželjne fine varijacije u podacima koje pri daljoj statističkoj analizi dovode do pogrešnih zaključaka. Kod standardnih metoda kvantifikacije pojedinačnih jedinjenja, na količinu supstance ukazuje samo intenzitet analitičkog signala koji se pomoću kalibracije (regresije) pretvara u vrednost koncentracije nekog definisanog jedinjenja, na približnom retencionom vremenu ili R_F vrednosti. Kod obrade podataka i upoređivanja celovitih hromatograma intenzitet pika se poredi sa pikom na drugom hromatogramu na istoj poziciji. Ove male razlike u poziciji (*peak shifting*, pomeranje pikova ili zona, **Slika 4**), kao i uticaj bazne linije neophodno je korigovati⁹¹.

Prvi korak je smanjenje šuma signala (eng. *signal smoothing*), kako bi bila uklonjena odstupanja koja mogu da daju privid lokalnog minimuma ili maksimuma (eng. *spike*). Najjednostavniji algoritam je *Moving average*, koji vrednost date tačke u hromatogramu računa kao aritmetičku sredinu niza definisanog broja susednih tačaka. Koristi se da bi uklonio kratke fluktuacije u signalu, nedostatak je ako se uzme relativno veliki broj tačaka maksimalna vrednost signala se smanjuje i približava baznoj liniji.

Promena bazne linije može biti posledica nehomogenog osvetljenja hromatografske ploče ili prisustva kontaminanata. Jedna od opcija je primena *rolling ball filtera* u okviru softverskog paketa ImageJ⁹². Liland je definisao *4S Peak Filling* algoritam procene bazne linije iterativnom supresijom proseka bazne linije. Sastoji se iz četiri koraka. Prvi korak je uklanjanje šuma pomoću *Whittaker smoother*, da bi se uklonili delovi signala koji nisu od interesa za korekciju bazne linije. U drugom koraku se spektar ili hromatogram deli u sekcije (*binning*, *bucketing*), od kojih se svaki karakteriše i lokalnim minimumom. Treći korak je iterativna supresija pomoću *median filter-a*. Četvrti korak je interpolacija bazne linije, nakon čega dobijena funkcija može da se oduzme od polaznih podataka⁹³.

Pomeranje pika (eng. *misalignment*, odnosno *neusklađenost*) se definiše kao situacija u kojoj identične karakteristike (odlike) nemaju isti položaj u različitim spektrima ili hromatogramima. Analitički signal koji je posledica istog uzroka pojavljuje se na drugačijim vrednostima retencionog vremena, R_F vrednosti, talasne dužine ili neke druge vrednosti fizičke veličine sa kojim se položaj analitičkog signala povezuje⁹⁴. Pomeranja i neusklađenosti u hromatogramima, spektrima i drugim nizovima eksperimentalnih podataka posledica su inherentnih svojstava opreme i metode, kao i spoljnog (ambijentalnog) uticaja koji nije moguće potpuno izbeći ili ublažiti.

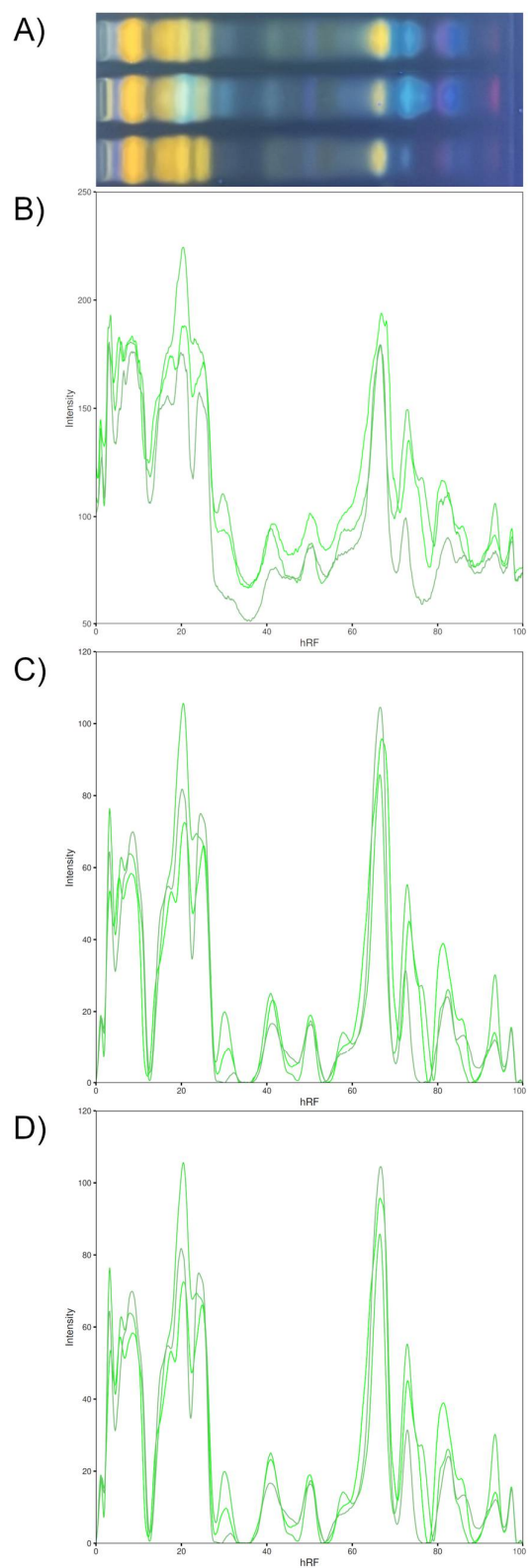
Pomeranje zona na razvijenim hromatografskim pločama (unutar i između ploča) najvećim delom je posledica neravnomernog zasićenja kade parama mobilne faze, neidealne ponovljivosti sastava mobilne faze, neravnomernog sušenja zona nakon nanošenja i razvijanja ploče, migriranja i širenja zona pri derivatizaciji, razlika u ambijentalnim uslovima kao što su vlažnost vazduha i temperatura, neravnomernog rada analitičara i nesavršenosti opreme (koju karakteriše određena instrumentalna greška ili propisana greška merenja)^{92,95,96}.

Najjednostavniji vid poravnanja pikova je pomeranje svih tačaka hromatograma za određen broj duž x-ose. Osnovni problem je što je neophodno definisati broj tačaka za koji se dešava pomeranje, a gotovo uvek radi poravnanja celog hromatograma njegove delove je potrebno pomeriti za različiti broj tačaka⁹⁴. Pomenuto se prevazilazi različitim pristupima kao što su:

a) PTW – *parametric time warping* – tačke hromatograma se duž x ose pomeraju za vrednost koja je definisana polinomalnim modelom, koji je suma više funkcija različitog stepena⁹⁴.

b) DTW – *dynamic time warping* – algoritam nelinearno poravnava dve trajektorije tako da slični događaji (kao pikovi na hromatogramu) budu poravnati tako da se postiže minimalni razmak između njih na različitim nizovima vrednosti (hromatogramima)⁹⁶.

c) COW – *correlation oriented warping* – neophodno je definisati referentni niz podataka (vektor, konkretno hromatogram) prema kojem se izvršava poravnanje podataka od ostalih uzoraka. Vektor podataka uzoraka se usklađuje prema referentnom vektoru, uz ograničene promene dužine segmenata na koje je podeljen vektor koji se poravnava. Referentni vektor i vektor koji se poravnava su podeljeni na isti broj segmenata. Svaka definisana sekcija se zasebno linearno izdužuje ili komprimuje tako da se dobije maksimalni korelacioni koeficijent između dobijenog vektora i referentnog vektora. Maksimalna vrednost skraćivanja ili produženja segmenta je definisana brojnim parametrom (*slack*), koji se zajedno sa brojem sekcija zadaje unapred^{95,96}.



Slika 4. Primer obrade slika hromatograma: a) HPTLC ploča derivatizovana NEU-PEG reagensom
b) sirov hromatogram dobijen iz slike prevedene u monohromatsku sliku c) hromatogram nakon
uklanjanja šuma i bazne linije d) hromatogram nakon poravnanja pikova.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Uzorci

U ovom radu ispitivani uzorci prikupljeni su na oglednom dobru „Radmilovac“, koje pripada Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. OD „Radmilovac“ se nalazi na 44°45' N i 20°35' E. Zasadi se nalaze na 175 m nadmorske visine, na brdovitom teneru. Zemljište je tipa gajnjača (eutrični kambisol), a po mehaničkom sastavu je ilovača.

Tabela 1. Spisak ispitivanih sorti jabuke.

Redni broj	Sorta	Boja pokožice	Tip sorte
1.	Crveni delišes	Crvena	Konvencionalna
2.	Greni Smit	Zelena	Konvencionalna
3.	Ajdared	Žutocrvena	Konvencionalna
4.	Zlatni delišes	Žuta	Konvencionalna
5.	Jonagold	Žutocrvena	Konvencionalna
6.	Prima	Žutocrvena	Rezistentna
7.	Gala Galaks	Žutocrvena	Rezistentna
8.	Vilijems Pride	Crvena	Rezistentna
9.	Revena	Žutocrvena	Rezistentna
10.	Topaz	Žutocrvena	Rezistentna
11.	Remura	Žutocrvena	Rezistentna
12.	Zaječarska duguljasta	Crvena	Autohtona
13.	Mionička tikvara	Žutocrvena	Autohtona
14.	Zaječarski delišes	Žutocrvena	Autohtona
15.	Gružanjaska letnja kolačara	Crvena	Autohtona
16.	Sećeruša	Crvena	Autohtona
17.	Pamuklija	Žutocrvena	Autohtona
18.	Demirka	Žutocrvena	Autohtona
19.	Jesenji jablan	Žuta	Autohtona
20.	Kadumana	Crvena	Autohtona
21.	Buzlija	Žutocrvena	Autohtona
22.	Krtajka	Crvena	Autohtona
23.	Hajdučica	Crvena	Autohtona
24.	Vrtiglavska slatkača	Žuta	Autohtona
25.	Kopaoničanka	Žutocrvena	Autohtona
26.	Belakalačuša	Svetlija žutocrvena	Autohtona
27.	Loznička tikvara	Žutocrvena	Autohtona
28.	Šipura	Žutocrvena	Autohtona
29.	Šipina	Svetlija žutocrvena	Autohtona
30.	Kožara	Smeđa, žutozelena	Autohtona
31.	Budimka*	Svetlija, žutozelena	Autohtona

* uzorak ploda dostupan samo u 2019. godini.

Zasad autohtonih sorti podignut je 1996. godine, sa razmakom sadnje 5×4 m, na podlozi MM106, dok je zasad sa standardnim i otpornim sortama podignut u neposrednoj blizi prvog, 2007. godine, sa razmakom sadnje 4×1 m, na podlozi M9. U toku izvođenja oglada u zasadu bile su primenjene standardne agrotehničke mere. Svaka sorta u zasadu imala je 5 stabala, sa kojih su se uzimali uzorci. Ispitivanja su obuhvatila 31 sortu jabuke (Tabela 1), tokom tri uzastopne kalendarske godine: 2018, 2019. i 2020. godine.

Listovi su prikupljeni sa različitih pozicija i sa svih strana krošnje, sa sredine jednogodišnjih prirasta (mladara), početkom jula meseca kada im je najveća fotosintetska aktivnost. Lišće je sušeno u zatamnjenoj prostoriji, uz laminarno strujanje vazduha tokom 7 dana. Sa osušenih uzoraka lišća je uklonjena drška i središnji deo nervature. Suvi listovi su spakovani u papirne kese i čuvani su u mraku na hladnom mestu do analiza. Uzorci su usitnjeni štapnim mikserom.

Plodovi su ubrani u fiziološkoj zrelosti sa svih pozicija u kruni. Sorte Williams Pride i Gružanjska letnja kolačara brane su u julu, a plodovi ostalih sorti su uzorkovani krajem avgusta ili tokom septembra. Lista prikupljenih sorti je navedena u **tabeli 1**.

Plod je oljušten kako bi bili razdvojeni pokožica i mezokarp, radi njihove zasebne analize. Do homogenizacije i ekstrakcije uzorci su čuvani u zamrzivaču na -20 °C. Mezokarp je homogenizovan štapnim mikserom pre ekstrakcije i za analizu je pripremljen alikvot homogenizovanog uzorka. Kora je ručno isečena na komade dužine do 5 mm.

3.2. Reagensi i standardi

3.2.1. Spektrofotometrijski testovi

Folin-Čikalteov reagens (Carlo Erba, Italija), natrijum-karbonat, galna kiselina (Merck, Nemačka). 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) je kupljen od Fluka Chemie AG (Buh, Švajcarska). Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilhroman-2-karboksilna kiselina), standard galne kiseline su nabavljeni od Sigma-Aldrich (Štajnhajm, Nemačka). Za pripremu standardnih rastvora galne kiseline, rastvora natrijum-karbonata i razblaženje kod Folin-Čikalteu eseja upotrebljena je ultračista voda ($0,055 \mu\text{S/cm}$, ThermoFischer TKA uređaj, Nemačka). Za pripremu standardnih rastvora troloksa, rastvora DPPH i razblaženje kod DPPH eseja upotrebljen je metanol (Sigma). Špric filteri, $0,45 \mu\text{m}$ najlon, za filtriranje ekstrakata su nabavljeni od firme Supelco (Pensilvanija, SAD).

3.2.2. Reagensi za tankoslojnu hromatografiju

Etil-acetat (Betahem, Beograd, Srbija), *n*-heksan (Carlo Erba, Val de Reuil Cedex, Francuska), mravlja kiselina ($\geq 98\%$), saharoza, natrijum-dihidrogenfosfat, natrijum-hidroksid, kupljeni su od Merka (Merck, Darmštadt, Nemačka). Metanol (p.a.), 2-aminoetil-difenilborinat, polietilenglikol (PEG-400), Triton X-100 i 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid (MTT) su kupljeni od Sigma-Aldrich (Štajnhajm, Nemačka). Agarna podloga je nabavljena od Lab M (Bury, Ujedinjeno Kraljevstvo), Tripton LP0042 i ekstrakt kvasca LP0021 od Oxoid LTD (Basingstoke, Ujedinjeno Kraljevstvo).

3.2.3. Standardni fenolnih jedinjenja

Kvercetin je kupljen od TCI (Tokio, Japan), glikozidi kvercetina (**Tabela 5**), i kampferol su nabavljeni od Extrasynthese (Genay Cedex, Francuska), kampferol-3-*O*-glukozid Phytolab (Dutendorfer, Nemačka). Ostali standardi fenola (**Tabela 5**) kupljeni su od Sigma-Aldrich (Štajnhajm, Nemačka). β -Sitosterol je nabavljen od LGC (Augsburg, Nemačka), a ostali standardi terpena su kupljeni od Toronto Research Chemicals (Toronto, Kanada).

3.2.4. Standardi šećera i karboksilnih kiselina kratkog lanca

Standardi šećera su kupljeni od TCI (Tokio, Japan), a standardi kiselina su deo *Organic Acid Kit* nabavljenog od Sigma-Aldrich (Štajnhajm, Nemačka).

3.2.5. Visokoeфикасна tečna hromatografija i masenospektrometrijska detekcija

Upotrebljeni su acetonitril, sirćetna i mravlja kiselina MS čistoće, metanol HPLC čistoće, odgovarajući standardi polifenola (Fluka i Sigma Aldrich).

3.2.6. Priprema uzoraka za ICP-OES i ICP-MS

Vodonik-peroksid i azotna kiselina su kupljeni od *Merck*-a. Voda korišćena za razblaživanje standarda, uzoraka i pripremu slepe probe dobijena je pomoću *Milli-Q* sistema (Millipore Simplicity 185 System, dualni UV filter na 185 nm i 254 nm). Za kalibraciju su upotrebljeni sledeći multielementni rastvori standarda: *Multi-Element Plasma Standard Solution 4*, *Specture®* (Alfa Aesar, John Mutthey Company), *Major Elements Stock*, *EPA Method Standard* (VHG Labs), *6020A ICS Stock*, *EPA Method Standard* (VHG Labs), *Multi-Element Aqueous CRM*, *Comprehensive Mix A*, (VHG Labs), *Mercury Standard* (Merck) *Arsenic Standard* (Merck).

3.3. Ekstrakcija uzoraka

3.3.1. Priprema metanolnih ekstrakata mezokarpa i pokožice

Odmereno je oko 2,5 g uzorka. Ekstrakcija je izvršena sa 20 mL zakišljenog metanola (dodatak 0,1 % koncentrovane hlorovodonične kiseline), tokom 1 h, uz dejstvo ultrazvuka. Dobijen rastvor je centrifugiran 20 min na 9000 obr/min (rpm), talog je ispran metanolom i ponovo centrifugiran. Rastvori su preneti u normalni sud i dopunjeni do 25 mL^{97,98}.

3.3.2. Priprema vodenih ekstrakata mezokarpa

Odmereno je oko 2,5 g uzorka. Ekstrakcija je izvršena sa 20 mL ultračiste vode, tokom 1 h, uz dejstvo ultrazvuka. Dobijen rastvor je centrifugiran 20 min na 9000 obr/min (rpm), talog je ispran metanolom i ponovo centrifugiran. Rastvori su preneti u normalne sudove koji su dopunjeni do 25 mL. Dobijeni rastvori su čuvani do analize na – 20 °C. Pre analize rastvori su razblaženi i proceđeni kroz teflonske (PTFE) špric-filtre sa porama veličine 0,22 µm^{20,99}.

3.3.3. Priprema metanolnih ekstrakta lista

Odmereno je oko 0,5 g uzorka. Ekstrakcija je izvršena sa 10 mL smeše metanola i vode u zapreminskom odnosu 70 : 30, koja sadrži 0,1 % hlorovodonične kiseline, tokom 1 h, uz dejstvo ultrazvuka. Dobijen rastvor je centrifugiran 20 min na 9000 obr/min (rpm). Supernatanti su čuvani na – 20 °C do analize. Pre analize ekstrakti su proceđeni kroz najlonske (NY) špric-filtre sa porama veličine 0,45 µm⁹⁷.

3.3.4. Priprema vodenih ekstrakata lista

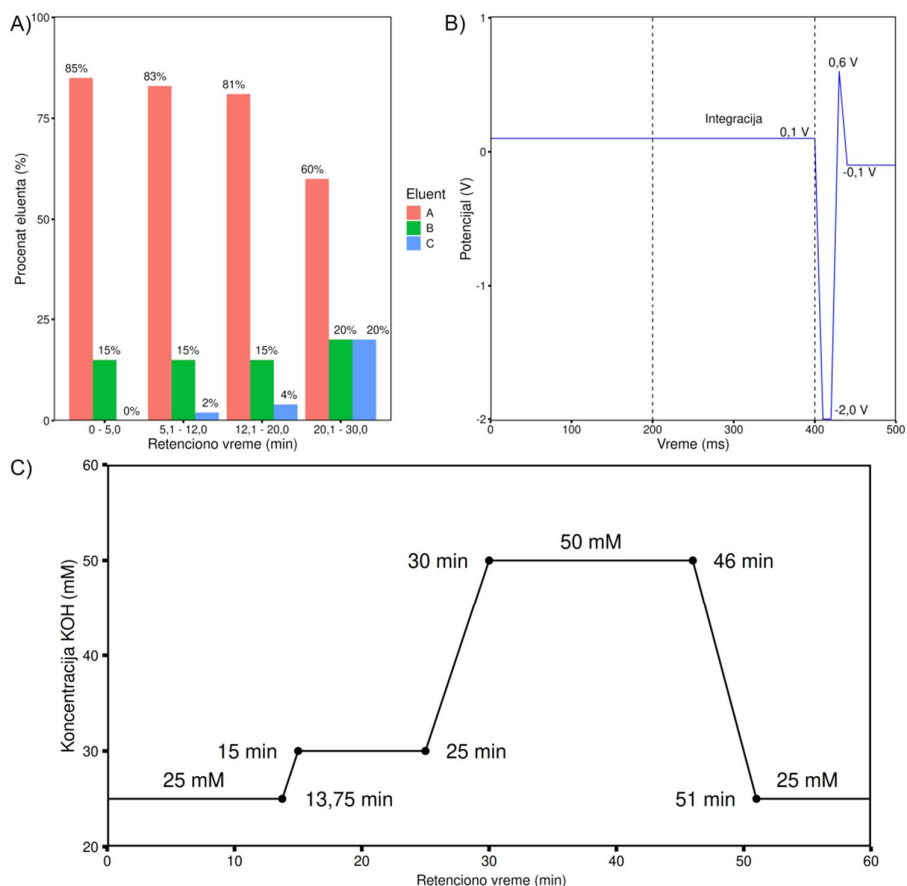
odmereno je oko 0,1 g uzorka. Ekstrakcija je izvršena sa 10 mL ultračiste vode, tokom 1 h, uz dejstvo ultrazvuka. Ekstrakt je centrifugiran 20 min na 9000 obrtaja u minutu. Dobijeni rastvori su čuvani do analize na – 20 °C. Pre analize rastvori su razblaženi i proceđeni kroz najlonske (NY) špric-filtre sa porama veličine 0,22 µm^{99,100}.

3.4. Visokoefikasna jonska hromatografija

Identifikacija i kvantifikacija rastvorljivih ugljenih hidrata i karboksilnih kiselina kratkog niza u ekstraktima urađena je primenom sistema za tečnu hromatografiju *ICS 3000 DP* (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). Uređaj čine dva sistema koji imaju zajednički prostor za zagrevanje kolona i autosampler *ICS AS-DV 50* (Dionex) koji je povezan na jedan od sistema. Ova dva sistema imaju odvojene pumpe, kolone i detektore. Kontrola uređaja, dokumentovanje i analiza podataka obavljena je pomoću softverskog paketa *Chromeleon* (verzija 6.80).

3.4.1. Analiza sadržaja šećera

Razdvajanje i kvantifikacija saharida (**Tabela 2**) izvršena je primenom anjon izmenjivačke hromatografije, upotrebom *CarboPac PA100* kolone (dimenzija 4×250 mm, veličina čestica 8,5 mm; Dionex) i *CarboPac PA100 Guard column* (4×50 mm; Dionex) predkolone. Zapremina injekcione petlje je 25 μ L, a temperatura kolone je podešena na 30°C. Mobilna faza je korišćena u gradijentnom režimu (**Slika 5A**), sačinjena od tri eluenta: ultračiste vode (A), 300 mmol/L natrijum-hidroksida (B) i 500 mmol/L natrijum-acetata (C). Svako analizi je prethodilo kondicioniranje kolone sa 85% eluenta A i 15% eluenta B, tokom 30 minuta. Primenjena je pulсно-ampometrijska detekcija (PAD; Ag/AgCl referentna elektroda i zlatna radna elektroda), u voltametrijskom režimu koji je predviđen za ispitivanje šećera (**Slika 5B**)⁹⁹.



Slika 5. A) Sastav mobilne faze pri hromatografskom razdvajanju šećera; B) voltametrijski režim rada elektrode pri analizi šećera; C) Koncentracija kalijum-hidroksida u mobilnoj fazi pri hromatografskoj analizi karboksilnih kiselina kratkog niza.

3.4.2. Analiza sadržaja karboksilnih kiselina kratkog niza

Za hromatografsko razdvajanje kratkih karboksilnih kiselina (**Tabela 2**) je primenjena *IonPac AS15* (4×250 mm; Dionex) kolona uz pretkolonu *IonPac AG15 guard column* (4×50 mm; Dionex). Mobilna faza je generisana pomoću eluent generatora koji sadrži kalijum-hidroksid (EGC III KOH RFIC, Dionex). Upotrebljena je injekciona petlja zapremine $10 \mu\text{L}$, a temperatura kolone 30°C . Detekcija je obavljena konduktometrijskim detektorom sa supresorom koji se dinamički regeneriše (DRS 600, *Dynamically Regenerated Suppressor*, Dionex) pri struji supresora od 99 mA. Eluiranje je obavljeno u gradijentnom režimu, uz protok od $1,0 \text{ mL/min}$ (**Slika 5C**).

Tabela 2. Određivana jedinjenja i analitički parametri metode primenjene za ispitivanje saharida i karboksilnih kiselina kratkog niza.

Red. br.	Naziv jedinjenja	Skraćenica	Retenciono vreme (min)	Nagib	Odsečak	R ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1.	Glicerol	Gly	2,5	1,0870	0,0048	0,9994	0,91	0,27
2.	Sorbitol	Sor	3,0	1,3801	0,8544	0,9967	2,73	9,12
3.	Manitol	Man	3,3	1,6474	0,0000	0,9988	0,48	1,61
4.	Arabinoza	Arb	5,6	2,0328	0,0475	0,9998	0,14	0,48
5.	Glukoza	Glc	6,8	1,8969	1,3245	0,9972	2,54	8,48
6.	Ksiloza	Xyl	7,3	2,1335	0,0000	0,9999	0,09	0,30
7.	Fruktoza	Fru	8,2	0,9888	0,5555	0,9984	1,88	6,25
8.	Riboza	Rib	8,7	1,3967	0,0000	0,9993	0,37	1,25
9.	Saharoza	Sah	10,2	0,7832	0,4000	0,9842	1,51	5,03
10.	Rafinoza	Raf	16,9	1,4010	0,0000	0,9805	1,54	5,13
11.	Turanoza	Tur	19,3	0,2287	0,0382	0,9957	0,78	2,60
12.	Maltoza	Mal	24,5	0,8563	0,2639	0,9902	1,20	4,01
13.	Panoza	Pan	28,9	0,4843	0,2240	0,9835	1,58	5,27
14.	Maltotrioza	Mlt	32,1	0,8830	0,7375	0,9786	0,97	3,25
15.	Kininska kiselina	Qui	15,8	14,737	0,6319	0,9993	0,05	0,16
16.	Šikiminska kiselina	Sch	16,6	17,400	0,2610	0,9998	0,01	0,03
17.	Galaktouronska kiselina	Gau	21,3	0,9999	0,0000	0,9964	1,04	3,45
18.	Glukouronska kiselina	Glu	23,7	0,9999	0,0000	0,9915	1,60	5,33
19.	Jabučna kiselina	Maa	34,1	8,4111	0,0000	0,9991	1,21	4,02
20.	Maleinska kiselina	Mla	38,3	0,0874	0,0000	0,9980	0,74	2,46
21.	Fumarna kiselina	Fum	41,9	0,2156	0,0000	0,9974	0,88	2,93
22.	Limunska kiselina	Cta	54,4	9,3706	0,1339	0,9995	0,03	0,11
23.	Izolimunska kiselina	Ica	57,8	16,825	0,0000	0,9996	0,02	0,07

3.5. Određivanje sadržaja elemenata

3.5.1. Digestija uzoraka za elementalnu analizu

Izmereno je oko 0,5 g uzorka i zatim je dodato 6 mL HNO₃ (65%) i 2 mL H₂O₂ (30%). Smeša je podvrgnuta mikrotalasnoj digestiji pri snazi mikrotalasnog digestora od 2000 W (*Speedwave*, Berghof, Nemačka). Uzorci su zagrevani tokom 15 min do temperature od 180 °C, koja je zadržana 10 min. Zatim je tokom 10 min temperatura digestije podignuta na 200 °C koja je održavana narednih 15min. Nakon digestije, dobijeni rastvori su ohlađeni na sobnu temperaturu, preneti u odmerne sudove zapremine 50 mL koji su ultračistom vodom dopunjeni do crte. Slepa proba je pripremljena po istom postupku. Pripremljeni uzorci su direktno mereni¹⁰¹.

3.5.2. Analiza sadržaja elemenata

Kvantifikacija glavnih (makro) elemenata (Ca, Mg, K, Na i Fe) obavljena je primenom indukovano kuplovane plazme sa optičkom emisionom spektroskopijom (ICP-OES; model 6500 Duo; opremljen detektorom tipa CID86; *Thermo Scientific* Valtham, SAD). Upotrebljena je ciklonska komora za koncentrično raspršivanje. Instrument je kontrolisan pomoću *Iteva* softvera (iCAP Software Iteva verzija 8). Koncentracije elemenata u tragovima (mikroelementi) (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se i Zn) određivane su primenom indukovano kuplovane plazme sa kvadrupolnim masenim spektrometrom (ICP-QMS; iCAP Q, *Thermo Scientific X series 2*, Velika Britanija). Sistem je kontrolisan softverom *Qtegra Instrument Control Software* (iCAP Q/ iCAP RQ 2.8.3170.392)^{66,101}. Instrumentalni uslovi za ICP-OES i ICP-QMS određivanja dati su u **Tabela 3**.

Za pripremu višeelementalnih standardnih rastvora za kvantifikaciju makro- i mikroelemenata primenom indukovano kuplovane plazme sa optičkom emisionom spektroskopijom (ICP-OES) i indukovano kuplovane plazme sa kvadrupolnom masenom spektrometrijom (ICP-QMS) korišćen je osnovni semikvantitativni rastvor (*stock*) koji sadrži 0,0100 g/L glavnih (makro) elemenata i elemenata u tragovima (mikroelementi) (*Alfa Aesar - Vard Hill*, Masačusets, SAD) i osnovni (*stock*) rastvor koji sadrži 0,5000 g/L glavnih (makro) elemenata (*VHG Labs*, Mančester, SAD). Osnovni semikvantitativni rastvor rastvor je upotrebljen za pripremu standardne serije rastvora (1; 10; 50; 100 i 250 µg/L) kod određivanja mikroelemenata (elemenata u tragovima kao što su As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, i Zn), dok je osnovni rastvor korišćen za pripremu standardnih rastvora (0,5; 1,0; 5,0; 10,0 i 25,0 mg/L) kod određivanja Ca, Fe, K, Mg, i Na¹⁰¹.

Tabela 3. Uslovi snimanja kod primenjenih ICP metoda analize.

Parametar	Tehnika	
	ICP – OES	ICP - QMS
Snaga RF	1150 W	1550 W
Glavni protok argona	12 L/min	14 L/min
Spoljašnji protok argona	0,5 L/min	0,8 L/min
Protok argona u raspršivaču	0,5 L/min	1,0 L/min
Protok analita	1,0 mL/min	1,0 mL/min
Određivani elementi*	Ca (λ=393,3 nm) Fe (259,9 nm) K (766,4 nm) Mg (285,2 nm) Na (589,5 nm)	⁵⁰ Cr, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ⁶² Ni, ⁶⁵ Cu, ⁶⁸ Zn, ⁷⁵ As, ⁸⁶ Sr, ⁹⁸ Mo, ¹¹¹ Cd, ²⁰⁷ Pb, ²⁰⁹ Bi

* kod ICP – OES data je talasna dužina određivanja, a kod ICP – QMS dat je određivani izotop.

3.6. Spektrofotometrijski testovi

3.6.1. Određivanje ukupnog sadržaja fenola (TPC)

U epruvetu je odmereno 0,50 mL ultra čiste vode, i po 0,50 mL razblaženih ekstrakata ili rastvora standarda. Za slepu probu je odmereno 1,00 ml ultra čiste vode. Zatim je rastvorima dodato po 2,50 mL 10% rastvora Folin-Čikalteu reagensa. Nakon što su rastvori odstožali 5 minuta u mraku dodato je po 2,00 mL 7,5% rastvora natrijum-karbonata. Rastvori su odloženi u mrak i nakon 2 sata je izvršeno merenje apsorbancije na 765 nm. Kalibraciona prava je konstruisana su standardnim rastvorima galne kiseline koncentracija 20, 40, 60, 80 i 100 mg/L (koncentracija osnovnog rastovra 1000 mg/L). Rezultati merenja su izraženi kao broj mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) po gramu polaznog uzorka^{66,98}.

3.6.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti inhibicijom DPPH radikala

U epruvetu je odmereno po 0,10 mL razblaženih ekstrakata ili rastvora standarda i 4,00 mL rastvora DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) koncentracije 79 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Nakon što su rastvori odstožali u mraku 60 minuta, izvršeno je merenje apsorbancije na 517 nm. Relativna antioksidativna aktivnost se izračunava kao procenat izreagovalog DPPH•. Kalibraciona prava je konstruisana na osnovu metanolnih rastvora troloksa u rasponu koncentracija od 100 do 600 $\mu\text{mol}/\text{L}$ (koncentracija osnovnog rastovra 1000 $\mu\text{mol}/\text{L}$)^{66,100}. Rezultat je izražen kao broj μmol ekvivalenata troloksa po gramu uzorka. Procenat inhibicije je izračunat prema obrascu:

$$RSA = \frac{(A_{DPPH} - A)}{A_{DPPH}} \times 100$$

Gde je:

A_{DPPH} – apsorbancija polaznog rastvora DPPH

A – izmerena apsorbancija uzorka ili standarda

RSA – relativna antioksidativna aktivnost, izražena u procentima

3.7. Tankoslojna hromatografija

Metanolni ekstrakti mezokarpa, pokožice i lista, naneti su na staklene ploče silika gela F₂₅₄ (HPTLC plate silica gel 60, Art. 105461, Merck) upotrebom Linomata (TLC Linomat 5, CAMAG, Muttens, Switzerland). Zone su nanete u obliku traka širine 6 mm na ploče dimenzija 20×10 cm. Ploče su razvijane u hromatografskoj kadi sa dva kanala (CAMAG), u jedan od kanala je postavljen filter-papir. Kada je tokom 30 min sićena parama rastvarača pre razvijanja hromatograma. Nakon razvijanja ploče su sušene u struji toplog vazduha. Hromatogrami su derivatizovani uranjanjem ploča u Neuov reagens i rastvor polietilen-glikola ili uranjanjem u reagens anisaldehyd – sumporna kiselina. Pločice su potom osušene i zagrevane na 110 °C tokom 2 minuta, kod Neuovog reagensa i rastvora polietilen-glikola, odnosno tokom 10 min kod reagensa anisaldehyd – sumporna kiselina.

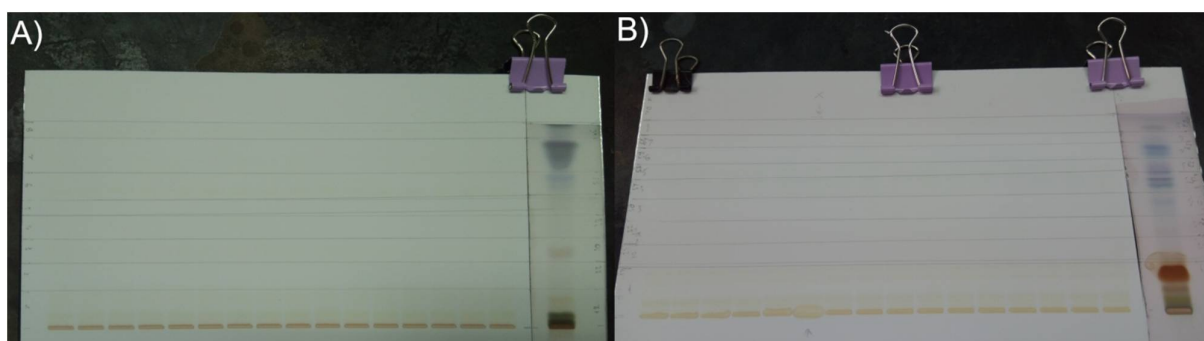
3.7.1. Frakcionisanje primenom tankoslojne hromatografije

Metanolni ekstrakti su naneti na TLC ploču sa silika-gelom na aluminijumskoj podlozi i fluorescentnim indikatorom F₂₅₄ (art. 105554, Merck) dimenzija 20×10 cm i razvijeni na isti način i istom mobilnom fazom kao što je opisano u prethodnom odeljku.

Za nanošenje je definisano 18 traka, od koji 16 traka kasnije ekstrahovano, jedna je ostavljena kao razmak, a poslednja je derivatizovana. Na sve trake je naneto po 20 µL ekstrakta, osim na traku koja služi kao razmak. Poslednja traka je isečena i derivatizovana anisaldehyd-sumporna kiselina reagensom kako bi bile identifikovane i tačno definisane zone koje se ekstrahuju (**Slika 6**). Silikagel iz odgovarajućih zona je sakupljen i ekstrahovan sa 10 mL metanola. Rastvor je proceden kroz najlonski špric-filter sa porama dimenzije 0,45 µm i uparen pomoću vakuum uparivača (IKA RV05, IKA Werke, Štaufen, Nemačka) na 40 °C. Talog dobijen nakon uparavanja rastvoren je u 320 µL metanola, proceden kroz najlonski špric-filter sa porama dimenzije 0,22 µm i čuvan u zamrzivaču do analize. Ekstrakti pokožice su podeljeni u osam, a ekstrakti lista u devet frakcija (**Tabela 4**).

Tabela 4. Gornje granice položaja ekstrahovanih zona (L) stacionarne faze sa razvijene TLC ploče i R_F vrednosti granica, u sva četiri frakcionisana ekstrakta. P4 i L4 ekstrakti sorte jabuke Kadumana, P5 i L5 ekstrakti sorte jabuke Kopaoničanka. P – ekstrakti pokožice, L – ekstrakti lista.

Broj frakcije	Uzorci							
	P4		P5		L4		L5	
	L (mm)	R _F	L (mm)	R _F	L (mm)	R _F	L (mm)	R _F
1	12	0,17	14	0,20	16	0,23	16	0,23
2	22	0,31	23	0,33	23	0,33	22	0,31
3	31	0,44	31	0,44	29	0,41	31	0,44
4	43	0,61	43	0,61	42	0,60	43	0,61
5	48	0,69	48	0,69	48	0,69	51	0,73
6	53	0,76	54	0,77	54	0,77	57	0,81
7	63	0,90	64	0,91	59	0,84	62	0,89
8	70	1,00	70	1,00	63	0,90	65	0,93
9	-	-	-	-	70	1,00	70	1,00



Slika 6. TLC hromatogram, ploča razvijena radi frakcionisanja. A – pokožica, B – List.

3.7.2. Direktna bioautografija

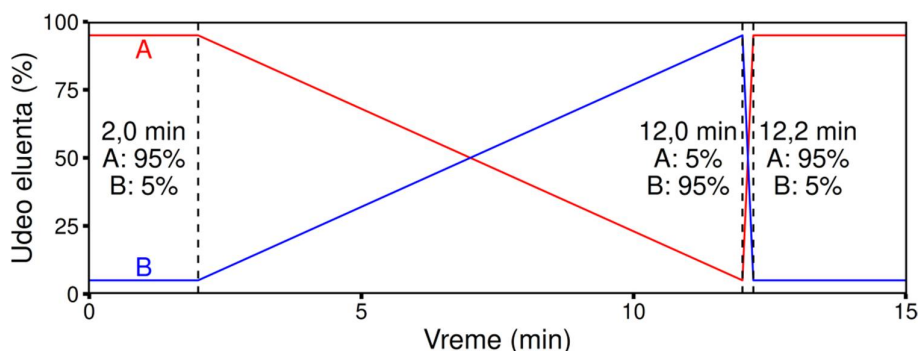
Ispitana je antimikrobna aktivnost ekstrakata prema četiri soja bakterija, dva soja Gram-negativnih: *Escherichia coli* (ATCC 35218) i *Erwinia amylovora* (KFB 148), kao i dva soja Gram-pozitivnih bakterija: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) i *Bacillus subtilis* (ATCC 6633). Pomenuti standardni sojevi su uzgajani na agarnoj podlozi tokom 24 h na 37 °C. Svaki razvijeni soj je suspendovan u 5 mL sterilnog fiziološkog rastvora. Zatim je inokulirano 10 mL Luria Bertani podloge (LB) sa 0,1 mL suspenzije bakterija tokom 18 h, uz upotrebu *Biosan Orbital Shaker-Incubator ES-20* (Riga, Letonija) na 37 °C i 220 rpm. LB podloga je pripremljena rastvaranjem 10 g triptona, 5 g ekstrakta kvasca i 5 g natrijum-hlorida u 1 L dejonizovane vode. Pripremljena podloga je sterilisana u autoklavu na 121 °C. Inokulati su pomešani sa LB podlogom u odnosu 1:1000, da bi kasnije bili inkubirani kao što je opisano. U slučaju *E. amylovora*, u LB je dodato 1,5% saharoze. Razvoj bakterija je praćen merenjem optičke gustine dobijenih suspenzija pomoću Biosan DEN-1B McFarland denzidometra. Inokulati su inkubirani do postizanja optičke gustine od 4,50 McF, što odgovara fazi najbržeg razvoja ispitivanih sojeva, kada je kriva rasta u delu koji je oblika logaritamske funkcije (log faza). U ovoj fazi prethodno razvijene HPTLC ploče su uronjenje u suspenzije bakterijskih kultura, koje su zatim inkubirane na 37 °C konstantno tokom 90 minuta. Antibakterijske zone su vizualizovane uranjanjem ploča u termostatiran rastvor MTT-a u fosfatnom puferu (1 mg/mL, pH 7,2). Kod Gram-negativnih bakterija, Triton X-100 je dodat rastvoru MTT-a u odnosu 100 µL u 1 mL rastvora. Inkubacija ploča nastavljena je do pojave ljubičaste boje formazana. Inhibicione zone su uočene kao svetložute zone na ljubičastoj pozadini.

3.8. Visokoefikasna tečna hromatografija – analiza bioaktivnih jedinjenja

3.8.1. Kvantitativna analiza fenolnih jedinjenja (UHPLC-DAD MS/MS)

Kantifikacija fenolnih jedinjenja u pripremljenim ekstraktima urađena je na *Dionex Ultimate 3000 UHPLC* sistemu opremljenim DAD detektorom koji je povezan na *TSQ Quantum Access Max* maseni spektrometar sa trostrukim kvadrupol analizatorom (UPLC-DAD MS/MS). Razdvajanje je izvedeno na *Synchronis C18* analitičkoj koloni na 40 °C uz gradijento eluiranje (Slika 7B). Mobilnu fazu su činila dva eluenta: voda uz dodatak 0,1% sirćetne kiseline (A) i acetinitril (B), uz konstantan protok od 0,3 mL/min, u gradijentnom režimu (Slika 7). Talasne dužine DAD detektora bile su podešene na 254 i 280 nm. Zapremina injekcione petlje je 5 µL¹⁰².

Primenjena je elektrosprej jonizacija u negativnom modu, na temperaturi od 200 °C, uz napon spreja od 5 kV i temperaturu kapilare od 300 °C. Snimanje fragmenata je izvedeno u opsegu od 100 do 1000 *m/z*. Argon je upotrebljen kao kolizioni gas¹⁰³.



Slika 7. Odnos gradijenta komponenata mobilne faze pri hromatografskoj analizi fenolnih jedinjenja.

3.8.1.1. Priprema standardnih rastvora fenola

Osnovni rastvori standarda polifenola (**Tabela 5**) pripremljeni su rastvaranjem u metanolu (HPLC čistoće), tako da koncentracije iznose 1000 mg/L. Mešanjem osnovnih rastvora dobijen je međustandard koncentracije 10,0 mg/L ispitivanih polifenola u smeši. Razblaživanjem rastvora mobilnom fazom dobijena je serija radnih rastvora sledećih koncentracija: 0,010; 0,050; 0,100; 0,250; 0,500; 0,750; 1,000 mg/L. Osnovni rastvori su čuvani na – 20 °C do analize. Međustandard i radni rastvori su čuvani u mraku na 4 °C do analize. Kalibracione krive su dobijene korelisanjem površine pikova sa koncentracijom standardnih rastvora ¹⁰².

Tabela 5. Ispitivana fenolna jedinjenja i parametri primenjene metode kvantifikacije.

Red. br.	Naziv jedinjenja	Skraćenica	Retenciono vreme (min)	Nagib* (10 ⁶)	R ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1.	Galna kiselina	GA	2,22	1,41	0,9961	0,14	0,46
2.	Protokatehuinska kiselina	PrA	4,18	1,31	0,9715	0,17	0,57
3.	<i>p</i> -Hidroksibenzoeva kiselina	pBA	5,20	2,35	0,9966	0,12	0,40
4.	5- <i>O</i> -kofeoilkininska kiselina	5CQA	5,31	0,17	0,9886	0,24	0,80
5.	Kofeinska kiselina	CA	5,63	5,00	0,9936	0,16	0,54
6.	<i>p</i> -Kumarinska kiselina	pCmA	6,41	4,87	0,9992	0,06	0,20
7.	Ferulinska kiselina	FA	6,76	3,21	0,9984	0,25	0,82
8.	Katehin	Cat	5,62	0,17	0,9944	0,26	0,87
9.	Rutin	Q3Rut	6,24	1,28	0,9975	0,10	0,34
10.	Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	Q3Glu	6,40	4,05	0,9788	0,29	0,97
11.	Izorametnin-3- <i>O</i> -rutinozid	I3Rut	6,59	0,69	0,9988	0,15	0,49
12.	Naringin	N7Glu	6,65	2,00	0,9880	0,11	0,36
13.	Izorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	I3Glu	6,67	0,69	0,9948	0,15	0,49
14.	Kvercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	Q3Rha	6,85	1,53	0,9849	0,37	1,25
15.	Kampferol-7- <i>O</i> -glukozid	K7Glu	6,94	0,96	0,9867	0,23	0,76
16.	Florizin	P2Glu	7,12	0,89	0,9936	0,16	0,54
17.	Eriodiktio	Edi	8,12	6,01	0,9917	0,18	0,61
18.	Kvercetin	Que	8,21	2,35	0,9562	0,36	1,20
19.	Luteolin	Lut	8,21	2,09	0,9912	0,17	0,57
20.	Floretin	Pht	8,79	0,63	0,9937	0,18	0,59
21.	Naringenin	Nar	8,88	5,45	0,9898	0,20	0,67
22.	Apigenin	Apg	8,89	1,51	0,9967	0,12	0,40
23.	Kampferol	Kfr	9,06	0,41	0,9937	0,15	0,54

* primenjena je kalibracija sa nultom vrednosti odsečka

3.8.2. Određivanje polifenolnog profila

Razdvajanje i identifikacija jedinjenja od interesa u ekstraktima mezokarpa jabuke obavljena je na sistemu za tečnu hromatografiju sa kvaternarnom *Accela 600* pumpom i *Accela* autosemplerom povezanim sa hibridnim masenim spektrometrom visoke rezolucije (UHPLC-LTQ OrbiTrap XL) uz primenu elektrosprej jonizacije (ElectroSpray Ionization, ESI) ¹⁰⁴.

Analitička kolona, eluenti i režim eluiranja su isti kao kod postupka kvantifikacije fenola u prethodnom odeljku. Za snimanje masenih spektara upotrebljen je negativan jonizacioni mod, uz parametre jonskog izvora podešene kao što je opisano u radu Gašić i sar ¹⁰⁵. Kontrola instrumenta, prikupljanje i analizu podataka izvršeni su pomoću *Xcalibur* softvera (verzija 2.1, Thermo Fisher, Bremen, Nemačka). Polifenoli su identifikovani na osnovu odgovarajućih spektralnih karakteristika: maseni spektar, tačna molekulska masa, karakteristična fragmentacija, kao i karakteristično retenciono vreme. Snimanjem tačne mase molekulskog jona ([M–H][–]) nepoznatog

jedinjenja dobijene su informacije o molekulskoj formuli, dok je MS² spektar omogućio razjašnjavanje strukture nepoznatih jedinjenja¹⁰⁵.

Frakcionisani rastvori pokožice i lista jabuke analizirani su na *Agilent 1290 Infinity UPLC* sistemu povezanom na kvadrupol *time-of-flight* maseni spektrometar (6530C Q-ToF-MS, Agilent Technologies, Inc., CA, USA). Radi hromatografskog razdvajanja komponenata korišćena je *Zorbax C18* kolona (2,1 × 50 mm, 1,8 µm, Agilent Technologies, Inc., CA, USA). Protok je bio podešen na 0,3 mL/min a injekciona zapremina je iznosila 5 µL. Mobilna faza se sastojala od dva eluenta: ultračiste vode koja sadrži 0,1% mravlje kiseline (A) i acetonitrila koji sadrži 0,1% mravlje kiseline (B). Maseni spektrometar je opremljen sa *Dual Agilent Jet Stream electrospray ionisation* (ESI) izvorom. Snimanje je obavljeno u negativnom (ESI-) i pozitivnom modu (ESI+) u opsegu *m/z* od 100 do 1700 (učestalost skeniranja: 2 Hz). Parametri za ESI su podešeni na sledeći način: pritisak nebulajzera 45 psi, temperatura gasa za sušenje 225 °C i protok 8 L/min, temperatura desolvacionog gasa 300 °C, sa protokom 10 L/min. Napon kapilari bio je podešen na 2500 V, napon na fragmentatoru 175 V, napon na konusu 65 V, a pik RF napona na oktapolu na 750 V. Za skrining, korišćena je DDA (data-dependent acquisition) metoda prikupljanja podataka sa MS/MS u automatskom modu (*m/z* opseg 100 - 1700, brzina skeniranja 1 spektar/sekundi, akviziciono vreme 1000 ms/spektru), sa kolizionom energijom od 30 eV. Za kontrolu instrumenta, prikupljanje i obradu podataka korišćen je *Agilent MassHunter* softver. Fenolna jedinjenja i terpenoidi su identifikovani na osnovu njihovih monoizotopskih masa, MS fragmentaciji, dostupnim standardima, kao i na osnovu podataka opisanih u literaturi¹⁰⁶.

3.9. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka prikupljenih spektrofotometrijskim testovima, određivanjem sadržaja fenolnih jedinjenja, saharida, karboksilnih kiselina kratkog niza i kvantifikacijom elemenata je obuhvatila multivarijantnu analizu varijansi (MANOVA), koji su urađeni u softveru *Statistica* (Statistica v.10, Statsoft Inc. Tulsa, OK, USA) i analizu glavnih komponenti (PCA), za koju korišćen softver *R* (R 4.3.1 software, *R Foundation for Statistical Computing*, Beč, Austrija; <https://www.R-project.org>). Osnovno rukovanje tabelama je obavljeno programskim paketima *MS Excel* (Microsoft Corporation, Redmond, WA, SAD) i *Libre Office* (The Document Foundation, Berlin, Nemačka, <https://www.libreoffice.org>).

Radi dobijanja numeričkih podataka na osnovi HPTLC profila, hromatogrami su snimljeni i obrađeni upotrebom *ImageJ* programa (ImageJ, version 1.47q, <https://imagej.nih.gov/ij/>, Wayne Rasband, National Institutes of Health, Kensington, MA, SAD).

Za grafičko predstavljanje rezultata, kao što su PCA grafici, u Softveru *R* upotrebljeni su paketi *ggplot2*, *ggrepel* i namenski paket za PCA grafike *factoextra*. U prvom koraku PCA sve ulazne grupe podataka su skalirane i centrirane (pod grupama podataka se podrazumevaju tabele sa parametrima dobijenim konkretnom metodom merenja). Pomenuti paketi su preuzeti sa repozitorijuma softvera *R*.

Obrada dobijenih HPTLC profila pre PCA analize (smanjenje šuma, poravnanje pikova i uklanjanje bazne linije) izvršena je pomoću paketa *baseline*, *align*, preuzetih sa repozitorijuma *R*, uz upotrebu sopstvenih skripti koje funkcije paketa prilagođavaju upotrebi na tabelama, kao i sopstvene skripte za *Moving average* postupak smanjenja šuma signala.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

Cilj istraživanja ove doktorske disertacije je sistematska fitohemijska karakterizacija autohtonih sorti jabuke sa teritorije Republike Srbije i njihovo poređenje sa konvencionalnim rezistentnim sortama jabuke. Za ispitivanje je odabrano dvadeset autohtonih sorti kao i pet konvencionalnih i šest rezistentnih (Eksperimentalni deo, **Tabela 1**).

Određivan je sadržaj šećera, karboksilnih kiselina kratkog niza, polifenola i antioksidativna aktivnost u ekstraktima pokožice i mezokarpa ploda jabuke kao i lista jabuke. Detaljno je razmotren fenolni profil kod odabranih sorti jabuke primenom masene sprektorometrije visoke rezolucije, sa težištem na ispitivanju autohtonih sorti. Obavljena su ispitivanja antimikrobne aktivnosti sorti koje pokazale najbogatiji fenolni profil, sa očekivanjem da je aktivnost njime direktno uslovljena i da će biti moguća detekcija i karakterizacija biološki aktivnih jedinjenja.

4.1. Analiza sadržaja pojedinačnih šećera i karboksilnih kiselina kratkog niza u mezokarpu

U većini dosadašnjih radova u kojima su određivani šećeri u uzorcima jabuke, težiste je bilo na sadržaju saharoze, fruktoze i glukoze, ponekad i sorbitola. Nasuprot tome, u okviru ove disertacije predviđeno je određivanje više saharida od kojih se neki javljaju u tragovima i imaju značaj kao sekundarni metaboliti. Zbog svoje efikasnosti, osetljivosti i jednostavnosti kako pripreme uzoraka tako i samog analitičkog određivanja, za ispitivanja profila šećera odabrana je visokoefikasna anjonskoizmenjivačka hromatografija sa amperometrijskom detekcijom. Ispitan je sadržaj dvanaest saharida (četiri monosaharida, tri di- i tri trisaharida, sorbitol i glicerol) iz tri uzastopne godine gajenja (**Prilog 1** i **Tabela 6**).

Određivan je sadržaj karboksilnih kiselina kratkog niza. Ispitivanje nije ograničeno samo na jabučnu i limunsku kiselinu koje su najzastupljenije i često ispitivane.

U poređenju sa ostalim kvantifikovanim saharidima, fruktoza i saharoza su detektovane kao dominantni šećeri (opsezi, redom: 32,3 – 92,8 mg/g i 11,0 – 41,9 mg/g, **Prilog 1**). U mezokarpu jabuke očekivano je da fruktoza bude dominantan rastvorljivi saharid, a u pokožici je nešto veći udeo sorbitola i saharoze, verovatno zbog odvijanja fotosinteze u pokožici iako se pokožica smatra za organ-potrošač koji prevashodno zavisi od fotosinteze u listu¹⁰⁷. U radu *Mikulic-Petkovsek i sar.* opisana je koncentracija saharoze u opsegu od 33,97 mg/g sveže mase uzorka ploda jabuke, kod sorte Jonagold do 91,04 mg/g kod sorte Goldraš²⁰. U pomenutom radu navodi se opseg koncentracije fruktoze u rasponu od 51,94 mg/g do 89,79 mg/g svežeg uzorka ploda jabuke, dok je glukoza opisana u opsegu od 9,41 mg/g do 38,03 mg/g. U studiji *Hecke i sar.* opisana je koncentracija glukoze u opsegu od 5 do 20 mg/g svežeg uzoraka kod seta podataka gde su ispitivane sorte Breburn, Fudži, Ajdared, Gala, Elstar i Jonagold, koje su gajene u integralnom režimu proizvodnje. U pomenutom radu je opisan širi opseg sume sadržaja saharoze, fruktoze, glukoze i sorbitola kod uzoraka ploda biljaka gajenih u integralnom režimu¹⁰⁸. U uzorcima koji su predmet ove disertacije, glukoza je prisutna takođe kao makrokomponenta, sa opsegom koncentracije od 5,9 mg/kg do 47,5 mg/kg sveže mase mezokarpa. U uzorcima mezokarpa koji su predmet ove disertacije, koncentracija sorbitola je izmerena u opsegu od 1,6 do 13,3 mg/g (**Prilog 1**), pri čemu se izdvaja set uzoraka autohtonih sorti prikupljenih 2019. godine, sa prosečnom vrenosti od 9,49 mg/g (**Tabela 6**) i opsegom sadržaja od 2,24 mg/g kod sorte Gružanjaska letnja kolačara do 13,29 mg/g kod sorte Jesenji jablan. *Fang i sar.* su opisali opseg koncentracije sorbitola između 0,31 i 72,15 mg/g sveže mase, uz prosečnu vrednost 5,15 mg/g SM, na uzorku podataka dobijenom ispitivanjem 263 genotipa jabuke. U studiji *Apraia i sar.* je ispitano 17 sorti jabuke i opisan je uži opseg koncentracije sorbitola, u opsegu 1,3 i 12,9 mg/g mase svežeg uzorka²⁴, a *Hecke i sar.* navode koncentraciju od približno 6 mg/g sorbitola u svežem plodu jabuke¹⁰⁸.

Tabela 6. Prosečne vrednosti najzastupljenijih šećera i kiselina tokom tri godine u mezokarpu plodova različitih ispitivanih tipova sorti jabuke. A – autohtone, S – standardne, R – rezistentne sorte.

		Jedinjenje		(mg/g)						
		Glicerol	Sorbitol	Arabinoza	Glukoza	Ksiloza	Fruktoza	Saharoza	Rafinoza	Turanoza
2018	A	0,09±0,04	5,87±3,39	0,028±0,012	16,53±8,04	0,77±0,24	50,1±9,89	25,66±7,7	0,18±0,08	0,16±0,12
	S	0,11±0,10	6,41±1,55	0,015±0,009	19,57±8,96	0,32±0,16	65,76±7,85	27,08±6,05	0,07±0,05	0,08±0,07
	R	0,07±0,09	5,53±1,90	0,005±0,004	18,39±7,15	0,37±0,20	62,72±14,84	25,05±7,14	0,06±0,03	0,06±0,06
2019	A	0,38±0,27	9,49±3,90	0,014±0,003	21,28±7,08	0,41±0,24	73,6±11,79	25,55±7,81	0,12±0,06	0,16±0,08
	S	0,15±0,06	6,48±2,85	0,009±0,005	20,26±5,07	0,16±0,15	64,75±11,69	31,16±6,58	0,06±0,02	0,07±0,02
	R	0,26±0,14	4,56±2,13	0,003±0,002	16,43±8,35	0,18±0,08	57,07±7,21	34,05±10,57	0,07±0,02	0,07±0,06
2020	A	0,14±0,08	7,22±2,48	0,015±0,005	24,19±8,50	0,86±0,24	53,2±7,38	25,05±7,13	0,14±0,05	0,19±0,08
	S	0,10±0,10	3,03±0,87	0,005±0,002	33,73±3,27	0,63±0,19	47,91±6,57	30,55±6,12	0,07±0,03	0,07±0,02
	R	0,11±0,06	4,40±2,67	0,004±0,002	24,82±13,43	0,40±0,11	48,15±5,43	25,33±6,89	0,07±0,03	0,07±0,06
		Jedinjenje		(mg/g)						
		Maltoza	Maltotrioza	Panoza	Kininska	Sikiminska	Jabucna	Maleinska	Limunska	Izolimunska
2018	A	0,12±0,11	0,26±0,14	0,006±0,005	1,41±0,58	0,14±0,05	10,45±5,41	0,04±0,03	0,25±0,13	0,04±0,03
	S	0,12±0,12	0,28±0,11	0,009±0,005	0,92±0,65	0,07±0,05	10,34±3,97	0,03±0,02	0,13±0,07	0,02±0,02
	R	0,07±0,08	0,26±0,08	0,007±0,006	0,56±0,14	0,07±0,05	11,43±2,61	0,05±0,03	0,19±0,11	0,02±0,02
2019	A	0,12±0,06	0,26±0,15	0,008±0,003	1,39±0,65	0,20±0,16	10,90±4,21	0,06±0,04	0,25±0,09	0,03±0,03
	S	0,17±0,09	0,34±0,08	0,008±0,002	0,82±0,54	0,07±0,06	10,37±3,56	0,05±0,04	0,14±0,08	0,03±0,03
	R	0,15±0,11	0,32±0,14	0,008±0,003	0,55±0,30	0,04±0,02	12,00±4,51	0,07±0,04	0,18±0,07	0,02±0,02
2020	A	0,12±0,06	0,27±0,11	0,006±0,005	1,23±0,50	0,16±0,05	13,00±5,27	0,05±0,02	0,27±0,12	0,05±0,04
	S	0,16±0,06	0,36±0,12	0,009±0,005	0,80±0,43	0,10±0,05	10,42±3,98	0,04±0,02	0,14±0,04	0,03±0,02
	R	0,13±0,10	0,27±0,11	0,007±0,006	0,54±0,09	0,07±0,02	9,94±3,41	0,04±0,02	0,14±0,05	0,03±0,02

Pored šećera ispitan je i sadržaj pojedinačnih kiselina kratkog niza koje, zajedno sa šećerima, u velikoj meri doprinose ukusu, odnosno slasti jabuke. Za određivanje je odabrana metoda visokoeфикаsne jonske hromatografije sa konduktometrijskom detekcijom.

U ispitivanim sortama, najzastupljenija je jabučna kiselina, kvantifikovana u opsegu od 3,26 do 24,56 mg/g sveže mase mezokarpa (**Prilog 1**).

Limunska kiselina je detektovana u opsegu između 0,03 i 0,64 mg/g (**Prilog 1**). Prema rezultatima *Hecke i sar.*, očekivane su koncentracije limunske kiseline do 1,12 mg/g sveže mase ploda jabuke. U radu *Mikulic-Petkovsek i sar.* limunska kiselina je kvantifikovana u opsegu između 0,049 i 0,209 mg/g. Pri poređenju gajene jabuke i drugih biljaka iz roda *Malus*, *Ma i sar.* ne opisuju prisustvo limunske kiseline u gajenim jabukama, ali zapažaju količinu limunske kiseline u koncentraciji do 24,21 g/kg u zreom plodu divljih biljaka iz roda *Malus* (*M. toringoides*, *M. sargentii* *M. manshurica*)²⁸. *Cebulj i sar* navode koncentracije limunske kiseline do 0,47 g/kg u svežem mezokarpu jabuke sorte Gala¹⁰⁹. U ispitivanim uzorcima primetna je veća prosečna koncentracija limunske kiseline u setu uzoraka autohtonih sorti u svakoj godini, u poređenju sa ostalim tipovima sorti (**Tabela 6**).

Šikiminska kiselina je detektovana u opsegu od 0,02 do 0,26 mg/g, a najveća koncentracija je detektovana u uzorku autohtone sorte Zaječarska duguljasta iz 2020. godine. Kod standardnih sorti najveća koncentracija šikiminske kiseline je određena kod sorte Ajdared (0,16 mg/g suve mase, uzorak iz 2019. godine). Kod rezistentnih sorti najveća koncentracija šikiminske kiseline je 0,13 mg/g, kod sorte Williams Pride (uzorak iz 2018. godine). Slične rezultate su opisali *Hecke i sar.*, u opsegu od 0,002 i 0,057 mg/g svežeg uzorka mezokarpa¹⁰⁸.

Celokupan set podataka je sačinjen od merenja 30 prikupljenih uzoraka mezokarpa, tokom 3 različite godine. Za svaku godinu postavljene su zasebne analize glavne komponente kako bi se uočili trendovi u grupisanju uzoraka i sličnosti i razlike među promenljivama, ali i eventualno prisustvo spoljašnjih vrednosti.

Tri seta podataka od po 30 uzoraka, i 18 promenljivih (sadržaj saharida i karboksilnih kiselina kratkog niza, **Prilog 1**). Svi podaci su pre PCA analize standardizovani, tj. centrirani i skalirani na jediničnu standardnu devijaciju, kako varijable različitih redova veličina ne bi uticale na ishod analize. Analiza glavnih komponenti je rezultovala modelima koji uključuju broj glavnih komponenti koji je dat u **Tabeli 7**, kao i varijabiliteti koje komponente opisuju. Komponente kumulativno opisuju 73,70%, 80,86%, 77,50% varijabiliteta u podacima u modelima koji se odnose na 2018., 2019. i 2020. godinu redom. Prema Kajzerovom pravilu, procenat varijabiliteta kod preostalih komponenta kod svakog od tri modela se može zanemariti (Eigen vektor je manji od 1).

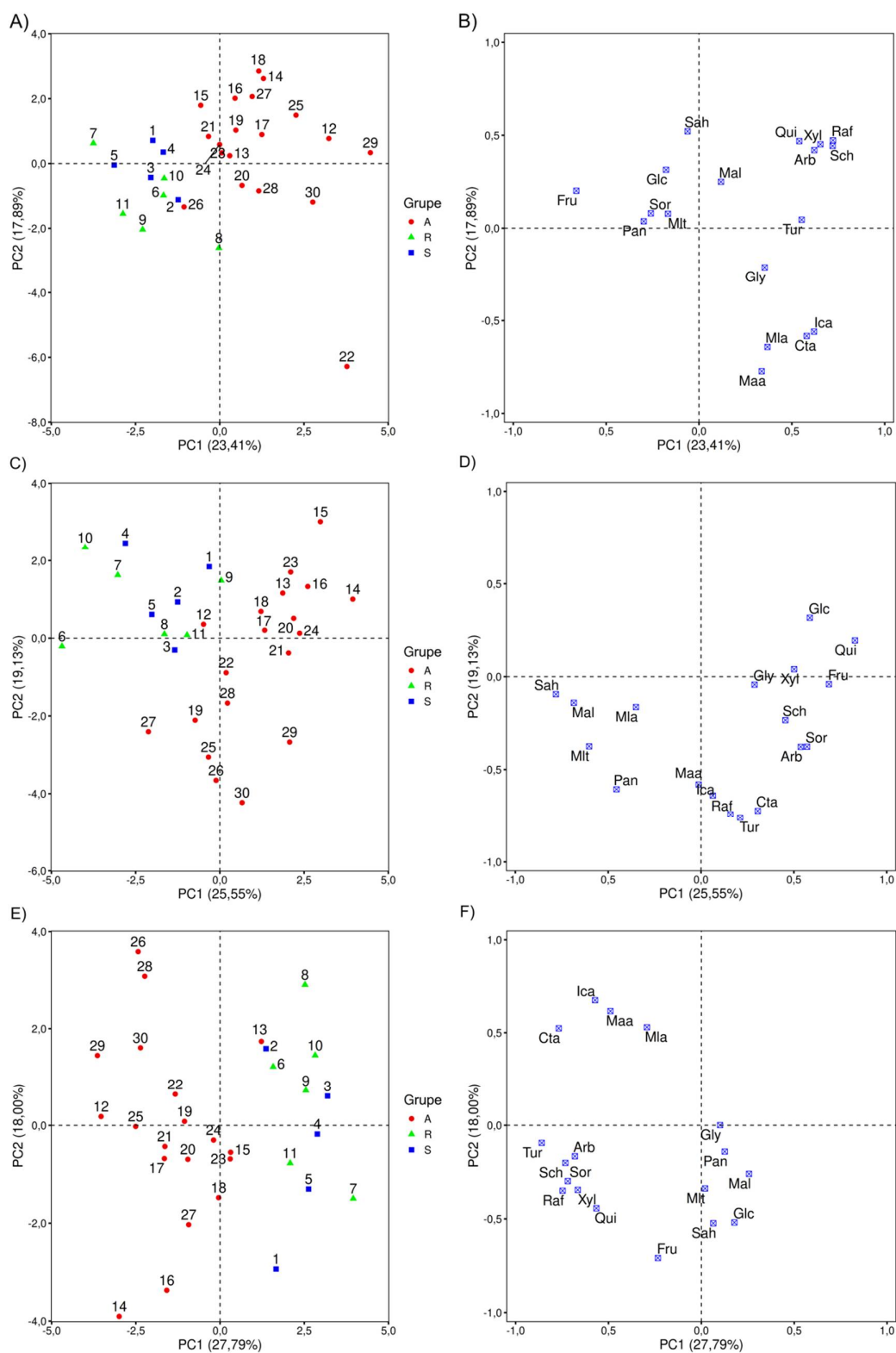
Tabela 7. Broj varijabli ispitivanih matrica u okviru PCA, i objašnjeni varijabilitet među podacima

Godina	2018		2019		2020	
Broj uzoraka	30		30		30	
Broj varijabli	540		540		540	
Komponenta	Var. ¹ (%)	E.V. ²	Var. (%)	E.V.	Var. (%)	E.V.
PC1	23,41	4,21	25,55	4,60	27,79	5,00
PC2	17,89	3,22	19,13	3,44	18,00	3,24
PC3	11,14	2,01	12,70	2,29	9,01	1,62
PC4	7,91	1,42	10,38	1,87	8,84	1,59
PC5	7,12	1,28	6,85	1,23	7,56	1,36
PC6 ³	6,23	1,12	6,25	1,13	6,30	1,13
Ukupan var. (%)	73,70		80,86		77,50	

1 – varijabilitet

2 – Eigen vrednost

3 – PC7 nema značajan doprinos, E.V. < 1



Slika 8. Analiza glavnih komponenta, grafici skorova (a, c, i e) i latentnih varijabli (b, d i f), rezultovanih obradom podataka iz tri različite godine (a i b, 2018. godina, c i d, 2019. godina, e i f 2020. godina). A – autohtone sorte, R – rezistentne i S – standardne sorte. Skraćenice naziva jedinjenja u grafiku latentnih varijabli date su u **Tabela 2**.

Na graficima skorova (**Slika 8**), uočava se razdvajanje uzoraka duž PC1 komponente prema tipu sorte. Na graficima baziranim na podacima iz 2018. i 2019. godine (**Slika 8 a i b**) većina uzoraka autohtonih sorti je u pozitivnom opsegu PC1 ose, dok su 2020. godine (**Slika 8 c**) uzorci smešteni u negativnom opsegu PC1 ose. Standardne i rezistentne sorte se grupišu zajedno, a pri posmatranju PC1 ose skoro svi uzorci se grupišu u opsegu suprotnog predznaka nego autohtone sorte.

Tokom različitih godina ispitivanja nemaju sve promenljive jednako izražen doprinos. Razdvajanju duž PC1 ose u smeru u kome se nalaze objekti autohtonih sorti kod sve tri godine (**Slika 8b, d i f**) doprinose supstance koje je dalje moguće podeliti u tri podgrupe. Prvu grupu čine ksiloza (Xyl), kininska i šikiminska kiselina (Qui i Sch, redom). Drugoj grupi pripadaju jabučna, limunska i izolimunska kiselina kiselina (Maa, Cta i Ica), dok su arabinoza (Arb), rafinoza (Raf) i turanoza (Tur) u trećoj grupi. Podela u ove tri grupe je zasnovana na njihovom doprinosu grupisanju sorti duž PC2 ose. Prva grupa kod sva tri grafika karakteriše autohtone sorte Zaječarski delišes (objekat 14, **Slika 8a**), Gružanjaska letnja kolačara (15), Šećeruša (16), Demirka (18) i Hajdučica (23), zajedno sa saharozom (Sah), glukozom (Glc) ili fruktozom (Fru), u zavisnosti od godine. Druga grupa analita karakteriše sorte Krtajka (22), Bela kalaćuša (26), Šipura (28), Šipina (29) i Kožara (30). Arabinoza (Arb), rafinoza (Raf) i turanoza doprinose različito izdvajanju neke od ove dve grupe, u zavisnosti od godine, ali uvek doprinose odvajanju autohtonih sorti od standardnih i rezistentnih. Prosečan sadržaj arabinoze i rafinoze je veći kod autohtonih sorti u poređenju sa druge dve grupe i očekivane su njihove više koncentracije kod autohtonih sorti. Kod standardnih i rezistentnih sorti je slična tendencija vidljiva, pri čemu se sorte Crveni delišes (1), Zlatni delišes (4) i Gala Galaks (7) grupišu u istom smeru duž PC2 kao i grupa autohtonih sorti oko oko Zaječarski delišes (14). Sorte Ajdared (3) i Prima (6) grupišu se u istom smeru kao i autohtone sorte u klasteru sa Krtajkom (22), mada ne toliko izraženo. Uopšteno gledano, zajednička rezultujuća karakteristika sorti Zaječarski delišes, Šećeruša, Demirka, Crveni delišes, Zlatni Delišes i Gala galaks jeste što imaju visok odnos sume sorbitola, glukoze, fruktoze i saharoze prema zbiru određivanih karboksilnih kiselina (**Prilog 1**). U ranijoj studiji *Mratinić i Fotirić-Akšić* prepoznaju sortu Demirka kao sortu koja ima mogućnost upotrebe kao konzumna, na osnovu njenog sadržaja šećera po Briksu, titrabilnoj kiselosti i pomološkim karakteristikama³.

U cilju procene uticaja razlike između sorti i godina uzorkovanja na ukupnu varijabilnost sadržaja kvantifikovanih šećera i kiselina, urađena je multivarijantna analiza varijanse (MANOVA). MANOVA je izvedena korišćenjem opšteg linearnog modula (*General linear module*) softvera *Statistica*. Formirana su dva MANOVA modela za podatke dobijene kvantifikacijom šećera i organskih kiselina. U jednom su ispitani uticaji tipa sorte jabuke i godine prikupljanja u ispitivanim ekstraktima uzoraka mezokarpa ploda jabuke, a u drugom su ispitani pomenuti uticaji u ekstraktima uzoraka lista jabuke.

Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije ispitivanih supstanci. Kao ulazni podaci korišćena je matrica od 90 uzoraka i 18 promenljivih (**Prilog 1**). Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije ispitivanih supstanci. Kao kategorijske varijable definisane su tip sorte i godine uzorkovanja. Ukupno 1710 podataka za vrednosti koncentracija šećera i kiselina du upotrebljeni kao ulazni podaci za MANOVA proračune. Upotrebljen je model u kome je procenjen uticaj faktora (F1-F2) na sadržaj šećera i kiselina u uzorcima. Postavljen je MANOVA model koji uključuje odsečak, jednostavne linearne i interakcijske termine do drugog reda. Model je predstavljen prema sledećem obrascu:

$$Y_b = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 + b_{12}F_1F_2$$

gde je:

Y_b – koncentracija ispitivanih jedinjenja

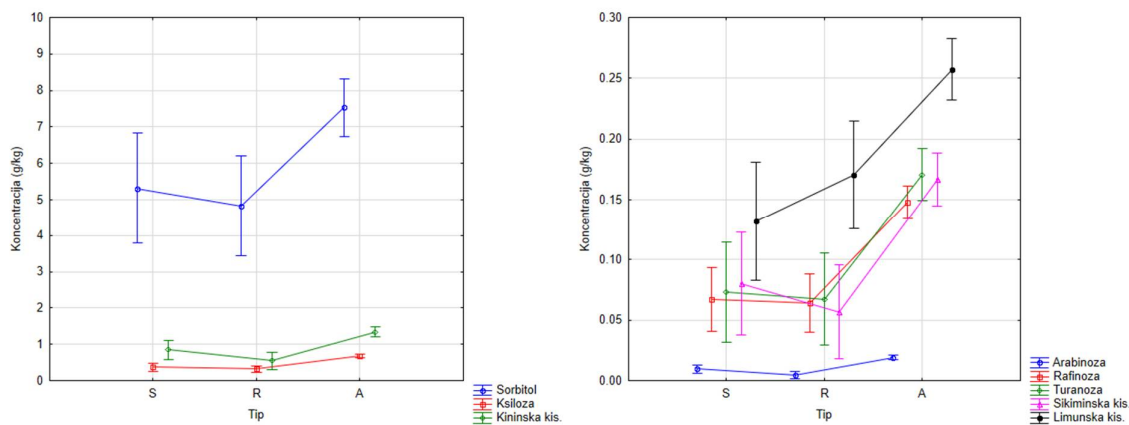
F_1 – opisuje uticaj tri tipa tkiva (mezokarp, pokožica i list)

F_2 – opisuje razliku između tri uzastopne godine proizvodnje.

Tabela 8. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj ispitivanih šećernih makrokomponenti i kiselina u mezokarpu ispitivanih uzoraka. DF– broj stepeni slobode; SS–zbir kvadrata; MS–srednji kvadrat. Faktori: F_1 – tip sorte: autohtone, standardne i rezistentne; F_2 – godina proizvodnje, Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Statistički značajni rezultati (interakcije) su označene zvezdicom (*).

Faktor	DF	Glicerol			Sorbitol			Arabinoza			Glukoza		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	1,594	79,33	<0,001*	2233	254,59	<0,001*	0,0078	190,97	<0,001*	30292	459,99	<0,001*
F1	2	0,094	2,35	0,102	131	7,44	0,001*	0,0035	42,01	<0,001*	212	1,61	0,206
F2	2	0,351	8,74	<0,001*	41	2,35	0,102	0,0009	11,13	<0,001*	1132	8,59	<0,001*
F1 × F2	4	0,141	1,75	0,147	84	2,4	0,057	0,0005	3,11	0,020	307	1,17	0,332
Faktor	DF	Ksilioza			Fruktoza			Saharoza			Rafinoza		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	13,35	301,97	<0,001*	217669	2286,13	<0,001*	49483	872,07	<0,001*	0,558	209,98	<0,001*
F1	2	2,41	27,23	<0,001*	141	0,74	0,481	256	2,26	0,111	0,141	26,56	<0,001*
F2	2	1,57	17,76	<0,001*	2603	13,67	<0,001*	219	1,93	0,152	0,003	0,56	0,574
F1 × F2	4	0,25	1,44	0,228	2783	7,31	<0,001*	261	1,15	0,339	0,016	1,51	0,207
Faktor	DF	Turanoza			Panoza			Maltoza			Maltioza		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	0,6934	106,31	<0,001*	0,00356	215,26	<0,001*	1,065	161,07	<0,001*	5,4603	365,43	<0,001*
F1	2	0,2126	16,30	<0,001*	0,00004	1,29	0,281	0,013	1,00	0,371	0,0508	1,70	0,189
F2	2	0,0004	0,03	0,969	0,00001	0,35	0,709	0,024	1,80	0,172	0,0187	0,63	0,537
F1 × F2	4	0,0039	0,15	0,963	0,00001	0,22	0,929	0,019	0,72	0,578	0,0168	0,28	0,889
Faktor	DF	Kininska			Šikiminska			Jabučna			Maleinska		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	53,63	197,24	<0,001*	0,661	96,67	<0,001*	7767	367,41	<0,001*	0,1568	217,01	<0,001*
F1	2	9,74	17,92	<0,001*	0,211	15,42	<0,001*	13,85	0,33	0,722	0,0018	1,21	0,303
F2	2	0,13	0,24	0,788	0,002	0,16	0,854	1,93	0,05	0,955	0,0055	3,83	0,026*
F1 × F2	4	0,09	0,08	0,987	0,026	0,95	0,439	56,29	0,67	0,618	0,0015	0,52	0,725
Faktor	DF	Limunska			Izolimunska								
		SS	F	p	SS	F	p						
Odsečak	1	2,2419	248,72	<0,001*	0,0559	85,99	<0,001*						
F1	2	0,2405	13,34	<0,001*	0,0040	3,05	0,053						
F2	2	0,0012	0,07	0,935	0,0013	0,99	0,376						
F1 × F2	4	0,0145	0,4	0,807	0,0014	0,55	0,702						

Kod uticaja na sadržaj jabučne kiseline ne postoji uticaj tipa sorte, a ni godine proizvodnje. Kod sadržaja kininske i šikiminske kiseline postoji statistički značajan uticaj sorte. Saglasno sa analizom glavnim komponenti, autohtone sorte karakteriše sadržaj kininske kiseline u višem opsegu u poređenju sa ispitivanim standardnim i rezistentnim sortama. Na nivou seta podataka od sve tri godine ispitivanja, postoji statistička razlika u sadržaju limunske i kininske kiseline u autohtonim sortama, u poređenju sa ostala dva tipa sorti (**Tabela 8**). Organske kiseline imaju ulogu u regulisanju osmotskog pritiska, pH homeostaze, otpornosti prema stresu uzorkovanom metalima i određuju organoleptička svojstva. Kiselim ukusu ploda voća obično doprinose jabučna ili limunska kiselina^{29,110,111}. Malat i citrat se kod biljaka akumuliraju kao proizvod nepotpune oksidacije proizvoda fotosinteze ili rezervnih šećera¹¹². Kada postoji višak NADPH koji ne može da se metaboliše u okviru Kalvinovog ciklusa u hloroplastu, tada NADPH redukuje oksalacetat u malat i na taj način se neutrališe disbalans oksidacionog potencijala koji bi doveo do oštećenja hloroplasta. Dobijeni malat se može prevesti u oksaloacetat u citosolu pri čemu se redukuje NAD^+ ¹¹³. Akumulirani malat i citrat po potrebi mogu da se vrate u krebsov ciklus. Dekarboksilacija malata u citosolu daje fosfoenolpiruvat koji može da bude supstrat u glukoneogenezi ili da se metaboliše u acetyl-CoA i time bude supstrat za sintezu flavonoida i izoprenoida tokom sazrevanja voća^{111,114}. Kininska kiselina čini deo strukture ferouil- i kefeoilkininskih kiselina. Kininska kiselina može biti prisutna u slobodnoj formi (anjon) i biti u vezi sa sintezom pomenutih jedinjenja, ali može biti i proizvod hidrolize prilikom pripreme ekstrakta. Kininska kiselina i fenilalanin se sintetišu iz šikiminske kiseline¹¹⁵. Fenilalanin je dalje supstrat za sintezu svih $\text{C}_6\text{-C}_3$ fenolnih jedinjenja i flavonoida³⁵.



Slika 9. Grafički prikaz faktora MANOVA koji utiču na sadržaj ispitivanih saharida u uzorcima mezokarpa jabuke - uticaj tipa sorte, (A – autohtone sorte, R – rezistentne i S – standardne sorte)

Prema rezultujućem MANOVA modelu, postoji uticaj sorte na sadržaj sorbitola (**Slika 9**). Prosečan sadržaj sorbitola jeste značajno veći u uzorcima mezokarpa autohtonih sorti prikupljenih 2019. i 2020. godine. Iako je sorbitol glavni oblik transportog saharida do organa potrošača, sorbitol se u organima potrošačima po pravilu metaboliše u fruktozu^{27,114}. Akumulacija sorbitola i manitola mogu takođe biti epilog stresa izazvanog nedostatkom vode¹¹⁶. Pri ispitivanju sorti Delišeš, Gloster i Fudži u radu Župan i sar. evidentno je povećanje koncentracije sorbitola u plodu jabuka kod kojih se javlja staklavost ploda¹¹⁷.

Kod ispitivanih saharida koji su prisutni u prosečnim količinama ispod 1 mg/g, postoji uticaj tipa grupe sorti na sadržaj sorbitola, ksiloze, rafinoze, turanoze, manitola. Rafinoza i slični trisaharadi su povezani sa odgovorom biljke na oksidativni stres, a njeno akumuliranje može biti prilagođavanja uslovima suše, saliniteta i niskih temperatura^{118,119}.

Iako je sorbitol glavni oblik transportog saharida do organa potrošača, sorbitol se u organima potrošačima po pravilu metaboliše u fruktozu^{27,114}. Akumulacija sorbitola i manitola mogu takođe biti epilog stresa izazvanog nedostatkom vode¹¹⁶. Pri ispitivanju sorti Delišeš, Gloster i Fudži u radu Župan i sar. evidentno je povećanje koncentracije sorbitola u plodu jabuka kod kojih se javlja staklavost ploda¹¹⁷. Turanoza je izomer saharoze, a kao i sorbitol doprinosi slatkom ukusu voća, i ima manji glikemijski indeks od saharoze i glukoze. Turanoza, kao i trehaluloza, leukroza i izomaltuloza, ima manju slast od saharoze i znatno sporije hidrolizuje prilikom varenja. Turanoza ima i protivuplana dejstva i efekat supresije adipogeneze, pa ima potencijal primene kao terapijski zaslađivač¹²⁰. Prema radu Park i sar. dodatak turanoze u pirinčano brašno može da poboljša njegovu viskoelastičnost i poboljša stabilnost testa¹²¹.

4.2. Analiza sadržaja pojedinačnih šećera i karboksilnih kiselina kratkog niza u listu

U literaturi je sadržaj saharida u listu jabuke znatno ređe predmet ispitivanja nego sadržaj saharida u plodu jabuke. U ovoj studiji, kvantifikovano je četrnaest saharida (pet monosaharida, tri di- i tri trisaharida, i tri poliola) i devet karboksilnih kiselina kratkog niza (**Prilog 2**).

U ispitivanim ekstraktima uzoraka lista u najvećoj koncentraciji je prisutan sorbitol (**Tabela 9**). Najveći deo ugljenika se od lista do organa potrošača kod roda *Malus* transportuje u obliku sorbitola²⁷. U radu Šircelj i sar. sorbitol je opisan u koncentraciji od 75 do 95 mg/g suvog uzorka lista kod sorti Jonagold i Elstar koje nisu izložene stresu uzrokovanom sušom, a kod biljaka pod stresom izmerena je i koncentracija od 123 mg/g suvog lista¹²².

Pored sorbitola i saharoza se smatra za šećer koji učestvuje u transportu ugljenika od lista kao organa izvora (*source*) do ostalih organa, koji su potrošači (*sink*). Prisustvo saharoze u listu je važno u periodu cvetanja i zretanja plodova¹²³. Sam položaj lista u krošnji, izloženost sunčevom svetlu i višim temperaturama, kao i samo vreme uzorkovanja utiče na sastav šećera u listu¹²⁴. Saharoza je kvantifikovana u rasponu od 0,08 do 1,59 mg/g suvog uzorka lista (**Prilog 2**). Nizak nivo saharoze u listu jabuke kod sorti koje su bile uključene u ovo istraživanje može se objasniti ili nedostatkom vode kada su listovi uzorkovani, ili činjenicom da u vreme intenzivnog porasta ploda translokacija saharoze i sorbitola iz fotosintetski aktivnih listova u plod je jako intenzivna (što se poklapa sa terminom uzimanja listova). Slične vrednosti u listu su opisali Nemeskéri i sar., koji su ispitivali uticaj suše na različitim sortama jabuke (Ajdared, Jonagold, Remo i Gala). U pomenutoj studiji je list jabuke uzorkovan u četiri termina i saharoza je detektovana u uzorcima prikupljenim četiri meseca nakon cvetanja, odnosno u poslednjem stadijumu razvoja ploda, a u uzorcima iz ranijih faza razvoja nije bila detektovana¹²⁵. Redukcija saharoze u listu jabuke može biti izazvana nedostatkom vode¹²⁶, dok postoje i studije koje su povezuju sušu sa povećanjem sadržaja saharoze u listu¹²⁷. Niske koncentracije saharoze u listu jabuke takođe su utvrdili Wojdyło i sar., prilikom ispitivanja bioaktivnih komponenti u listu tri sorte jabuke (Šampion, Florina i Empajer)¹²⁸.

Tabela 9. Prosečne vrednosti šećera i kiselina tokom tri godine u listu različitih ispitivanih tipova sorti jabuke.

		Jedinjenje (mg/g)									
		Glicerol	Sorbitol	Arabinoza	Glukoza	Ksiloza	Fruktoza	Saharoza	Rafinoza	Turanoza	Panoza
2018	A	2,52±0,65	70,7±16,3	0,03±0,01	40,03±7,96	0,021±0,016	5,46±1,48	0,42±0,20	0,08±0,12	0,26±0,14	0,18±0,14
	S	2,26±0,23	58,5±13,4	0,02±0,01	28,13±2,97	0,008±0,007	3,48±1,77	0,36±0,27	0,13±0,11	0,10±0,17	0,26±0,27
	R	3,11±0,72	64,1±10,2	0,03±0,01	35,97±2,07	0,022±0,015	4,80±1,10	0,56±0,16	0,19±0,10	0,10±0,14	0,29±0,15
2019	A	2,42±0,70	54,8±10,9	0,02±0,01	33,58±9,98	0,018±0,011	3,70±1,20	0,46±0,36	0,11±0,16	0,17±0,13	0,22±0,18
	S	2,05±0,16	65,1±9,7	0,03±0,01	42,98±7,51	0,029±0,036	3,60±1,01	0,22±0,05	0,14±0,15	0,24±0,18	0,12±0,20
	R	2,42±0,20	52,9±9,6	0,02±0,01	37,06±3,89	0,012±0,030	4,01±0,58	0,43±0,03	0,15±0,25	0,20±0,10	0,23±0,02
2020	A	2,73±0,68	60,6±10,2	0,04±0,08	39,45±6,30	0,039±0,026	5,41±0,70	0,44±0,18	0,22±0,09	0,09±0,09	0,41±0,38
	S	3,90±0,81	49,9±1,8	0,02±0,01	40,38±2,43	0,025±0,016	5,56±1,01	0,42±0,18	0,18±0,06	0,04±0,02	0,45±0,10
	R	2,70±0,79	71,5±5,2	0,10±0,01	43,42±8,38	0,050±0,016	5,62±0,75	0,42±0,17	0,36±0,04	0,19±0,26	0,30±0,38
		Jedinjenje (mg/g)									
		Maltoza	Maltotrioza	Kininska	Šikimin.	Jabučna	Maleinska	Limunska	Izolimun.	Galaktour.	Glukouron.
2018	A	0,11±0,07	0,21±0,07	23,3±6,4	2,55±1,55	18,1±4,6	0,73±0,29	4,23±1,74	0,17±0,09	0,151±0,053	0,017±0,010
	S	0,17±0,05	0,24±0,05	24,1±7,7	2,20±0,84	17,4±3,8	1,23±0,36	1,91±0,52	0,19±0,06	0,066±0,024	0,039±0,069
	R	0,11±0,07	0,24±0,06	28,4±4,3	1,87±0,67	18,0±3,9	0,86±0,36	3,37±1,00	0,23±0,15	0,079±0,041	0,020±0,014
2019	A	0,15±0,06	0,24±0,06	24,7±4,9	2,99±1,49	24,4±4,5	1,00±0,39	4,29±1,79	0,19±0,11	0,238±0,110	0,034±0,025
	S	0,11±0,06	0,20±0,06	26,8±8,3	3,02±0,70	27,0±6,8	1,52±0,34	2,57±0,38	0,25±0,14	0,148±0,053	0,023±0,008
	R	0,13±0,07	0,23±0,06	26,0±6,2	3,19±1,06	25,7±8,1	1,09±0,42	3,87±1,62	0,28±0,16	0,214±0,103	0,027±0,013
2020	A	0,10±0,05	0,21±0,12	26,3±6,0	2,07±1,17	20,6±3,1	1,16±0,57	4,22±1,97	0,27±0,12	0,198±0,073	0,018±0,012
	S	0,10±0,08	0,15±0,08	27,6±7,6	1,76±1,21	22,1±4,5	1,22±0,68	2,97±0,20	0,24±0,11	0,166±0,026	0,025±0,012
	R	0,10±0,08	0,33±0,18	26,6±5,1	2,78±0,69	22,8±7,1	0,94±0,61	3,25±1,11	0,13±0,15	0,220±0,107	0,020±0,017

Isto kao i kod uzoraka mezokarpa, celokupan set podataka je sačinjen od merenja 30 prikupljenih uzoraka lista, tokom 3 različite godine, a za svaku godinu postavljene su zasebne analize glavne komponente. Tri seta podataka od po 30 uzoraka, i 23 promenljivih (sadržaj saharida i karboksilnih kiselina kratkog niza, **Prilog 2**). Svi podaci su pre PCA analize standardizovani, tj. centrirani i skalirani na jediničnu standardnu devijaciju. Analiza glavnih komponenti je rezultovala modelima koji uključuju broj glavnih komponenti koji je dat za svaki odgovarajući model u **Tabela 10**, kao i varijabiliteti koje navedene komponente opisuju. Komponente kumulativno opisuju 75,74%, 79,57%, 77,57% varijabiliteta u podacima (u 2018, 2019, i 2020. godini redom), dok se procenat varijabiliteta kod preostalih komponenata kod svakog od tri modela može zanemariti.

Tabela 10. Broj varijabli ispitivanih matrica u okviru PCA, i objašnjeni varijabilitet među podacima

Godina	2018		2019		2020	
Broj uzoraka	30		30		30	
Broj varijabli	690		690		690	
Komponenta	Var. ¹ (%)	E.V. ²	Var. (%)	E.V.	Var. (%)	E.V.
PC1	22,73	5,23	22,45	5,16	18,31	4,21
PC2	14,17	3,26	17,01	3,91	14,5	3,34
PC3	9,71	2,23	9,44	2,17	12,39	2,85
PC4	9,27	2,13	8,16	1,88	8,22	1,89
PC5	7,23	1,66	7,00	1,61	7,30	1,68
PC6	7,18	1,65	5,75	1,32	6,63	1,53
PC7	5,45	1,25	5,31	1,22	5,34	1,23
PC8 ³	4,31	0,99	4,45	1,02	4,88	1,12
Ukupan var. (%)	75,74		79,57		77,57	

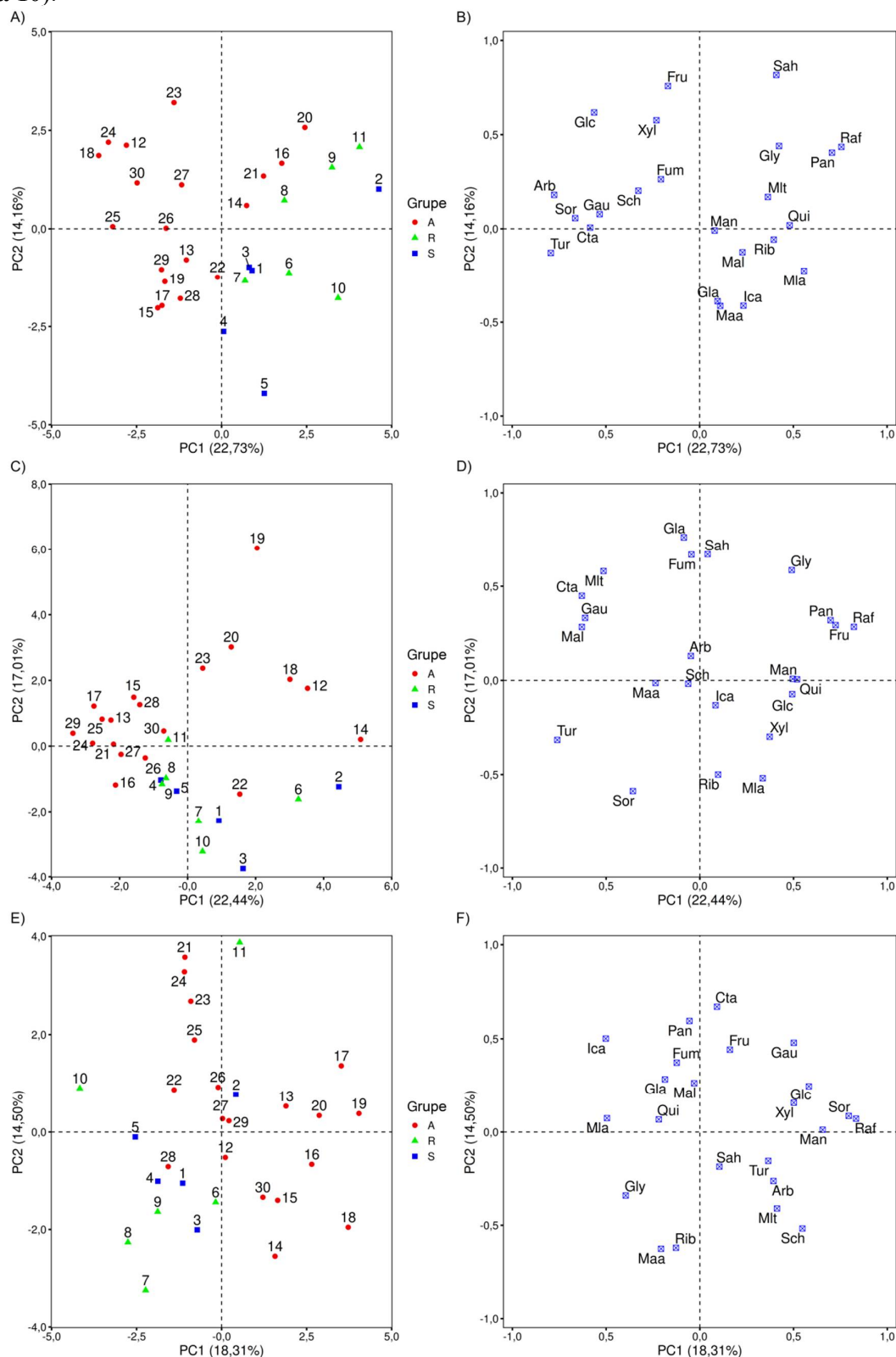
1 – varijabilitet

2 – Eigen vrednost

3 – PC8 nema značajan doprinos u 2018. godini

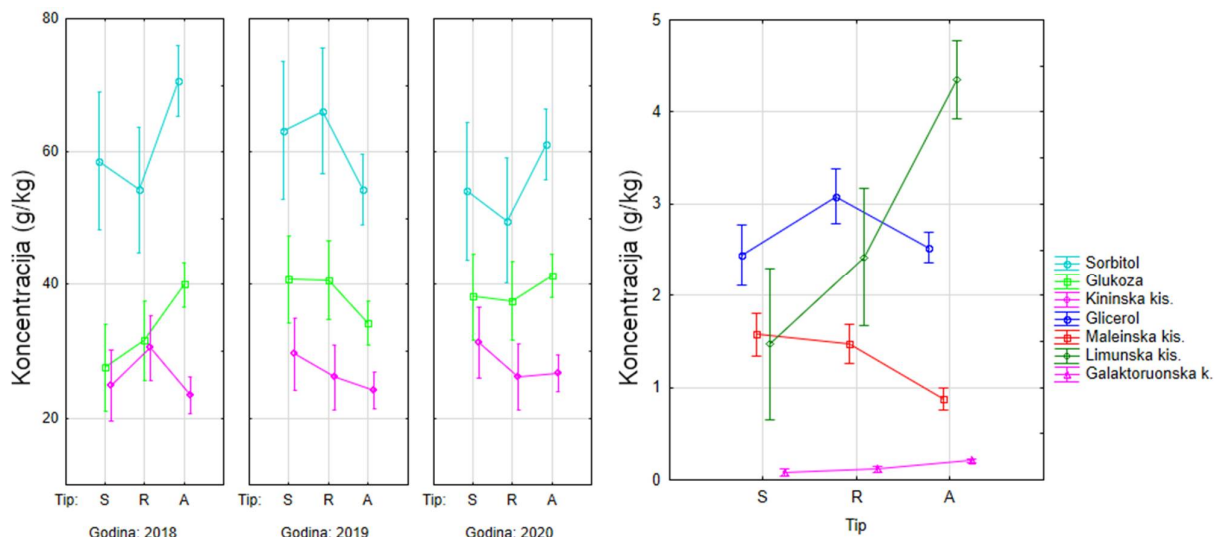
Razdvajanje uzoraka prema tipu sorte kod uzoraka iz 2018. godine (**Slika 10 A**), uočava se duž PC1 ose, dok je kod uzoraka iz 2019. godine razdvajanje uzoraka po tipu sorte duž PC2 ose (**Slika 10 C**). Na skor plotu koji se odnosi na uzorke iz 2020. godine, većina uzoraka standardnih i rezistentnih sorti se nalazi u kvadrantu grafika gde i PC1 i PC2 imaju negativne vrednosti. Nije evidentna pravilnost, da u različitim godinama isto jedinjenje karakteriše isti deo klastera, kao što je slučaj kod nekih jedinjenja kod mezokarpa, npr. ksiloze. Primetno je da su se uzorci 2 i 11 kategorisali u oblast gde su nalaze uzorci autohtonih sorti. Ovo ukazuje da je list, kao površinsko tkivo, u poređenju sa mezokarpom osetljiviji na spoljna dejstva, pa ne postoji ustaljenost da se različita jedinjenja ponašaju identično tokom različitih godina. Uslovi sredine su neminovno različiti tokom godina, a i tokom kraćih vremenskih intervala. Razdvajanju duž PC-osa u smeru autohtonih sorti tokom sve tri godine uzorkovanja doprinosi limunska kiselina (Cta), a razdvajanju standardnih i rezistentnih sorti doprinosi maletinska kiselina (Mla). Pri razmatranju analize glavnih komponenti jasno razdvajanje postoji između autohtonih i ostale dve grupe ispitivanih sorti kada se posmatraju uzorci iz 2018. godine, dok u ostale dve godine postoji izvesno preklapanje. Uzorci lista sorti Remura (11) i Greni Smit (2) se nalaze u oblasti klastera autohtonih sorti (**Slika 10**). Kod uzorka sorte Remura je izmerena najviša koncentracija glukouronske kiseline (0,0436 mg/g) i fruktoze (4,32 mg/g), kao i visoke koncentracije maltoze, panoze i fumarne kiseline među rezistentnim sortama iz 2019. godine, što doprinosi njenom položaju u odnosu na druge objekte i klastere na grafiku. Pomenut uzorak se ne ističe po koncentracijama jedinjenja koja doprinose razdvajanju sorti duž PC2 ose, ali ima nisku koncentraciju riboze (0,088 mg/g) i šikiminske kiseline (2,83 mg/g) u poređenju sa ostalim uzorcima iz iste grupe sorti i godine. Uzorke sorte Greni smit (2) iz sve tri godine karakterišu visoke vrednosti rafinoze, panoze i kininske kiseline (**Prilog 2**) u

grupi standardnih sorti, koje prema loading plotu uslovljavaju grupisanje u klastere na graficima (Slika 10).



Slika 10. Analiza glavnih komponenta, grafici skorova (a, c, e) i latentnih varijabli (b, d i f), rezultovanih obradom podataka iz tri različite godine (a i b, 2018. godina, c i d, 2019. godina, e i f 2020. godina). A – autohtone sorte, R – rezistentne i S – standardne sorte. Skraćenice naziva jedinjenja u grafiku latentnih varijabli date su u **Tabela 2**.

U cilju procene uticaja razlike između sorti i godina uzorkovanja na ukupnu varijabilnost sadržaja kvantifikovanih šećera i kiselina, urađena je multivarijantna analiza varijanse (MANOVA), korišćenjem opšteg linearnog modula (*General linear module*) softvera *Statistica*. Analiza rezultata je izvedena po istom principu kao i kod uzoraka mezokarpa u prethodnoj celini. Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije ispitivanih supstanci, a tip sorte i godine uzorkovanja definisane su kao kao kategoričke varijable. Ukupno 2070 podataka za vrednosti koncentracija šećera i kiselina su upotrebljeni kao ulazni podaci za MANOVA proračune.



Slika 11. Grafički prikaz faktora MANOVA koji utiču na sadržaj ispitivanih saharida u uzorcima lista jabuke, uticaj tipa sorte na sadržaj (desno), kombinovani uticaj godine uzorkovanja i tipa sorte na sadržaj makrokomponentata (levo) (A – autohtone sorte, R – rezistentne sorte, S – standardne sorte).

Među ispitivanim saharidima statistički značajna razlika između lišća ispitivanih sorti postoji u sadržaju glicerola, dok kod ostalih ispitivanih poliola i šećera ne postoji. Maleinska kiselina je detektovana u manjoj količini u autohtonim sortama u poređenju sa ostala dva tipa sorte, dok je limunska kiselina kvantifikovana u većoj količini (**Slika 11, Tabela 11**).

Tabela 11. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj ispitivanih šećernih makrokomponenti i kiselina u mezokarpu ispitivanih uzoraka. DF– broj stepeni slobode; SS–zbir kvadrata; MS–srednji kvadrat. Faktori: F_1 – tip sorte: autohtone, standardne i rezistentne; F_2 – godina proizvodnje, Unapred definisana statistička značajnost je na $p = 0,05$. Statistički značajni rezultati (interakcije) su označene zvezdicom (*).

Faktor	DF	Glicerol			Sorbitol			Manitol			Arabinoza			Glukoza		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	463,62	1134	<0,001*	225204	1666	<0,001*	0,0863	168	<0,001*	0,0425	29,22	<0,001*	87585	1622	<0,001*
F1	2	4,8	5,87	0,004*	445	1,65	0,199	0,0019	1,90	0,156	0,0039	1,33	0,270	132	1,22	0,300
F2	2	12,8	15,67	<0,001*	559	2,07	0,133	0,0027	2,61	0,080	0,0002	0,08	0,924	471	4,36	0,016*
F1 × F2	4	7,72	4,73	0,002*	2503	4,63	0,002*	0,0009	0,45	0,771	0,0034	0,58	0,680	1033	4,78	0,002*
Faktor	DF	Ksilioza			Fruktoza			Riboza			Saharoza			Rafinoza		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	0,0355	92,92	<0,001*	1384	1074	<0,001*	0,5853	506	<0,001*	10,327	201	<0,001*	1,412	89,64	<0,001*
F1	2	0,0005	0,67	0,516	1,99	0,77	0,466	0,0018	0,79	0,456	0,065	0,64	0,530	0,021	0,66	0,520
F2	2	0,0042	5,51	0,006*	51,79	20,09	<0,001*	0,0035	1,50	0,230	0,351	3,43	0,037*	0,104	3,30	0,042*
F1 × F2	4	0,0036	2,37	0,059	13,53	2,62	0,041*	0,0012	0,25	0,908	0,471	2,30	0,066	0,118	1,87	0,124
Faktor	DF	Turanoza			Panoza			Maltoza			Maltorioza					
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p			
Odsečak	1	1,493	84,9	<0,001*	4,083	71,1	<0,001*	1,083	270,86	<0,001*	2,748	366	<0,001*			
F1	2	0,043	1,21	0,303	0,013	0,12	0,890	0,011	1,34	0,267	0,023	1,52	0,226			
F2	2	0,141	4,00	0,022*	0,22	1,91	0,154	0,015	1,90	0,156	0,012	0,80	0,454			
F1 × F2	4	0,175	2,48	0,050	0,203	0,88	0,478	0,059	3,69	0,008	0,035	1,17	0,331			
Faktor	DF	Kininska k.			Šikimiska k.			Jabučna k.			Maleinska k.			Fumarna k.		
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p
Odsečak	1	46738	1292	<0,001*	356,41	225	<0,001*	28861	1264	<0,001*	110,38	562	<0,001*	0,3207	24,91	<0,001*
F1	2	240	3,31	0,041*	3,57	1,13	0,328	74	1,62	0,205	8,64	22,03	<0,001*	0,1421	5,52	0,006*
F2	2	40	0,55	0,578	14,53	4,6	0,013	462	10,12	<0,001*	3,56	9,07	<0,001*	0,0018	0,07	0,932
F1 × F2	4	209	1,45	0,227	3,35	0,53	0,713	18	0,20	0,937	0,72	0,92	0,455	0,0025	0,05	0,995
Faktor	DF	Limunska k.			Izolimunska k.			Galaktouronska kis.			Glukouronska kis.					
		SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p			
Odsečak	1	486,3	190	<0,001*	2,938	228	<0,001*	1,207	198	<0,001*	0,0335	72	<0,001*			
F1	2	123,98	24,26	<0,001*	0,018	0,69	0,502	0,250	20,53	<0,001*	0,0001	0,12	0,884			
F2	2	1,28	0,25	0,778	0,037	1,43	0,246	0,071	5,86	0,004	0,0012	1,35	0,264			
F1 × F2	4	0,67	0,07	0,992	0,052	1,01	0,409	0,011	0,44	0,776	0,0035	1,88	0,122			

4.3. Analiza sadržaja elemenata

U uzorcima mezokarpa, pokožice i lista analiziranih uzoraka jabuke kvantifikovano je ukupno sedamnaest elemenata. Pored makrokomponenta (K, Ca, Mg i Na, **Tabela 12**) ispitan je i sadržaj metala čije prisustvo je neophodno u mikrokoličinama da bi bio moguć normalan razvoj i normalan metabolizam kod viših biljaka (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni) ¹²⁹, kao i prisustvo toksičnih elemenata koje je bilo moguće kvantifikovati u primenjenim eksperimentalnim uslovima (As, Sr, Co, Cr, Cd, Pb i Bi).

Sadržaj i distribucija metala u različitim biljnim tkivima uslovljeni su biljnom vrstom, lokalitetom i uslovima gajenja ^{8,101,128,130}. U svim ispitivanim tkivima u najvećoj količini su kvantifikovani kalijum, kalcijum, magnezijum i natrijum. Prisustvo ovih elemenata u značajno većim količinama od ostalih određivanih elemenata je očekivano u mezokarpu i pokožici ^{8,131,132}, kao i u listu jabuke ¹³³.

Tabela 12. Prosečne koncentracije ispitivanih makroelemenata (K, Na, Ca i Mg) i najzastupljenijih mikroelemenata (Fe, Mn) u različitim tkivima (list, pokožica, mezokarp) i tipovima sorti (autohtone, rezistentne i standardne).

Tkivo	God.	Tip sorte	Konc.	mg/kg				
			K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn
Mezokarp	2018	A	944±39	64±13	16,4±2,9	31,7±8,0	2,07±1,68	0,45±0,28
		S	962±37	64±12	14,9±2,0	34,6±7,2	4,15±2,17	0,39±0,11
		R	978±67	75±18	29,8±19,6	32,3±10,2	2,40±1,69	0,41±0,11
	2019	A	918±40	92±34	36,8±11,4	36,9±13,1	4,30±2,24	0,54±0,35
		S	956±29	70±16	29,7±9,5	30,9±8,2	3,04±0,62	0,32±0,04
		R	921±25	72±38	26,5±9,4	30,5±8,0	2,83±1,01	0,46±0,22
	2020	A	905±28	79±23	25,7±10,0	36,8±10,8	2,16±0,91	0,62±0,37
		S	933±44	66±28	24,2±9,0	35,3±14,2	3,08±0,41	0,58±0,17
		R	918±45	68±17	19,6±1,9	38,9±14,3	2,03±0,76	0,63±0,44
Pokožica	2018	A	1078±27	231±50	72,8±18,7	42,5±8,4	2,56±0,71	1,60±0,76
		S	1150±66	225±30	74,3±15,6	35,0±4,7	2,06±0,17	1,57±0,17
		R	1142±47	270±17	97,2±10,2	39,7±8,4	2,44±0,44	1,48±0,74
	2019	A	1053±66	242±88	93,9±37,8	44,3±12,3	3,55±1,35	2,27±1,14
		S	1118±42	287±43	119±21,3	44,3±14,6	4,14±1,39	1,60±0,56
		R	1132±50	219±59	83,4±22,4	33,1±9,4	3,16±1,36	1,95±0,18
	2020	A	1119±39	195±29	59,3±10,9	39,0±7,5	2,41±0,88	1,86±0,75
		S	1143±48	236±46	75,1±21	33,0±8,7	2,67±0,42	1,66±0,67
		R	1164±50	247±33	78,8±13,4	40,5±7,6	2,72±0,30	1,85±0,08
List	2018	A	4750±964	5242±1256	1073±126	433±154	104±63	48±18
		S	7904±3233	5184±1818	1089±255	510±186	188±94	48±24
		R	7276±1843	5507±1442	875±212	407±134	130±57	43±24
	2019	A	5590±2437	5851±1520	1000±201	412±164	118±75	45±18
		S	7823±1744	4729±924	1000±215	490±164	158±137	39±6
		R	8156±1479	6004±1354	824±172	476±195	114±63	50±19
	2020	A	5320±1802	4802±1262	1036±196	435±153	80±47	42±17
		S	9506±3951	5569±815	1045±263	575±115	121±89	51±18
		R	8231±2198	5535±1071	1010±160	376±94	134±87	44±16

U svim ispitivanim uzorcima mezokarpa i pokožice kalijum je kvantifikovan kao najzastupljeniji od ispitivanih elemenata, u rasponu od 823 do 1060 mg/kg svežeg uzorka mezokarpa i u rasponu od 935 do 1262 mg/kg svežeg uzorka pokožice (**Prilog 3**). Dobijeni rezultati prosečnog sadržaja kalijuma u uzorcima mezokarpa i pokožice (**Tabela 18**) i pomenuti opsezi su približni sa rezultatima iz prethodne studije Šavikin i saradnika, gde se sadržaj kalijuma kretao u opsegu od 1040 do 1580 mg/kg svežeg pokožice i u opsegu od 744 do 933 mg/kg svežeg uzorka mezokarpa ispitivanih jabuka u punoj zrelosti. Preti i sar. pri ispitivanju jabuka područja Italije opisuju opseg od 922 do 2445 mg/kg kalijum u svežoj pokožici jabuke, a opseg od 687 do 2078 mg/kg svežeg mezokarpa jabuke¹³². U skladu sa pomenutim studijama, po prosečnim koncentracijama u pokožici i mezokarpu slede kalcijum, magnezijum i natrijum, dok su ostali ispitivani elementi prisutni u koncentracijama ispod 2 mg/kg svežeg uzorka. Kod pokožice su izuzetak od pomenute granice mangan i gvožđe. Najveća vrednost gvožđa u pokožici je određena kod uzorka sorte Demirka iz 2019. godine (5,86 mg/kg), a najveća vrednost koncentracije mangana je određena kod uzoraka sorti Šipura iz 2020. godine i kod uzorka pokožice sorte Zaječarski delišes iz 2019. godine (4,71 mg/kg). Kod sorte Šipura je u pokožici tokom 2018. i 2020. godine izmereno 0,56 mg/kg i 2,17 mg/kg mangana u svežem uzorku, dok je kod Zaječarskog delišesa tokom 2018. i 2019. godine izmereno 1,80 mg/kg i 2,58 mg/kg mangana u svežem uzorku. Od toksičnih elemenata As, Cd, Pb i Bi su u mezokarpu i pokožici kvantifikovani u količinama koje su bliske limitu detekcije ili ispod limita detekcije, nezavisno od godine uzorkovanja ili tipa sorte.

U cilju procene uticaja razlike između tkiva, sorti i godina uzorkovanja na ukupnu varijabilnost sadržaja kvantifikovanih elemenata, urađena je multivarijantna analiza varijanse (MANOVA), korišćenjem opšteg linearnog modula (General linear module) softvera Statistica. Analiza rezultata je izvedena po istom principu kao što je opisano u ranijim poglavljima disertacije.

Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije ispitivanih elemenata. Kao kategoričke varijable definisane su tip sorte, godine uzorkovanja i vrsta tkiva. Ukupno 4590 podataka za vrednosti koncentracija elemenata su upotrebljene kao ulazni podaci za MANOVA proračune. Model je postavljen tako da podrazumeva tri tipa sorti $\times$ tri tipa tkiva $\times$ dve godine proizvodnje, pri čemu je u okviru svake kategorije mereno 17 varijabli. Upotrebljen je model u kome je procenjen uticaj faktora (F_1 – F_3) na sadržaj fenola u uzorcima. Postavljen je MANOVA model koji uključuje odsečak, jednostavne linearne i interakcijske termine do trećeg reda. Model je predstavljen prema sledećem obrascu:

$$Y_b = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 + b_3F_3 + b_{12}F_1F_2 + b_{13}F_1F_3 + b_{23}F_2F_3 + b_{123}F_1F_2F_3$$

gde je:

Y_b – koncentracija fenolnih jedinjenja

F_1 – opisuje uticaj tri tipa tkiva (mezokarp, pokožica i list)

F_2 – opisuje razliku između tipa sorti (autohtone, standardne i rezistentne)

F_3 – opisuje dve različite godine proizvodnje (2018., 2019. ili 2020. godina).

Prema MANOVA analizi, kod većine elemenata ne postoje razlike po grupama sorti, a ne postoje razlike ni u zavisnosti od godine uzorkovanja kod većine elemenata. Postoji uticaj tipa sorte na sadržaj kalijuma, magnezijuma, natrijuma i gvožđa. Kod svih elemenata postoji razlika u koncentracijama u zavisnosti od ispitivanog tkiva, i to između lista i ostala dva tkiva. Koncentracija većine ispitivanih elemenata se ne razlikuje značajno u mezokarpu i pokožici. Magnezijum, mangan i cink su prisutni u pokožici u značajno većoj koncentraciji nego u mezokarpu. Veće prisustvo magnezijuma kao komponente hlorofila je očekivano u površinskim tkivima u kojima se odvija fotosinteza u nekoj meri, po pravilu u fazi sazrevanja ploda, dok je na površini ploda dominantan pigment hlorofil.

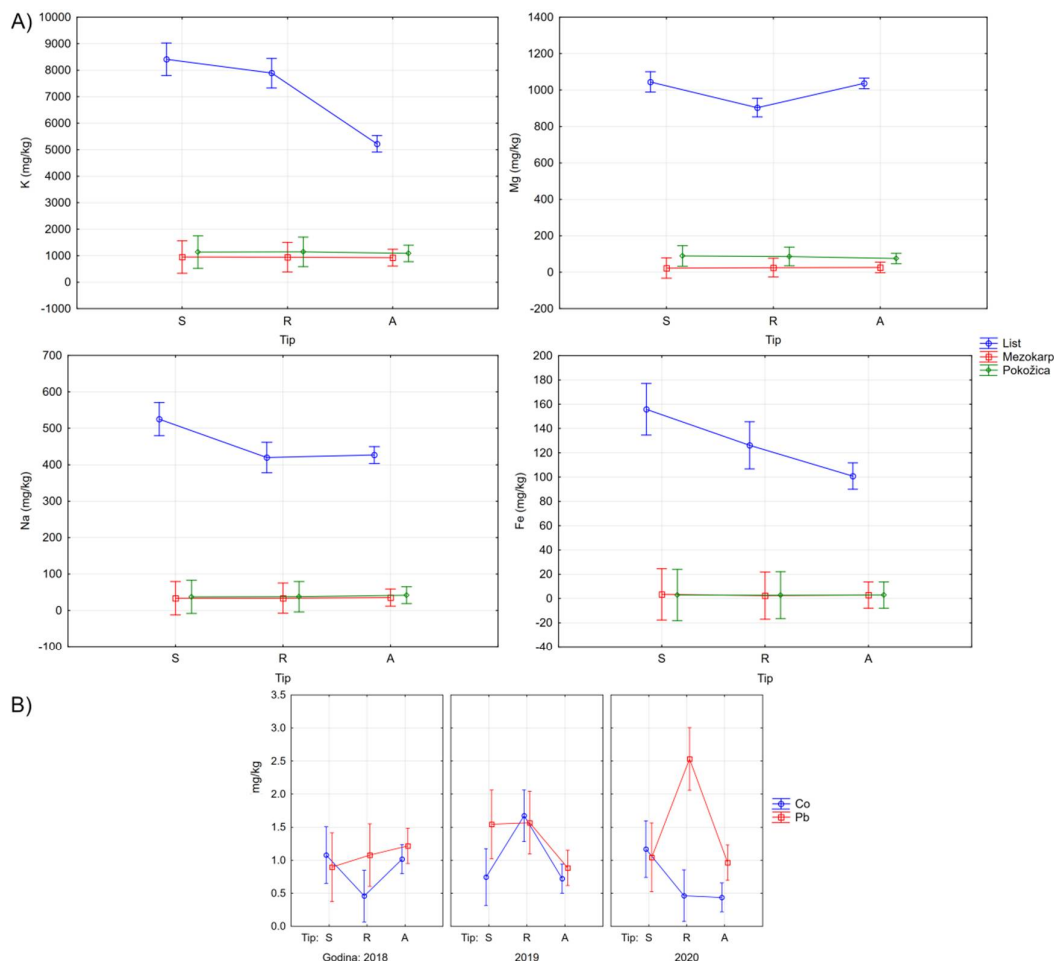
Tabela 13. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj fenola (makrokomponente). Faktori: F1 – tip sorte (autohtone, standardne ili rezistentne), F2 – godina proizvodnje (2018., 2019. ili 2020. godina), F3 – tip analiziranog tkiva (mezokarp, list ili pokožica).

K				Ca				Mg				Na				Fe			
Faktor	DF	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p			
Intercept	1	1,83×10 ⁹	1267	<0,001*	6,95×10 ⁸	1178	<0,001*	2,61×10 ⁷	2146	<0,001*	6,04×10 ⁶	749	<0,001*	381637	219	<0,001*			
F ₁	2	6,29×10 ⁷	21,78	<0,001*	9,29×10 ⁵	0,79	0,456	79022	3,25	0,041	38632	2,40	0,093	13135	3,78	0,024			
F ₂	2	3,71×10 ⁶	1,29	0,278	2,88×10 ⁵	0,24	0,783	11519	0,47	0,624	824	0,05	0,950	3252	0,94	0,394			
F ₃	1	1,62×10 ⁹	561	<0,001*	1,17×10 ⁹	993	<0,001*	3,81×10 ⁷	1564	<0,001*	7,59×10 ⁶	470	<0,001*	667715	192	<0,001*			
F ₁ × F ₂	4	2,42×10 ⁶	0,420	0,794	2,46×10 ⁶	1,04	0,387	30039	0,62	0,651	13957	0,43	0,785	4665	0,67	0,612			
F ₁ × F ₃	2	1,16×10 ⁸	200	<0,001*	1,76×10 ⁶	0,75	0,562	187874	3,86	0,005*	87943	2,73	0,030	25602	3,68	0,006*			
F ₂ × F ₃	2	7,99×10 ⁶	1,385	0,240	4,21×10 ⁵	0,18	0,949	93411	1,92	0,108	1254	0,04	0,997	6160	0,89	0,473			
F ₁ × F ₂ × F ₃	8	5,28×10 ⁶	0,457	0,885	4,88×10 ⁶	1,03	0,411	61754	0,63	0,749	43007	0,67	0,720	8606	0,62	0,761			

Mn				Cu				Zn				Cr				Co				Ni			
Faktor	DF	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p				
Intercept	1	48927	477	<0,001*	2035	420	<0,001*	37436	414	<0,001*	92	900	<0,001*	16,8	70	<0,001*	244,54	244	<0,001*				
F ₁	2	3,2	0,02	0,984	0,861	0,09	0,915	44,83	0,25	0,781	0,26	1,25	0,288	0,32	0,69	0,505	0,67	0,33	0,716				
F ₂	2	5,6	0,03	0,973	13,74	1,42	0,244	63,51	0,35	0,704	0,17	0,83	0,437	0,47	0,99	0,373	0,18	0,09	0,912				
F ₃	1	84560	412	<0,001*	1690	174	<0,001*	68269	378	<0,001*	74	362	<0,001*	31,0	65	<0,001*	372,62	186	<0,001*				
F ₁ × F ₂	4	279	0,68	0,605	10,53	0,54	0,704	145,96	0,40	0,806	0,22	0,53	0,714	2,35	2,49	0,044*	6,03	1,51	0,200				
F ₁ × F ₃	2	15,27	0,04	0,997	4,10	0,21	0,932	76,86	0,21	0,931	0,27	0,65	0,628	0,66	0,69	0,597	1,32	0,33	0,858				
F ₂ × F ₃	2	24,61	0,06	0,993	9,01	0,47	0,761	86,65	0,24	0,916	0,16	0,38	0,823	0,90	0,96	0,432	0,48	0,12	0,975				
F ₁ × F ₂ × F ₃	8	526	0,64	0,742	6,71	0,17	0,994	322,38	0,45	0,893	0,55	0,67	0,714	4,72	2,49	0,013*	11,00	1,38	0,207				

As				Sr				Mo				Cd				Pb				Bi			
Faktor	DF	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p	SS	F	p				
Intercept	1	49,0	81	<0,001*	2666	332	<0,001*	8,45	130	<0,001*	2,54	87	<0,001*	65,23	188	<0,001*	0,11	43,74	<0,001*				
F ₁	2	2,61	2,20	0,113	38,62	2,40	0,092	0,20	1,58	0,207	0,01	0,21	0,813	2,73	3,93	0,021*	0,01	2,08	0,127				
F ₂	2	0,27	0,23	0,797	26,61	1,66	0,193	0,32	2,49	0,085	0,04	0,73	0,481	1,22	1,75	0,175	0,01	2,91	0,056				
F ₃	1	91,6	78	<0,001*	2911	181	<0,001*	7,76	60	<0,001*	4,90	84	<0,001*	50,33	72	<0,001*	0,04	7,35	<0,001*				
F ₁ × F ₂	4	4,11	1,73	0,144	30,17	0,94	0,442	0,10	0,40	0,805	0,17	1,51	0,200	3,10	2,23	0,066	0,01	1,30	0,270				
F ₁ × F ₃	2	4,96	2,09	0,083	66,98	2,08	0,083	0,12	0,45	0,769	0,02	0,20	0,936	4,19	3,01	0,019*	0,01	0,99	0,412				
F ₂ × F ₃	2	0,78	0,33	0,860	38,39	1,19	0,314	0,09	0,34	0,853	0,08	0,72	0,576	1,07	0,77	0,545	0,01	1,22	0,304				
F ₁ × F ₂ × F ₃	8	8,51	1,79	0,079	53,76	0,84	0,571	0,19	0,37	0,934	0,35	1,50	0,158	5,53	1,99	0,048*	0,02	0,88	0,535				

Prema univarijantnim testovima značajnosti postoji razlika među ispitivanim tipovima tkiva kod svih elemenata. Godina uzorkovanja nije uticala značajno na sadržaj elemenata, a na sadržaj kalijuma, magnezijuma, natrijuma postoji uticaj sorte. Kod pomenutih elemenata razlika među tipovima sorti postoji kod uzoraka lista (**Slika 12 A**). Kod sadržaja kobalta i olova postoji statistički značajan uticaj sorte, kombinovani uticaj tkiva i sorte, kao i kombinovani uticaj tkiva, sorte i godine uzorkovanja, koji je primetan kod uzoraka lista. Sadržaj olova u listu kod rezistentnih sorti je povišen u uzorcima iz 2020. godine, kao i sadržaj kobalta kod uzoraka iz 2019. godine (**Slika 12 B**).



Slika 12. Koncentracije kalijuma, magnezijuma, natrijuma i gvožđa, sa intervalom pouzdanosti od 95% u tri različita tkiva i različitim tipovima sorti (A). Koncentracije kobalta i olova sa intervalom pouzdanosti od 95% u listu različitih tipova sorti (B). Tipovi sorti: A – autohtone, R – rezistentne, S – standardne sorte.

4.4. Spektrofotometrijski testovi

Koncentracija jedinjenja koja kod jabuke doprinose antioksidativnoj aktivnosti zavisi od sorte, zrelosti ploda, uslova gajenja, načina čuvanja i uticaja stresa izazvanog patogenima ¹³⁴. Zbog konstante izloženosti tkiva oksidativnom stresu (različiti slobodni radikali, prooksidanti dobijeni dejstvom toplote ili svetla) kod biljaka je evoluirao veliki broj metaboličkih puteva za sintezu antioksidanasa. Primeri ovih jedinjenja su fenolne kiseline, flavonoidi, karotenoidi, askorbinska kiselina i različiti peptidi kao što je glutathion. Mehanistički posmatrano, oksidativni stres se neutrališe veziavanjem ili redukcijom slobodnih radikala i reaktivnih oksidacionih vrsta, kao i heliranjem metalnih jona koji nekontrolisano vrše transfer elektrona ¹³⁵.

Ukupan sadržaj fenola određen je upotrebom Folin-Čikalteu eseja i izražen je kao ekvivalent mase galne kiseline (EGK). Antioksidativna aktivnost je određena kao procenat inhibicije DPPH radikala i izražena je kao broj ekvivalenata troloksa ⁶⁶. Korišćeni antioksidativni testovi nisu potpuno selektivni, osim fenola postoje reakcije sa drugim redukujućim vrstama kao što su različiti enzimski kofaktori, Fe^{2+} jon i sulfiti ⁶³.

U ekstraktima ispitivanih uzoraka izmerene su veće vrednosti ukupnog sadržaja fenola u pokožici (3,13 – 9,25 g GAE/kg u 2018. god. 7,64 – 41,62 g GAE/kg u 2019. god. smrznutog materijala) nego u mezokarpu (0,11 – 2,59 g GAE/kg u 2018. god. 0,27 – 4,51 g GAE/kg u 2019. god.). Najviši sadržaj fenola u pokožici je kvantifikovan kod uzorka sorte Kadumana (autohtona sorta) prikupljenog 2019. godine (41,6 g GAE/kg). Najviši sadržaj fenola u mezokarpu je detektovan kod uzorka sorte Gružanjska letnja kolačara, prikupljenog 2018. godine (4,51 g/kg GAE SM). Prosečne vrednosti ukupnog sadržaja fenola po tipu sorti i godini proizvodnje dati su u **tabeli 14**.

Poređenja radi, *Khanizadeh i sar.* pri analizi jabuka za proizvodnju sajdera, uzorkovanih u Kanadi, ukupan sadržaj fenola utvrđen Folin-Čikalteu metodom, bio je u opsegu između 0,19 g GAE/kg i 0,47 g GAE/kg za mezokarp i u opsegu od 0,71 do 1,24 g GAE/kg svežeg uzorka u ispitivanim pokožicama ¹³⁶. *Jakobek i Barron* navode sadržaj ukupnih fenola u opsegu od 0,25 do 1,37 g GAE/kg mase svežeg uzorka mezokarpa i u opsegu od 0,92 do 4,17 g GAE/kg mase svežeg uzorka pokožice pri analizi dvanaest autohtonih sorti jabuke na teritoriji republike Hrvatske ⁶. *Milošević i sar.* pri ispitivanju ploda 23 komercijalne sorte prikupljene sa komercijalnog zasada u okolini Čačka, navode opseg sadržaja ukupnih fenola u mezokarpu od 0,057 g GAE/kg do 1,46 g GAE/kg, a u pokožici u opsegu od 0,72 g GAE/kg do 3,57 g GAE/kg računato na svež uzorak ¹³⁷. Ove razlike ukazuju na dejstvo različitih uslova u kojima su ispitivane jabuke gajene, kao i na genetske razlike koje su posledica različitosti samih ispitivanih sorti.

Tabela 14. Parametri deskriptivne statistike sadržaja ukupnih fenola po Folin-Čikalteu eseju u ispitivanim uzorcima.

TPC g/kg GAE	Godina Sorte	2018			2019		
		Autohtone (n = 19)	Standardne (n = 5)	Rezistentne (n = 6)	Autohtone (n = 20)	Standardne (n = 5)	Rezistentne (n = 6)
Mezokarp	Sr. vrednost	1,69	0,73	0,51	1,52	0,49	0,50
	Medijana	1,34	0,62	0,46	1,49	0,51	0,23
	St. dev.	1,07	0,39	0,24	0,49	0,19	0,59
	Min. vred.	0,74	0,46	0,27	0,81	0,22	0,11
	Maks. vred.	4,51	1,41	0,92	2,59	0,73	1,61
Pokožica	Sr. vrednost	6,97	4,69	3,91	23,92	21,91	14,05
	Medijana	7,52	4,55	3,53	23,88	21,52	13,57
	St. dev.	1,39	1,26	0,89	6,16	10,36	4,98
	Min. vred.	4,35	3,43	3,13	10,61	9,70	7,64
	Maks. vred.	9,26	6,51	5,44	41,62	37,33	20,66
List	Sr. vrednost	69,05	76,50	71,88	91,32	99,58	91,90
	Medijana	73,84	80,11	74,58	90,63	99,11	91,05
	St. dev.	15,60	10,04	6,16	11,51	5,15	8,45
	Min. vred.	17,72	64,79	64,11	73,83	92,19	80,14
	Maks. vred.	87,86	88,62	78,15	121,22	104,61	104,32

Očekivano je da su sadržaj fenola i antioksidativna aktivnost veći u pokožici nego u mezokarpu jabuke, usled interakcije pokožice sa spoljnom sredinom. Antioksidativnoj aktivnosti pokožice značajno doprinosi prisustvo antocijana koji doprinose i crvenoj boji pokožice, kao i uopšteno veća koncentracija drugih flavonoida nego u mezokarpu.^{134,138,139} Slično, pri razmatranju sume fenola određene kvantifikacijom više jedinjenja primenom tačne hromatografije, Cebulj i sar. ukazuju da je suma sadržaja ispitivanim fenola veća u pokožici nego u mezokarpu ploda jabuke¹⁰⁷. Pokožica je u direktnom kontaktu sa spoljnom sredinom i njenim nepovoljnim uticajem, kao i list. Posledično, očekivana je veća koncentracija jedinjenja koja imaju zaštitnu ulogu u površinskim tkivima biljaka¹³⁸. Zaštitna jedinjenja se akumuliraju u površinskim tkivima zbog uloge u zaštiti od: ultra-ljubičastog zračenja, različitih patogena i biljojeda, kao i prilikom prisustva drugih oblika spoljnog stresa. Fenoli takođe imaju ulogu u privlačenju životinja koje oprašuju biljke ili raznose plod i seme biljke^{8,35,135}. Feng i sar. su opisali 1,5 – 9,2 puta veći sadržaj ukupnih fenola u pokožici nego u mezokarpu ploda jabuke¹⁴⁰. Kod ispitivanih ekstrakata uzoraka standardnih i rezistentnih sorti odnos prosečnog sadržaja fenola u pokožici i mezokarpi je veći nego kod autohtonih sorti (u uzorcima iz 2018. godine, redom: 7, 9 i 5 puta, a u uzorcima iz 2019. godine, redom: 60, 58 i 17 puta). U prikupljenim uzorcima lista ukupan sadržaj fenola izmeren je u opsegu od 17,7 g/kg do 88,6 g/kg osušenog lista u uzorcima iz 2018. godine i u opsegu od 73,8 g/kg do 121,2 g/kg u uzorcima iz 2019. godine (**Prilog 4**). U etanolnih ekstraktima sa područja Litvanije Liaudanskas i sar. navode rezultate određivanja ukupnih fenola Folin-Čikalteu esejem u opsegu od 98,8 mg/g ekv. galne kiseline u suvom listu jabuke sorte Auskis, do 163,3 mg/g GAE kod lista jabuke sorte Aldas, uz primenu 70% etanola kao ekstrakcionog sredstva³⁷. Nešto drugačije zapažanja imaju Lu i sar. koji navode koncentraciju od 56,7 g/kg GAE u uzorku lista jabuke, koji je ekstrahovan 75% etanolom¹⁴¹, a Rana i sar. navode 30,38 g/kg GAE u 70% etanolnim ekstraktima osušenog lista jabuke, dok u metanolnim ekstraktima zapažaju koncentraciju od 21,38 g/kg GAE¹⁴².

Tabela 15. Parametri deskriptivne statistike antioksidativne aktivnosti određene DPPH testom u ispitivanim uzorcima.

DPPH mmol/kg	Godina Sorte	2018			2019		
		Autohtone (n = 19)	Standardne (n = 5)	Rezistentne (n = 6)	Autohtone (n = 20)	Standardne (n = 5)	Rezistentne (n = 6)
Mezokarp	Sr. vrednost	19,77	16,97	14,77	9,45	9,04	8,39
	Medijana	18,46	18,63	16,32	9,44	9,28	8,16
	St. dev.	7,84	4,65	5,27	1,43	0,73	0,69
	Min. vred.	8,48	8,94	7,98	6,03	7,79	7,75
	Maks. vred.	45,52	20,97	19,73	11,91	9,64	9,58
Pokožica	Sr. vrednost	41,50	43,23	39,58	51,12	49,36	27,72
	Medijana	41,45	42,08	32,19	42,89	34,60	27,27
	St. dev.	4,99	11,24	14,60	27,41	36,31	4,99
	Min. vred.	29,51	29,34	26,28	23,48	23,56	21,84
	Maks. vred.	49,35	57,64	61,21	124,55	113,34	35,45
List	Sr. vrednost	155,94	182,10	174,49	166,54	210,85	221,26
	Medijana	152,23	187,45	172,60	162,28	208,96	222,74
	St. dev.	38,54	34,71	31,98	35,29	46,74	30,82
	Min. vred.	99,19	139,63	133,39	107,14	157,57	178,68
	Maks. vred.	232,37	224,93	214,81	281,75	262,65	260,24

Spoljni uslovi imaju izražen uticaj na sadržaj fenola i antioksidativnu aktivnost. Primera radi, pojava infekcije *V. inaequalis* može da poveća vrednosti koje se dobijaju Folin-Čikalteu esejem za 10 – 20% ¹⁴³. Viša temperatura i jače osvetljavanje dovode isto do povećanja koncentracije fenola ¹⁴⁴. Slično kao i u listu, *Drogoudi i sar.* opisuju višu koncentraciju ukupnih fenola u pokožici (i do 59%) kod jabuka prikupljenih sa pozicija osunčanih i viših u krošnji, pri ispitivanju sorti jabuke Imperial D.R.D., Fudži Kiku 8 i Greni Smit ¹⁴⁵. Držanje ploda tokom razvoja na tamnom (pomoću zaštitnih kesa) dovodi do značajnog smanjenja sinteze flavonoida i antocijanidina ¹⁴⁶.

Pri određivanju antioksidativne aktivnosti DPPH esejem, antioksidativna aktivnost ekstrakta mezokarpa je manja nego ekstrakta pokožice (**Tabela 15, Prilog 4**). Rezultat je u skladu sa zapažanjima kod ukupnog sadržaja fenola Folin-Čikalteu esejem i predstavlja epilog već prodiskutovanih uzroka kod pomenutih rezultata. Kod uzoraka mezokarpa najviša antioksidativna aktivnost je izmerena kod uzorka sorte Gružanjska letnja kolačara iz 2018. godine (45,52 mmol TE/kg FW), dok je kod kore najveća antioksidativna aktivnost je izmerena kod uzorka sorte Krtajka iz 2019. godine (124,5 mmol TE/kg).

U uzorcima lista najveća antioksidativna aktivnost je izmerena kod uzorka sorti Greni Smit, Prima i Kožara (262,6, 260,2 i 281,7 mmol TE/kg redom). Dobijene vrednosti su uporedive sa vrednostima koje su dobijene u slučaju mezokarpa. *Wojdylo i sar.* navode opseg od 150 do 161 mmol TE/kg uzorka suvog lista, pro različitim fazama razvoja tokom vegetacije (60, 80, 130, 145 dana nakon cvetanja) ³⁸. U ispitivanim uzorcima lista dobijeni rezultati su u opsegu od 99 do 262 mmol TE/kg uzorka suvog lista, sa nižim prosečnim i medijalnim vrednostima u 2018. godini u poređenju sa 2019. godinom (**Tabela 15**).

4.5. Analiza sadržaja pojedinačnih fenola

Kvantifikacija fenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima mezokarpa i pokožice ploda, kao i lista jabuke, obavljena je uz primenu UPLC-DAD-MS/MS tehnike. Kvantifikovano je sedam fenolnih kiselina i derivata, dva kalkona (floretin i floretin-2'-*O*-glukozid, odnosno florizin) i 14 flavonoida i njihovih glikozida (**Tabela 16, Tabela 18, Tabela 19, Prilog 4**).

U poređenju sa drugim jedinjenjima u mezokarpu, 5-*O*-kofeoilkiniska kiselina je prisutna u najvećoj koncentraciji u svim ekstraktima mezokarpa. Prosečni sadržaj 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline je u uzorcima mezokarpa autohtonih sorti veći u poređenju sa ostale dve grupe sorti u obe godine uzorkovanja. U ekstraktima uzoraka mezokarpa u relativno velikoj koncentraciji prisutni su florizin, kofeinska kiselina, kvercetin-3-*O*-ramnozid i kvercetin-3-*O*-glukozid, u poređenju sa drugim ispitivanim jedinjenjima (**Tabela 16**). U poređenju sa standardnim sortama, novije kao i rezistentne sorte jabuka treba da pokazuju manju tendenciju tamnjenja mezokarpa nakon sečenja. Slabije tamnjenje je posledica slabije aktivnosti polifenol-oksidade, kao i prisustva relativno manje količine 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline i drugih fenolnih jedinjenja^{6,147}. Prema rezultatima Kschonsek i sar., očekivana je manja koncentracija 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline kod standardnih sorti, kao što su Zlatni delišes, Greni Smit i Jonagold (do 8,6 mg/kg). Prema rezultatima Marks i sar., plod slađih sorti jabuke, kao što je Zlatni delišes, treba da ima manji sadržaj fenolnih jedinjenja u poređenju sa sortama koje su kisele i opore¹⁴⁸. Najveća koncentracija 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline je detektovana kod uzorka sorte Kopaoničanka iz 2018. godine (212 mg/kg svežeg uzorka meozokarpa). Najveća koncentracija 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline u uzorcima iz 2019. godine izmerena je kod sorte Gružanjska letnja kolačara (42 mg/kg), takođe kod autohtone sorte, koja je uzorcima iz 2018. godine imala drugu najvišu koncentraciju među svim uzorcima ekstrakta mezokarpa (207 mg/kg). Kod rezistentnih sorti najviša koncentracija 5-*O*-kofeoilkiniske kiseline je u ekstraktu sorte Prima (134 mg/kg), a kod standardnih sorti, najveća koncentracija je kod sorte Ajdared (68 mg/kg). Najniža koncentracija 5-*O*-kafeoilkiniske kiseline je u uzorku sorte Remura iz 2019. godine (0,48 mg/kg svežeg uzorka).

Najveća prosečna vrednost koncentracije florizina određena je kod autohtonih sorti (**Tabela 16**), u uzorcima iz 2018. godine florizin je detektovan u opsegu od 1,76–9,00 mg/kg svežeg uzorka, dok je u uzorcima iz 2019. godine u opsegu od 1,06 – 5,93 mg/kg. Kod ostalih sorti florizin je određen u nižim opsezima, kod rezistentih u opsegu 0,34 – 3,87 mg/kg i 0,11 – 1,14 mg/kg svežeg mezokarpa u 2018. i 2019. godini redom. Kod standardnih sorti upseg u 2018. godini je bio 0,46 – 2,87 mg/kg, dok je u kod uzoraka iz 2019. godine nešto uži opseg, od 0,55 – 0,96 mg/kg svežeg mezokarpa. Najviša koncentracija florizina je izmerena kod sorti Jesenje jablan i Demirka (redom: 9,00 i 8,42 mg/kg, uzorci iz 2019. godine), dok je najniža koncentracija kod rezistente sorte Remura (0,34 mg/kg u 2018. i 0,11 mg/kg u 2019. godini). Florizin je u zavisnosti od sorti i geografskog porekla opisan u različitim opsezima u mezokarpu jabuke. *Jakobek i Barron* navode u opsegu od 9,2 – 51,2 mg/kg u uzorcima autohtonih sorti sa područja Hrvatske⁶, *Šavikin i sar.* navode u opsegu od 0,3 – 2,3 mg/kg u uzorcima četiri autohtone sorte iz Srbije⁸, a *Preti i sar.* navode opseg od 0,9 – 51,7 mg/kg u uzorcima autohtonih i komercijalnih sorti iz Italije, pri čemu su koncentracije preko 5 mg/kg samo u slučajevima uzoraka autohtonih sorti koje su bile predmet njihove studije¹³².

Najzastupljeniji flavonol u svim ekstraktima mezokarpa je kvercetin-3-*O*-ramnozid. Najveća koncentracija ovog jedinjenja kvantifikovana je u uzorku mezokarpa sorte Jesenje jablan (2018. god. 5,19 mg/kg, i 2019. godine 1,04 mg/kg svežeg uzorka). U rezultatima studije *Marks i sar.* kvercetin-3-*O*-ramnozid je takođe dominantan flavonol u mezokarpu jabuke, dok u studiji *Šavikin i sar.* nije prisutan u najvišoj koncentraciji u svim ispitivanim uzorcima mezokarpa jabuke⁸.

Tabela 16. Prosečne vrednosti koncentracija ispitivanih fenola u grupama uzoraka i njihove standardne devijacije

Tkivo	Godina i tip sorte	Jedinjenje (mg/kg)						
		5CQA	CA	Flt	P2Glu	Que	Q3Rut	Q3Glu
Mezokarp	A2018	141,71±52,37	0,52±0,20	0,08±0,03	4,53±2,15	0,29±0,21	0,09±0,16	1,22±1,43
	S2018	39,68±23,20	0,15±0,10	0,05±0,01	1,83±0,98	0,13±0,05	0,01±0,02	0,5±0,3
	R2018	44,57±45,06	0,16±0,17	0,05±0,01	1,18±1,31	0,11±0,08	0,02±0,03	0,93±0,72
	A2019	20,36±8,56	0,98±0,04	0,15±0,07	2,67±1,41	1,69±0,06	0,08±0,05	0,48±0,24
	S2019	4,23±1,83	1,02±0,02	0,05±0,02	0,78±0,19	1,75±0,04	0,06±0,02	0,42±0,31
	R2019	5,31±3,80	0,98±0,04	0,05±0,02	0,48±0,37	1,68±0,06	0,04±0,02	0,21±0,04
Pokožica	A2018	258,21±151,33	0,99±0,5	0,59±0,38	32,35±13,48	25,07±9,9	7,74±6,8	39,37±17,02
	S2018	34,72±37,2	0,15±0,14	0,15±0,05	15,91±7,25	27,25±3,66	5,15±4,78	51,49±10,57
	R2018	51,73±77,54	0,23±0,31	0,11±0,05	7,15±4,54	20,77±8,29	3,77±1,67	41,72±10,89
	A2019	70,69±43,03	0,57±0,4	1,36±1,04	29,54±13,76	43,59±27,47	65,03±54,93	155,56±49,8
	S2019	54,14±56,39	0,26±0,21	0,61±0,32	21,64±14,57	34,96±13,79	33,19±17,47	142,1±21,17
	R2019	27,26±18,8	0,27±0,13	0,26±0,19	6,35±4,09	38,58±29,09	29,41±18,2	151,55±67,42
List	A2018	118,64±46,79	2,57±1,26	251,27±118,90	227,95±18,72	25,65±7,54	103,43±46,44	327±52,11
	S2018	69,19±15,65	2,27±0,68	139,87±109,86	222,52±24,71	27,55±6,18	90,93±27,52	355±29
	R2018	81,37±17,12	2,05±0,59	266,84±130,96	214,15±11,26	29,89±11,16	81,47±19,29	331±29,12
	A2019	163,34±60,02	1,28±0,74	231,98±94,16	259,71±14,28	13,01±4,26	126,57±51,93	323,62±39,82
	S2019	82,29±21,74	1,80±0,65	119,55±51,64	240,04±11,59	21,65±4,34	114,35±30,39	361,89±31,14
	R2019	76,97±19,97	2,44±1,12	284,29±210,07	235,7±5,47	22,20±7,28	107,72±27,15	355,51±29,79

Tabela 16. Nastavak tabele.

Tkivo	Godina i tip sorte	Jedinjenje (mg/kg)						
		Q3Rha	I3Glu	Kfr	Nar	PrA	pBA	Cat
Mezokarp	A2018	1,62±1,4	1,01±0,87	0,55±0,02	0,56±0,02	0,59±0,02	0,39±0,01	17,44±12,61
	S2018	1,62±1,08	0,37±0,71	0,54±0,01	0,55±0,01	0,59±0,01	0,39±0,01	11,92±13,46
	R2018	1,58±1,35	0,86±0,91	0,55±0,01	0,56±0,01	0,6±0,01	0,39±0,01	6,16±4,8
	A2019	0,4±0,32	0,05±0,03	1,02±0,04	1,04±0,04	1,11±0,04	0,73±0,03	1,35±0,05
	S2019	0,61±0,45	0,04±0,03	1,06±0,03	1,08±0,03	1,15±0,03	0,75±0,02	1,39±0,03
	R2019	0,3±0,2	0,01±0,01	1,02±0,04	1,03±0,04	1,1±0,04	0,72±0,03	1,34±0,05
Pokožica	A2018	18,24±5,11	0,88±1,24	0,32±0,2	0,12±0,16	0,67±0,18	0,16±0,1	55,95±25,65
	S2018	29,43±5,52	1,16±1,22	0,19±0,06	0,07±0,04	0,59±0,15	0,11±0,06	29,69±8,01
	R2018	39,46±21,32	0,7±0,93	0,31±0,23	0,14±0,22	0,78±0,22	0,1±0,05	23,22±13,79
	A2019	41,61±21,17	19,57±16,76	0,9±0,32	0,38±0,23	1,49±0,03	0,98±0,02	1,8±0,03
	S2019	37,85±10,76	15,21±6,75	0,7±0,15	0,2±0,08	1,44±0,05	0,95±0,04	1,75±0,06
	R2019	93,85±41,7	21,59±16	0,93±0,37	0,12±0,07	1,47±0,04	0,97±0,03	1,78±0,04
List	A2018	183,95±49,69	6,42±0,2	2,05±0,74	44,12±21,65	7,07±2,48	1,89±0,76	2,75±0,09
	S2018	222,19±30,62	6,47±0,15	2,43±0,65	23,7±19,14	4,31±1,54	0,75±0,33	2,78±0,07
	R2018	250,22±48,53	6,45±0,27	3,12±0,89	47,33±23,82	5,68±0,7	1,09±0,77	2,77±0,12
	A2019	180,25±45,29	6,45±0,23	1,4±0,43	41,21±16,99	4,03±1,29	1,42±0,71	2,77±0,1
	S2019	205,24±25,18	6,25±0,24	1,55±0,45	21,35±9,49	2,31±0,79	0,39±0,31	2,68±0,11
	R2019	253,2±53,61	6,52±0,17	1,97±0,5	49,99±36,4	2,59±0,41	0,5±0,53	2,8±0,08

Tabela 16. Nastavak tabele.

Tkivo	Godina i tip sorte	Jedinjenje (mg/kg)						
		I3Rut	FA	K7Glu	App	Lut	Edi	GA
Mezokarp	A2018	0,47±0,02	0,11±0,21	0,49±0,25	0,40±0,01	0,33±0,01	0,6±0,02	0,48±0,02
	S2018	0,46±0,01	0,54±0,30	0,36±0,14	0,40±0,01	0,33±0,01	0,59±0,01	0,48±0,01
	R2018	0,47±0,01	0,24±0,34	0,37±0,26	0,41±0,01	0,33±0,01	0,60±0,01	0,48±0,01
	A2019	0,88±0,03	1,26±0,05	1,21±0,05	0,76±0,03	0,62±0,03	1,12±0,04	0,90±0,04
	S2019	0,90±0,02	1,30±0,03	1,25±0,03	0,78±0,02	0,64±0,02	1,16±0,03	0,93±0,02
	R2019	0,87±0,03	1,25±0,05	1,20±0,04	0,75±0,03	0,62±0,03	1,11±0,04	0,90±0,03
Pokožica	A2018	0,36±0,19	0,24±0,20	2,91±2,83	0,41±0,01	0,34±0,01	0,61±0,01	0,49±0,01
	S2018	0,22±0,13	0,29±0,36	2,68±2,24	0,41±0,01	0,34±0,01	0,6±0,01	0,49±0,01
	R2018	0,47±0,47	0,05±0,02	2,38±1,84	0,50±0,23	0,41±0,19	0,74±0,33	0,60±0,27
	A2019	1,17±0,02	1,69±0,03	1,62±0,03	0,33±0,42	0,83±0,02	0,11±0,07	1,21±0,02
	S2019	1,14±0,04	1,64±0,06	1,57±0,06	0,27±0,42	0,81±0,03	0,08±0,03	1,17±0,04
	R2019	1,16±0,03	1,67±0,04	1,60±0,04	0,21±0,38	0,82±0,02	0,08±0,05	1,20±0,03
List	A2018	1,79±0,06	2,58±0,08	2,47±0,08	0,2±0,07	2,7±1,26	2,29±0,08	0,90±0,53
	S2018	1,80±0,05	2,60±0,06	2,49±0,06	0,15±0,05	2,26±0,54	2,31±0,06	0,48±0,31
	R2018	1,80±0,08	2,60±0,11	2,49±0,11	0,28±0,13	4,41±1,33	2,30±0,10	0,67±0,20
	A2019	1,80±0,07	2,60±0,10	2,48±0,09	0,13±0,04	1,50±0,76	2,30±0,08	0,48±0,19
	S2019	1,74±0,07	2,51±0,10	2,41±0,10	0,10±0,02	1,91±0,17	2,23±0,09	0,18±0,07
	R2019	1,82±0,05	2,62±0,07	2,51±0,07	0,22±0,12	3,85±1,34	2,33±0,06	0,21±0,10

U ekstraktima pokožice dominantna jedinjenja su kvercetin-3-*O*-glukozid, kvercetin-3-*O*-ramnozid, rutin (kvercetin-3-*O*-rutinozid), floretin i 5-*O*-kofeoilkininska kiselina, koji su izmereni u većim količinama u pokožici nego u mezokarpu ploda ispitivanih jabuka. Pomenuta jedinjenja Cebulj i sar. navode u većim količinama u pokožici jabuke nego u mezokarpu. U pomenutoj studiji je istaknut uticaj osunčanosti na sadržaj više glikozida kvercetina u pokožici. Većina ispitivanih jedinjenja je opisana u 3 – 5 puta većoj količini u osunčanom delu pokožice nego u delu pokožice koji nije direktno izložen suncu sorte Ajdared¹⁰⁷. *Lata i sar.* su razmatrali doprinos pokožice sadržaju fenola kompletnog ploda jabuke tako što su uporedili sadržaj fenola pokožici i ostatku ploda. Za hlorogenu kiselinu i epikatehin je opisan manji doprinos pokožice, čak je odnos sadržaja u pokožici i celom plodu za 5-*O*-kofeoilkininsku kiselinu kod mnogih ispitivanih sorti ispod 1 (stoga je u većoj koncentraciji u jedinici mase mezokarpa nego pokožice). Drugačija situacija je opisana za rutin i florizin, gde je 3 – 13 puta veći sadržaj rutina u pokožici u odnosu na ceo plod, kao i 4 – 9 puta veći sadržaj florizina u pokožici¹³⁸. Rezultati u radu *Jakobek i Barron* ukazuju na veći sadržaj epikatehina u pokožici nego u mezokarpu, a kod većine uzoraka koji su bili predmet ispitivanja opisuje takođe veće količine 5-*O*-kofeoilkininske kiseline u mezokarpu i veće količine glikozida kvercetina u pokožici⁶.

Najveća koncentracija 5-*O*-kofeoilkininske kiseline je izmerena kod sorte Gružanjska letnja kolačara (557 mg/kg FW) iz 2018. godine. Kod uzorka pomenute sorte iz sledeće godine ponovo je izmerena srazmerno velika koncentracija 5-*O*-kofeoilkininske kiseline, koja je veća od medijalne vrednosti u grupi uzoraka. Kod ove sorte je izmerena najviša koncentracija rutina (230 mg/kg svežeg uzorka) i kvercetin-3-*O*-glukozida (32,31 mg/kg) u poređenju sa ostalim uzorcima pokožice. U uzorcima pokožice jabuka sorti Gružanjske letnje kolačare, Pamuklije, Demirke i Kadumane prikupljenim 2018. godine koncentracija 5-*O*-kofeoilkininske kiseline iznosila je preko 400 mg/kg sveže mase, dok je u ostalim sortama bila u rasponu od 24,7 mg/kg do 326,4 mg/kg. U narednoj godini su uzorci pomenute četiri sorte ponovo imali relativno visoke koncentracije 5-*O*-kofeoilkininske kiseline (preko 135 mg/kg).

U uzorcima lista u najvećoj količini je prisutan floretin, sa najvećom izmerenom količinom u uzorku sorte Jesenji jablan (655 mg/kg osušenog uzorka lista, 2018. god. i 597 mg/kg 2019. godine). Kod sorte Vilijems prajd detektovana je najveća koncentracija kvercetin-3-*O*-glukozida u poređenju sa ostalim rezistentnim sortama. Kvercetin-3-*O*-glukozid je izmeren u koncentracijama preko 200 mg/kg osušenog lista kod većine ekstrakta uzoraka lista. Kod autohtonih sorti primetan je širok opseg koncentracije floretina. U uzorku sorte Kadumana, detektovano je 655 mg/kg floretina u suvoj masi lista, dok je kod Šećeruše izmereno 85 mg/kg, što je skoro osam puta manja količina od najviše u setu uzoraka iz 2018. godine. Najmanja količina floretina kvantifikovana je u uzorcima lista sorte Greni smit (38,8 i 51,7 mg/kg osušenog lista 2018. i 2019. godine, redom), a kod pomenute sorte detektovana je najveća količina kvercetin-3-*O*-ramnozida u obe godine u setu podataka standardnih sorti (254 i 244 mg/kg osušenog lista 2018. i 2019. godine, redom).

Analiza glavnih komponenti je izvedena na tri zasebne matrice podataka koje se odnose na zasebna tkiva ispitivanih sorti prikupljenih tokom dve godine. Matrice su formirane na osnovu 25 varijabli koje predstavljaju vrednosti kvantifikacije pojedinačnih fenola (23 jedinjenja) i vrednosti dobijene spektrofotometrijskim esejima (TPC i RSA, koji se u literaturi najčešće dovode u vezi sa sadržajem fenola u uzorcima). Broj varijabli svake matrice dat je u **tabeli 17**, kao varijabilitet na koji se odnose značajne komponente. Svi podaci su pre analize skalirani i centrirani na jediničnu standardnu devijaciju.

Tabela 17. Broj varijabli ispitivanih matrica u okviru PCA, i objašnjeni varijabilitet

Tkivo	Mezokarp		Pokožica		List	
Broj uzoraka	61		61		62	
Broja varijabli	1525		1525		1550	
Komponenta	Var. ¹ (%)	E.V. ²	Var. (%)	E.V.	Var. (%)	E.V.
PC1	63,33	15,83	48,74	12,18	29,27	7,32
PC2	13,44	3,36	12,56	3,14	20,12	5,03
PC3	5,75	1,44	6,65	1,66	12,66	3,16
PC4	4,86	1,22	6,28	1,57	11,42	2,86
PC5	4,07	1,02	4,68	1,17	8,62	2,16
PC6 ³	2,18	0,55	3,74	0,93	4,27	1,07
Ukupan var. (%)	91,44		78,90		82,10	

1 – varijabilitet

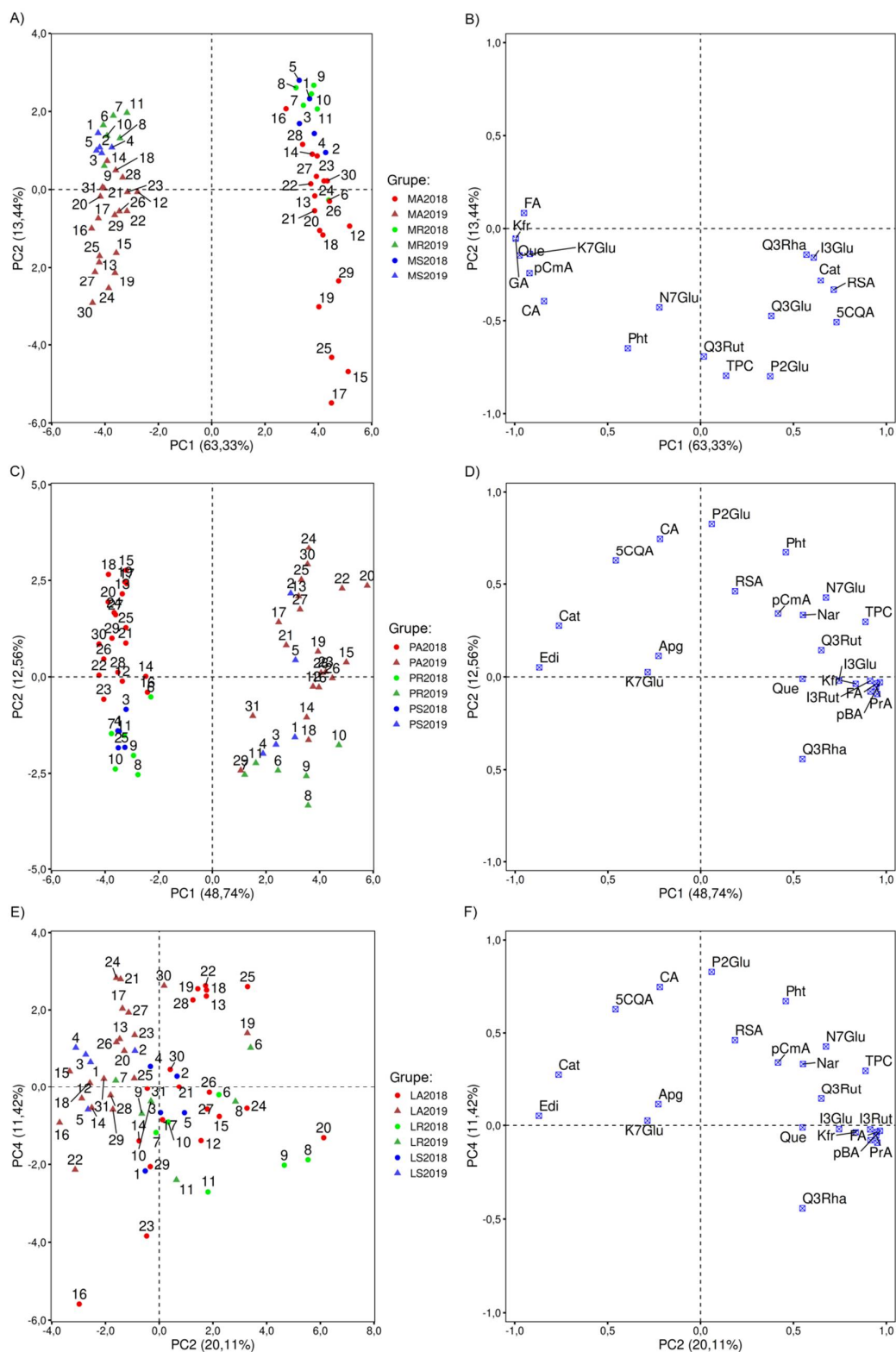
2 – Eigen vrednost

3 – PC6 ne doprinosi značajno kod mezokarpa i pokožice

PCA kod uzoraka mezokarpa i pokožice rezultuju modelima od pet komponenti (**Tabela 17**) koje kumulativno opisuju 91,44% varijabiliteta kod mezokarpa, a kod pokožice 78,90% varijabiliteta. Prema Kajzerovom pravilu kod obe grupe uzoraka šesta glavna komponenta (PC6) i sve sledeće mogu da se zanemare. Kod uzoraka lista dobijeni model opisuje 82,10% varijabiliteta i čini ga šest komponenti. Za razliku od PCA kod mezokarpa i pokožice, kod lista sedma komponenta (PC7) može da se zanemari (eigen vrednost: 0,81).

Posmatrajući PCA skorove, kod uzoraka mezokarpa i pokožice dolazi do jasnog razdvajanja, kao i fromiranje dve grupe uzoraka duž PC1 ose u zavisnosti od godine proizvodnje. PC1 osa kod uzoraka mezokarpa (**Slika 13a i b**) obuhvata 63,33% varijabiliteta, a kod pokožice obuhvata 48,74% varijabiliteta (**Slika 13c i d**). Na osnovu grafika loadingova uočava se da kod oba tkiva katehin (Cat) i 5-*O*-kofeoilkininska kiselina (5CQA) predstavljaju potencijalno dominantne fitokomponente karakteristične za uzorke iz 2018. godine. Kod ostalih ispitivanih jedinjenja se ne mogu primetiti tako jasne diskriminantne tendencije i u mezokarpu i u pokožici, posmatrajući različite godine. PC2 osa kod mezokarpa obuhvata 13,48% varijabiliteta, a kod pokožice 12,56%. Uočava se kod oba tkiva da dolazi do raspodele uzoraka duž PC2 komponente u zavisnosti od tipa sorte. Prema graphicima je primetno da kod oba tkiva i obe godine autohtone sorte karakteriše veći broj ispitivanih fenolnih jedinjenja i njihova veća koncentracija je i očekivana.

Kod uzoraka lista (**Slika 13e i f**), razdvajanje prema godini je postignuto duž PC2 ose koja obuhvata 20,11% varijabiliteta. Vidljivo grupisanje sorti je duž PC4 ose koja obuhvata 11,42% varijabiliteta. Prema PCA, autohtone sorte karakterišu ispitivane ispitivane fenolne kiseline, kvercetin-3-*O*-glukozid (5CQA), rutin (Q3Rut), florizin (P2Glu) i sadržaj ukupnih fenola prema Folin-Čikalteu esaju (TPC).



Slika 13. Analiza glavnih komponenta, grafici skorova (a, c, i e) i latentnih varijabli (b, d i f), dobijenih obradom podataka iz tri različita tkiva (a i b, mezokarp, c i d, pokožica, e i f list). Tipovi sorti: A – autohtone sorte, R – rezistentne i S – standardne sorte. Tipovi tkiva: M – mezokarp, P – pokožica, L – list. Skraćenice naziva jedinjenja u grafiku latentnih varijabli date su u **Tabeli 5**.

Kako bi se ispitao uticaj pojedinih faktora (tip sorte, godina uzgoja i sl.) na sadržaj fenolnih jedinjenja i ustanovile statistički značajne razlikame među pomenutim grupama uzoraka primenjena je MANOVA. Kao zavisne varijable korišćene su koncentracije ispitivanih fenola. Kao kategoričke varijable definisane su tip sorte, godine uzorkovanja i vrsta tkiva. Model je postavljen tako da podrazumeva tri tipa sorti $\times$ tri tipa tkiva $\times$ dve godine proizvodnje, pri čemu je u okviru svake kategorije mereno 25 varijabli (23 pojedinačnih jedinjenja, vrednosti TPC, i RSA). Upotrebljen je model u kome je procenjen uticaj faktora (F_1 – F_3) na sadržaj fenola u uzorcima. Shodno tome, formirana je matrica sa 4600 podataka za vrednosti koncentracija fenola za MANOVA proračune. Postavljen je MANOVA model koji uključuje odsečak, jednostavne linearne i interakcijske termine do trećeg reda. Model je predstavljen prema sledećem obrascu:

$$Y_b = b_0 + b_1F_1 + b_2F_2 + b_3F_3 + b_{12}F_1F_2 + b_{13}F_1F_3 + b_{23}F_2F_3 + b_{123}F_1F_2F_3$$

gde je:

Y_b – koncentracija fenolnih jedinjenja

F_1 – opisuje uticaj tri tipa tkiva (mezokarp, pokožica i list)

F_2 – opisuje razliku između tipa sorti (autohtone, standardne i rezistentne)

F_3 – opisuje dve različite godine proizvodnje (2018. ili 2019. godina).

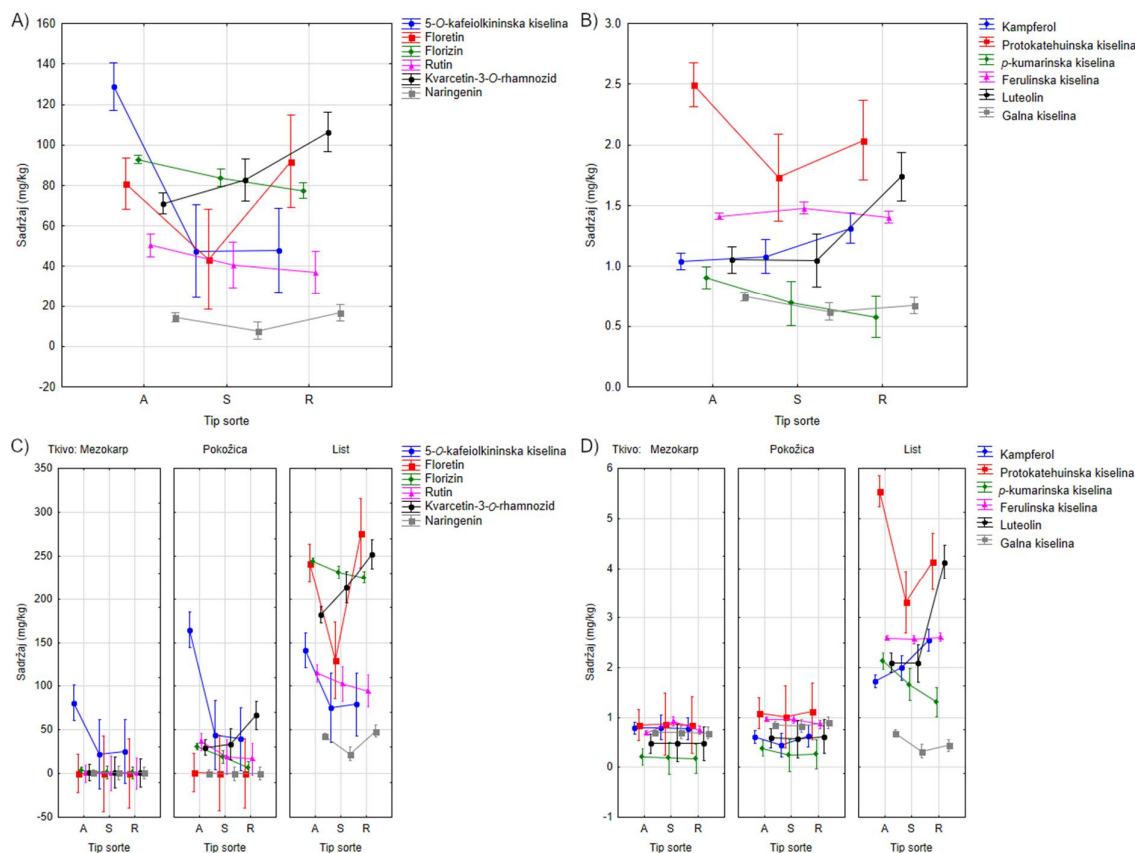
Ispitivana jedinjenja su podeljena u makro-komponente i mikro-komponente, u zavisnosti od toga da li je njihova prosečna koncentracija veća ili manja od 10 mg/kg. Univarijantni testovi značaja faktora makro komponenata (5-*O*-kofeoilkininska kiselina, floretin, florizin, rutin, kvercetin-3-*O*-ramnozid i naringenin) prikazani su u **Tabela 18**. Univarijantni testovi značajnosti faktorskih efekata mikro komponenata (kampferol, protokatehuinska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, luteolin i galna kiselina) prikazani su u **Tabela 19**.

U skladu sa vidljivim razlikama u rezultatima, kao i ranije pomenutim rezultatima iz literature^{107,134,138}, očekivana je razlika koncentracija ispitivanih jedinjenja u različitim tkivima. Primarni zadatak MANOVA je da se odredi uticaj tipa sorte, uticaj godine uzorkovanja i njihove kombinacije. Sadržaj ukupnih fenola i antioksidativna aktivnost su pokazali statistički značajnu razliku između vrste tkiva - mezokarp, pokožica i list. Razmatrajući uticaj tipa sorte, visoke koncentracije 5-*O*-kofeoilkininske kiseline i *p*-kumarinske kiseline su karakteristične za autohtone sorte. Niska koncentracija floretina i protokatehuinske kiseline je karakteristična za standardne sorte. Visoke koncentracije kvercetin-3-*O*-ramnozida, luteolina i kampferola su karakteristične za rezistentne sorte (**Slika 14**).

Kod kombinovanog efekta tipa sorte i vrste tkiva u slučaju ispitivanih uzoraka mezokarpa postoji razika u sadržaju 5-*O*-kofeoilkininske kiseline između autohtonih i ostalih ispitivanih sorti. Prema ranije opisanim rezultatima, očekivana je zastupljenost 5-*O*-kofeoilkininske kiseline i glikozida kvercetina^{8,107,149}. U mezokarpu rezistentnih sorti jabuke izmerena je manja koncentracija 5-*O*-kofeoilkininske kiseline i florizina u poređenju sa autohtonim sortama. Studija *Belvisa i sar.* sugerise da sadržaj 5-*O*-kofeoilkininske kiseline i florizina može značajno da se menja u zavisnosti od godine prikupljanja¹⁵⁰. Godina prikupljanja je imala statistički značajan uticaj na sadržaj pomenutih jedinjenja (**Tabela 18**).

Prema uticaju faktora MANOVA u pokožici autohtonih sorti je veći sadržaj 5-*O*-kafeoilkiniske kiseline u poređenju i sa standardnim i sa rezistentnim sortama, dok je u autohtonim sortama utvrđena statistički značajno veća koncentracija florizina u poređenju sa rezistentnim sortama. Kod rezistentnih sorti primetna je veća koncentracija kvercetin-3-*O*-ramnozida i rutina, u poređenju sa autohtonim i standardnim sortama (**Tabela 16, Slika 14**). U radu Mikulič Petkovšek i sar. prilikom ispitivanja zdrave pokožice ploda jabuke i pokožice inficiranom *V. inaequalis* opisana je veća koncentracija hlorogene kiseline, kvercetin-3-*O*-ramnozida, rutina u inficiranom i graničnom tkivu u poređenju sa zdravom pokožicom¹⁵¹. Studija Slatnar i sar. ukazuje na veće koncentracije florizina i 5-*O*-kafeoilkiniske kiseline u pokožici jabuka koje su pod uticajem infekcije čađave krastavosti (*Venturia inaequalis*)¹⁵².

Koncentracija 5-*O*-kafeoilkiniske kiseline veća je u ekstraktima lista autohtonih sorti u poređenju sa ostalim ispitivanim sortama. Florizin, naringenin, protokatehuinska, *p*-kumarinska, i galna kiselina kvantifikovane su u većim koncentracijama u ekstraktima lista autohtonih sorti jabuka. Koncentracije floretina i naringenina u standardnim sortama su generalno manje u poređenju sa autohtonim i rezistentnim sortama. Prema studiji De Paepe i sar. prisustvo floretina se vezuje sa rezistencijom prema *V. inaequalis*¹⁵³. Floretin (aglikon florizina) se smatra aktivnom supstancom u odbrani od *V. inaequalis*¹⁵². Primetna je niza prosečna koncentracija naringenina u uzorcima lišća standardnih sorti u poređenju sa autohtonim i rezistentnim sortama. Statistički značajna razlika između svih grupa sorti postoji kod sadržaja kvercetin-3-*O*-ramnozida. Koncentracija luteolina i kempferola je u višem opsegu kod autohtonih sorti u poređenju sa ostalim analiziranim grupama sorti (**Slika 14**).



Slika 14. Uticaj faktora MANOVA na sadržaj fenola u uzorcima različitih tkiva jabuke. A) i B) nezavisno od tipa tkiva, C) i D) sva ispitivana tkiva zasebno. A – autohtone, S – standardne, R – rezistentne sorte.

Tabela 18. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj fenola (makrokomponente). Faktori: F1 – tip analiziranog tkiva, F2 – tip sorte (autohtone, standardne ili rezistentne), F3 – godina proizvodnje (2018. ili 2019. godina).

Faktor	DF	5- <i>O</i> -kofeoilkininska kiselina				Floretin				Florizin				Naringenin			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	721442	721442	176,92	<0,001*	671792	671792	138,98	<0,001*	927691	927691	6834,68	<0,001*	21776	21776	141	<0,001*
F ₁	2	71823	35911	8,81	<0,001*	1334096	667048	138,00	<0,001*	1436569	718284	5291,89	<0,001*	40385	20192	130	<0,001*
F ₂	2	278880	139440	34,19	<0,001*	43735	21867	4,52	0,012*	7188	3594	26,48	<0,001*	1408	704	4,55	0,012*
F ₃	1	44856	44856	11,00	<0,001*	171,45	171	0,035	0,851	1918	1918	14,13	<0,001*	0,226	0,226	0,00	0,969
F ₁ × F ₂	4	36913	9228	2,26	0,065	87107	21777	4,50	0,002*	2474	618	4,56	0,002*	2806	701	4,54	0,002*
F ₁ × F ₃	2	49047	24523	6,01	<0,001*	420,37	210	0,04	0,957	4113	2056	15,15	<0,001*	10,7	5,34	0,03	0,966
F ₂ × F ₃	2	61802	30901	7,58	<0,001*	1063	531	0,11	0,896	45	22	0,17	0,846	21,8	10,9	0,07	0,932
F ₁ × F ₂ × F ₃	4	90284	22571	5,54	<0,001*	2236	559	0,12	0,977	638	159	1,18	0,323	51,2	12,8	0,08	0,988

Faktor	DF	Rutin				Kvercetin-3- <i>O</i> -ramnozirid				Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid				Kvercetin			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	236066	236066	236,66	<0,001*	973440	973440	1163,44	<0,001*	2781447	2781447	2630	<0,001*	45014	45014	311,0	<0,001*
F ₁	2	256056	128028	128,35	<0,001*	1117315	558657	667,70	<0,001*	2679298	1339649	1266	<0,001*	21784	10892	75,25	<0,001*
F ₂	2	6105	3052	3,06	0,050*	34919	17459	20,87	<0,001*	3056	1528	1,45	0,239	18,4	9,18	0,06	0,939
F ₃	1	13487	13487	13,52	<0,001*	1686	1686	2,01	0,158	46937	46937	44,39	<0,001*	200	200	1,38	0,241
F ₁ × F ₂	4	3128	782	0,78	0,537	24235	6058	7,24	<0,001*	6876	1719	1,63	0,170	749	187	1,29	0,275
F ₁ × F ₃	2	7595	3797	3,81	0,024*	7593	3796	4,54	0,012*	73995	36997	34,99	<0,001*	2973	1486	10,27	<0,001*
F ₂ × F ₃	2	967	483	0,49	0,617	2029	1014	1,21	0,300	628	314	0,30	0,743	31,6	15,8	0,11	0,897
F ₁ × F ₂ × F ₃	4	2352	588	0,59	0,671	1775	443	0,53	0,713	2525	631	0,60	0,665	329	82,3	0,57	0,686

Tabela 19. Univarijantni test značajnosti uticaja faktorskih efekata na sadržaj fenola (mikrokomponente). Faktori: F1 – tip analiziranog tkiva, F2 – tip sorte (autohtone, standardne ili rezistentne), F3 – godina proizvodnje (2018. ili 2019. godina).

Faktor	DF	p-kumarinska kiselina				Protokatehuinska kiselina				Kofeinska kiselina				Ferulinska kiselina			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	67,86	67,86	258,70	<0,001*	564,05	564,05	571,60	<0,001*	139,29	139,29	380,14	<0,001*	265,75	265,75	13086,95	<0,001*
F ₁	2	61,25	30,63	116,76	<0,001*	326,88	163,44	165,62	<0,001*	69,83	34,91	95,29	<0,001*	86,45	43,23	2128,68	<0,001*
F ₂	2	3,48	1,74	6,63	0,002*	16,49	8,24	8,35	<0,001*	1,27	0,64	1,73	0,180	0,13	0,06	3,09	0,048*
F ₃	1	0,03	0,03	0,12	0,730	7,05	7,05	7,15	0,008*	0,10	0,10	0,28	0,599	21,29	21,29	1048,42	<0,001*
F ₁ × F ₂	4	3,67	0,92	3,49	0,009*	32,37	8,09	8,20	<0,001*	4,44	1,11	3,03	0,019*	0,43	0,11	5,32	<0,001*
F ₁ × F ₃	2	6,20	3,10	11,82	<0,001*	82,05	41,02	41,57	<0,001*	7,74	3,87	10,56	<0,001*	12,43	6,22	306,09	<0,001*
F ₂ × F ₃	2	0,26	0,13	0,50	0,604	0,95	0,48	0,48	0,617	5,65	2,82	7,71	<0,001*	0,26	0,13	6,34	0,002*
F ₁ × F ₂ × F ₃	4	0,12	0,03	0,11	0,977	1,40	0,35	0,35	0,841	2,56	0,64	1,75	0,142	0,19	0,05	2,28	0,063

Faktor	DF	Galna kiselina				Luteolin				Apigenin				Eriodiktioi			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	59,81	59,81	1415,50	<0,001*	211,86	211,86	588,07	<0,001*	265,75	265,75	13086,95	<0,001*	59,81	59,81	1415,50	<0,001*
F ₁	2	3,06	1,53	36,18	<0,001*	144,00	72,00	199,85	<0,001*	86,45	43,23	2128,68	<0,001*	3,06	1,53	36,18	<0,001*
F ₂	2	0,41	0,21	4,89	0,009*	13,68	6,84	18,99	<0,001*	0,13	0,06	3,09	0,048*	0,41	0,21	4,89	0,009*
F ₃	1	1,77	1,77	41,83	<0,001*	0,01	0,01	0,03	0,863	21,29	21,29	1048,42	<0,001*	1,77	1,77	41,83	<0,001*
F ₁ × F ₂	4	0,95	0,24	5,63	<0,001*	26,20	6,55	18,18	<0,001*	0,43	0,11	5,32	<0,001*	0,95	0,24	5,63	<0,001*
F ₁ × F ₃	2	6,74	3,37	79,76	<0,001*	8,50	4,25	11,79	<0,001*	12,43	6,22	306,09	<0,001*	6,74	3,37	79,76	<0,001*
F ₂ × F ₃	2	0,04	0,02	0,47	0,627	0,59	0,30	0,82	0,441	0,26	0,13	6,34	0,002*	0,04	0,02	0,47	0,627
F ₁ × F ₂ × F ₃	4	0,04	0,01	0,21	0,933	1,39	0,35	0,96	0,430	0,19	0,05	2,28	0,063	0,04	0,01	0,21	0,933

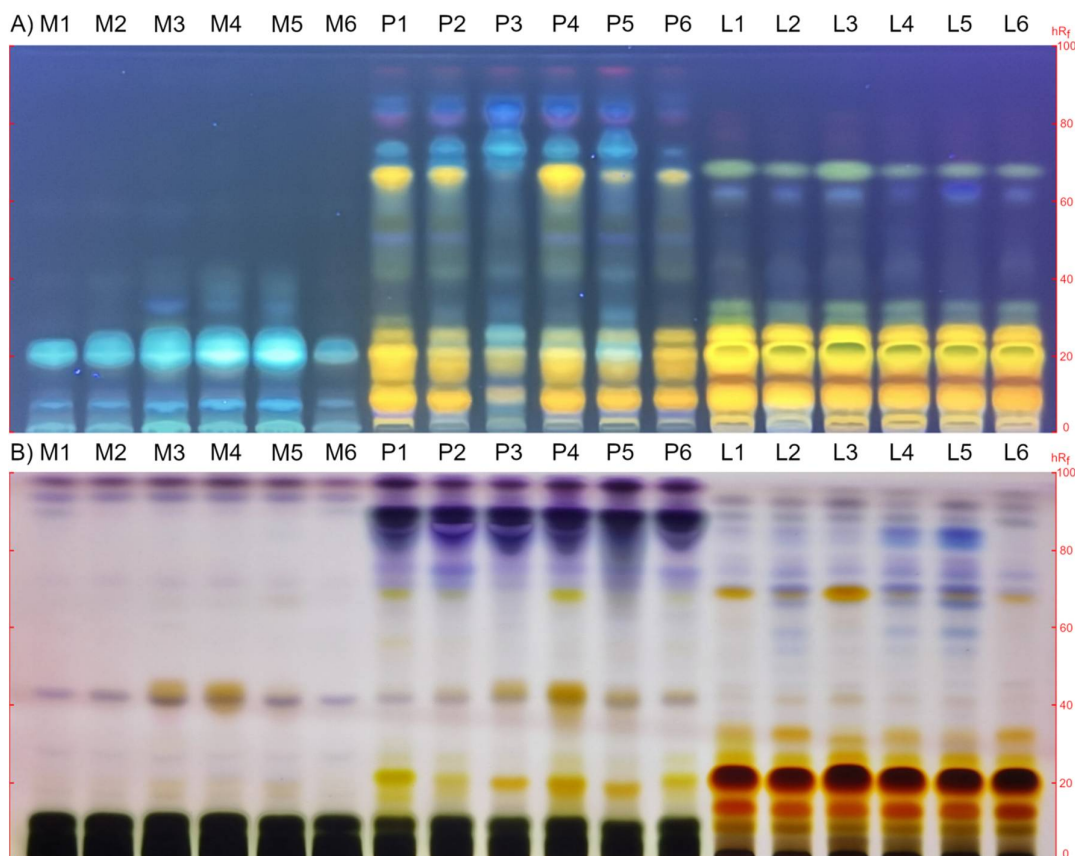
Faktor	DF	Naringenin				Kampferol				Kaempferol-7-O-glukozid				Isoramnetin-3-O-glukozid			
		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	211,86	211,86	588,07	<0,001*	169,55	169,55	1132,75	<0,001*	421,15	421,15	383,12	<0,001*	3992,23	3992,23	96,69	<0,001*
F ₁	2	144,00	72,00	199,85	<0,001*	58,51	29,25	195,44	<0,001*	66,25	33,13	30,13	<0,001*	1977,80	988,90	23,95	<0,001*
F ₂	2	13,68	6,84	18,99	<0,001*	2,11	1,055	7,05	0,001*	0,35	0,18	0,16	0,851	21,92	10,96	0,27	0,767
F ₃	1	0,01	0,01	0,03	0,863	0,09	0,09	0,63	0,430	0,25	0,25	0,23	0,632	1052,84	1052,84	25,50	<0,001*
F ₁ × F ₂	4	26,20	6,55	18,18	<0,001*	4,34	1,09	7,26	<0,001*	0,42	0,11	0,10	0,983	29,32	7,33	0,18	0,950
F ₁ × F ₃	2	8,50	4,25	11,79	<0,001*	14,66	7,33	48,97	<0,001*	18,96	9,48	8,62	<0,001*	2394,31	1197,15	28,99	<0,001*
F ₂ × F ₃	2	0,59	0,30	0,82	0,441	0,17	0,09	0,58	0,560	0,31	0,15	0,14	0,870	20,37	10,18	0,25	0,782
F ₁ × F ₂ × F ₃	4	1,39	0,35	0,96	0,430	0,43	0,11	0,71	0,584	0,38	0,10	0,09	0,986	47,17	11,79	0,29	0,887

4.6. Visokoefikasna tankoslojna hromatografija (HPTLC)

Ispitano je šest sorti jabuke (jedna standardna, jedna otporna i četiri autohtone, **Tabela 20**). Uzorci su prikupljeni na istoj lokaciji pri istim agronomskim i ekološkim uslovima, u cilju procene profila bioaktivnih supstanci i njihove antimikrobne aktivnosti (*Effect-Directed Profiling*). Plod (pokožica i mezokarp) i list su okarakterisani i hemijskom derivatizacijom Neu-PEG reagensom i reagensom na bazi *p*-anisaldehida i sumporne kiseline (**Slika 15**). Tri smeše standarda su upotrebljene radi inicijalne kvalitativne karakterizacije. Pozicije pojedinačnih jedinjenja (hR_F vrednosti) su utvrđene pojedinačnim merenjima (**Slika 16**, **Tabela 21**).

Tabela 20. Ispitivani uzorci HPTLC metodom i njihove oznake na graficima.

Redni broj	Sorta	Tkivo			Tip sorte
		Mezokarp	Pokožica	List	
1.	Revena	M1	P1	L1	Rezistentna
2.	Demirka	M2	P2	L2	Autohtona
3.	Jesenji Jablan	M3	P3	L3	Autohtona
4.	Kadumana	M4	P4	L4	Autohtona
5.	Kopaoničanka	M5	P5	L5	Autohtona
6.	Jonagold	M6	P6	L6	Konvencionalna



Slika 15. HPTLC hromatogrami nakon derivatizacije Neu-PEG reagensom. (A) i *p*-anisaldehyd-sumporna kiselina reagensom (B).

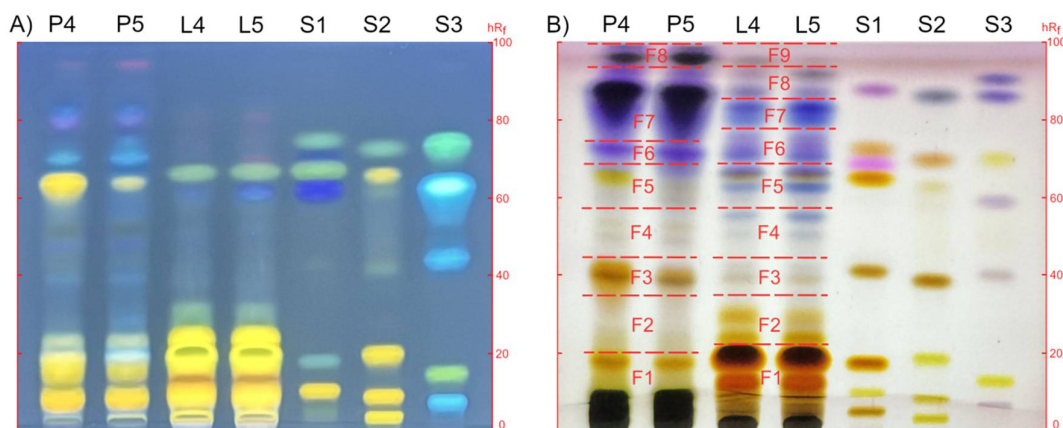
Fenolne kiseline i aglikoni flavonoida detektovani su u rasponu hR_F između 55 i 85 i kod NP-PEG reagensa i kod ASA reagensa. Glikozidi flavonoida su detektovani u hR_F opsegu između 5 i 25. Prilikom poređenja uzoraka i smeša standarda dobijeni hromatogrami ukazuju na prisustvo kvercetin-3-*O*-rutinozida, kvercetin-3-*O*-glukozida, kvercetin-3-*O*-galaktozida, kvercetin-3-*O*-rhamnozida, 5-*O*-kofeoilkininske kiseline, i florizina u hR_F opsegu između 5 i 30. Prema radu Agatonovic-Kustrin i sar. žute i narandžaste zone ukazuju na prisustvo derivata kvercetina, kao i floretina prilikom vizualizacije sa ASA reagensom. Mrlje koje odgovaraju standardima ursolne, oleanolne i betulinske kiseline i β -sitosterola vidljive su na hR_F vrednostima iznad 80. Pojava tamnih i ljubičastih mrlja ukazuje na prisustvo triterpena i fitosterola, plave mrlje ukazuju na monoterpene, sive mrlje na steroide i estre terpena, a smeđe na diterpene¹⁵⁴. Prisustvo derivata ursolne, oleanolne i betulinske kiseline i njihovih derivata je opisano u više studija^{19,44,50,79,155}. Naringin, epikatehin i katehin su bolje vidljivi nakon derivatizacije ASA reagensom u poređenju sa NEU-PEG reagensom.

Tabela 21. Standardi i njihove smeše upotrebljeni za kvalitativno HPTLC ispitivanje.

Red. br.	Smeša	Jedinjenje	Masa (ng/mlja)	hR_F vrednost*
1	S1	Naringin	803	4,6
2		Kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	403	9,0
3		Florizin	1713	17,1
4		Katehin	500	40,5
5		3,4-dihidroksibenzoeva kiselina	503	58,8
6		Floretin	802	64,9
7		<i>p</i> -Kumarinska kiselina	1011	68,0
8		Naringenin	402	71,8
9		Betulinska kiselina	403	87,4
10	S2	Kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid	402	2,9
11		Kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	400	8,1
12		Kvercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	401	18,1
13		Epikatehin	505	38,8
14		Kvercetin	401	62,1
15		Hesperetin	503	69,5
16		Ursolna kiselina	400	85,8
17	S3	5- <i>O</i> -kofeoilkininska kiselina	510	6,0
18		Kampherol-3- <i>O</i> -glukozid	510	12,4
19		Ruzmarinska kiselina	506	4,0,0
20		Kofeinska kiselina	500	58,8
21		Izorametin	500	69,6
22		Kampferol	250	70,0
23		Oleanolinska kiselina	404	58,7
24		β -Sitosterol	500	90,1

* na osnovu derivatizacije anisaldehyd-sumporna kiselina

Ispitivani ekstrakti pokožice i lista pokazuju jasno vidljive zone kao posledica prisustva fenolnih kiselina, flavonoida kao aglikona i u glikozilovanom obliku i terpenoidnih jedinjenja. Mezokarp, pokazuje mali broj zona nakon derivatizacije, pogotovo pri derivatizaciji ASA reagensom. Derivatizacija NEU-PEG reagensom ukazuje na prisustvo fenolnih kiselina kao što su derivati kofeinske kiseline, kao što je 5-*O*-kofeoilkininska kiselina, u hR_F rasponu od 5 do 30.



Slika 16. HPTLC ploče sa odabranim uzorcima i smešama standarda nakon razvoja hromatograma i derivatizacije Neu-PEG reagensom (A) i *p*-anisaldehid-sumporna kiselina reagensom (B). Oznake u gornjem delu slike odgovaraju uzorcima u **tabeli 18** i smešama standarda u **Tabela 21**.

4.6.1. HPTLC – hemijska derivatizacija – obrada rezultata

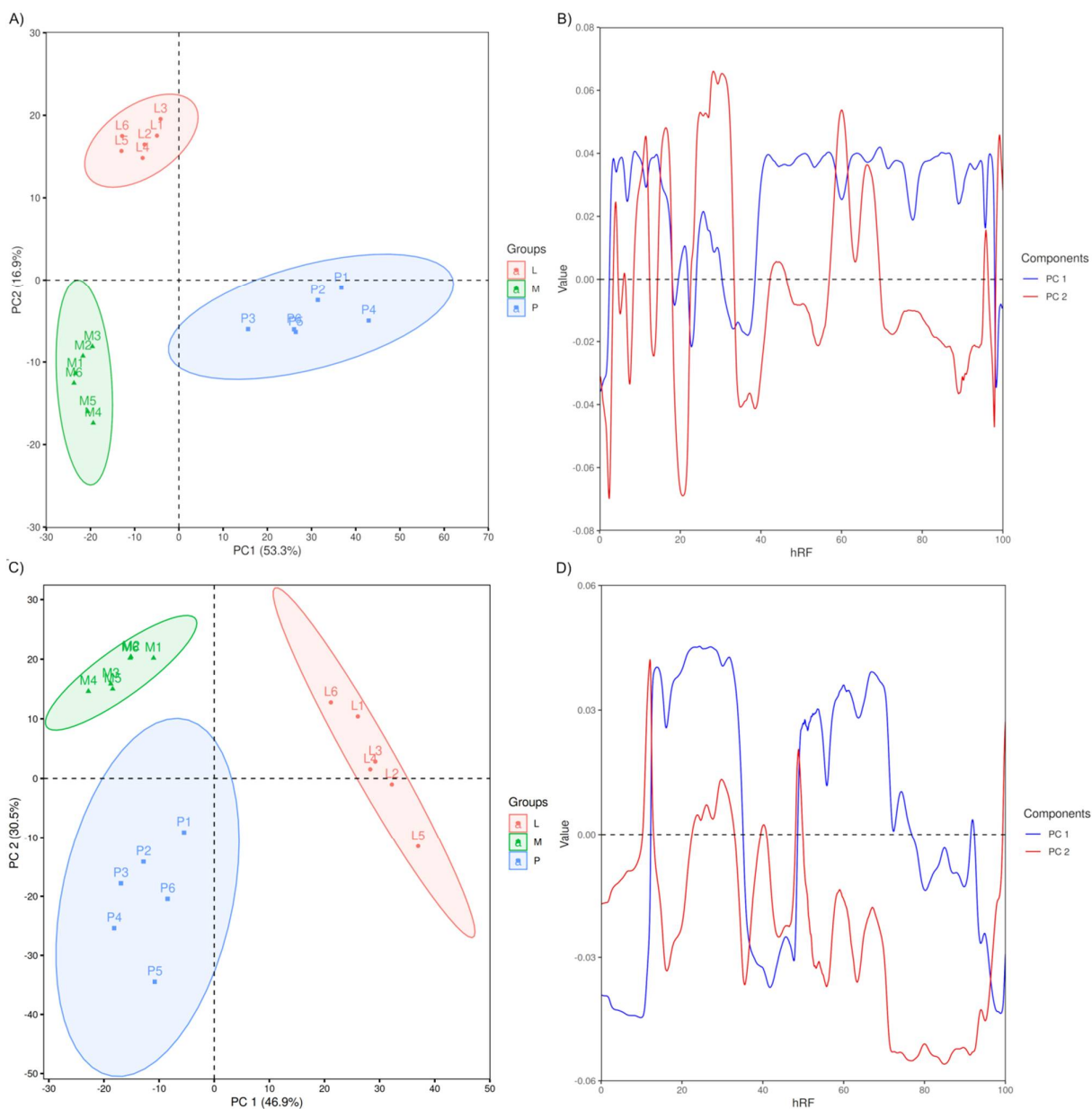
PCA je primenjena kako bi se smanjio broj dimenzija seta podataka, ispitali trendovi prisutni u strukturi podataka i identifikovale varijable koje doprinose razlikama ili sličnostima među uzorcima ili esejima. Cilj je bio ispitati efekat pojedinačnih varijabli na grupe uzoraka (objekata).

Podaci za PCA su dobijeni obradom fotografija razvijenih i derivatizovanih hromatografskih ploča, nakon derivatizacije ASA pod vidljivim svetlom (osmatrana je transmitanca), a nakon derivatizacije Neu-PEG pod UV svetlom talasne dužine 366 nm. Dva seta podataka su formirana koje čini 18 uzoraka sa 1000 varijabli. Svaka varijabla odgovara 1/1000 dela dužine razmaka između polazne mrlje i fronta rastvarača.

Kod Neu-PEG esej, prva glavna komponenta (PC1) odgovara 53,3% ukupnog varijabiliteta, a druga komponenta (PC2) odgovara 15,9% varijabiliteta. Shodno tipu tkiva definisane su tri grupe objekata koje su međusobno razdvojene na grafiku glavnih komponenti (**Slika 17 A**) u odgovarajuće grupe: uzorci pokožice (objekti P1 – P6), mezokarpa (M1 – M6) i grupa uzoraka lista (L1 – L6). Na graficima latentnih varijabli mogu se uočiti doprinosi hromatografskih zona kao karakteristika koje doprinose razlikovanju uzorkovanih tkiva. U slučaju uzoraka pokožice dominiraju zone u rasponu hR_F između 4 i 16, na hR_F 21, između 25 i 29 hR_F i između 40 i 95 hR_F . Kod uzoraka lišća dominantne su zone na hR_F vrednostima 4, 11, 16, 44, 60, 66, 96 i u rasponu između 24 i 33 hR_F (**Slika 17 B**).

U slučaju ASA reagensa, prva glavna komponenta (PC1) odgovara 46,9% ukupnog varijabiliteta, a druga komponenta (PC2) odgovara 30,5% varijabiliteta. Vidljivo je jasno grupisanje u grupe koje odgovaraju tipu tkiva (**Slika 17 C**). Grupu uzoraka pokožice karakterišu zone na hR_F 16, 35, 44, 56, 64 i u rasponu 71 i 96 hR_F . Razdvajanju uzoraka mezokarpa od ostalih grupa uzoraka doprinose zone 18, 23 i 30 – 40 hR_F duž PC1 ose, a duž PC2 ose 3, 5, 14 i 22 hR_F . Uzorke lista karakterišu zone detektovane između 12 i 38 hR_F i između 49 i 75 hR_F duž PC1 ose (**Slika 17 D**).

Kod oba esej, hR_F vrednosti između 12 i 13 odgovaraju zonama glikozida kvercetina i derivatima florizina. Ova jedinjenja su karakterističnija za ekstrakte pokožice i lista nego što su za ekstrakte mezokarpa. Floretin, kvercetin, 3,4-dihidroksibenzojeva kiselina, kofeinska kiselina, naringenin, i kampferol su očekivani u hR_F 50 – 70 i doprinose odvajanju uzoraka pokožice i lista od uzoraka mezokarpa na PCA graficima po PC1 i PC2 osama. Vrednosti između 71 i 96 hR_F odgovaraju položajima ursolne kiseline, oleanolne kiseline, betulinske kiseline i β -sitosterola. Ova jedinjenja karakterišu ekstrakte pokožice i lista i utiču na razdvajanje između ova dva tipa tkiva pri PCA analizi. Vidljivo je da su zone koje sadrže ova jedinjenja su zasićenije kod ekstrakata pokožice nego listu, ali je kod ekstrakata lista moguće uočiti veći broj pojedinačnih zona (**Slika 15 B**).



Slika 17. PCA grafici dobijeni od podataka ploča derivatizovanih NEU-PEG reagensom (A) i *p*-anisaldehyd sumporna kiselina (B). Grafici vektora latentnih varijabli duž prve dve glavne ose za pomenute testove (C i D). Skraćenice: M – mezokarp, P – pokožica, L – list.

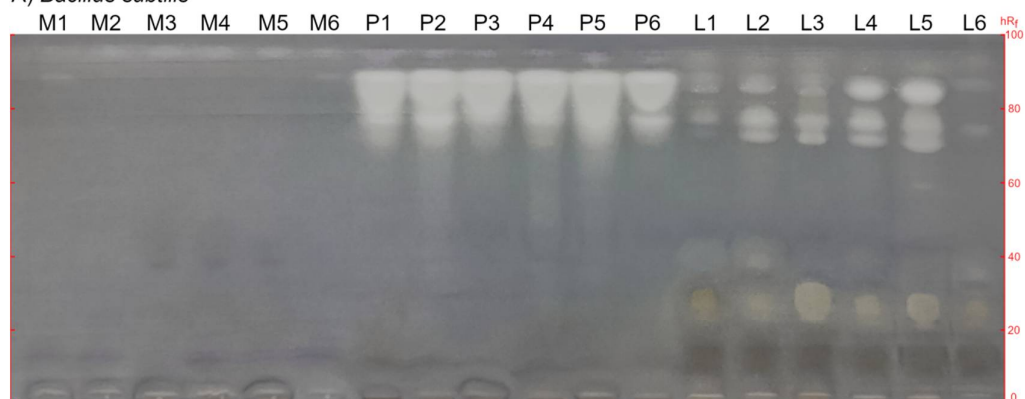
4.6.2. HPTLC – bioautografija

Antimikrobno dejstvo ekstrakata mezokarpa, pokožice i lišća je ispitano prema četiri soja bakterija (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Erwinia amylovora*), primenom MTT kolorimetrijskog eseja. pojedini sojevi *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* se smatraju za bakterije oportunističkog tipa, koji se ponekad ponašaju kao patogeni prisutni u hrani. *Erwinia amylovora* je izazivač bakterijske plamenjače kod familije *Rosacea*, pogotovo kod jabuke, kruške i dunje, infektivne bolesti koja izaziva nekrozu i trajno oštećenje biljke. Protiv bakterijske plamenjače ne postoje komercijalni preparati sa kurativnim i eradikativnim dejstvom. Ranije se koristio streptomycin, čija je primena zabranjena u Evropi zbog opasnosti od razvoja rezistencije kod drugih bakterija prisutnih u životnoj sredini.

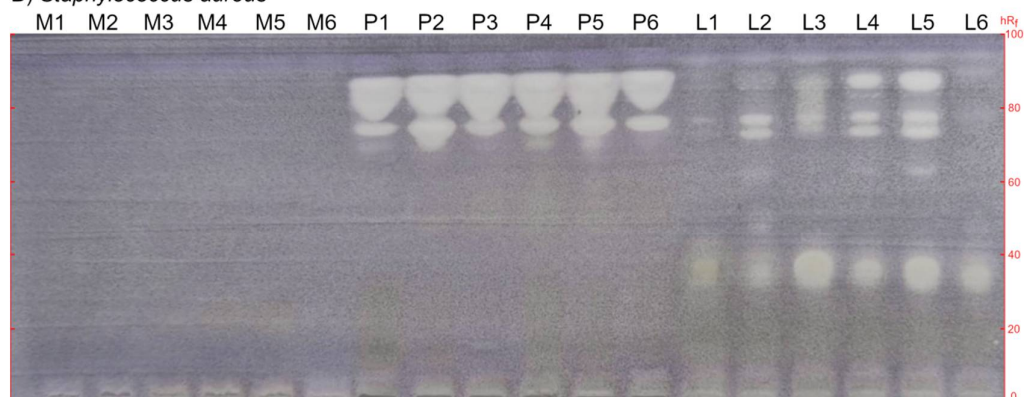
Ispitivani ekstrakti pokazuju razlike u intenzitetu antimikrobne aktivnosti, zavisno od tipa ekstrahovanog tkiva i soja na kome vrši ispitivanje. Svetložute, bezbojne zone na ljubičastoj pozadini ukazuju na antimikrobnu aktivnost ispitivanih ekstrakata (**Slika 18**). Ekstrakti lista su pokazali najizraženiju antimikrobnu aktivnost prema svim sojevima koji su ispitivani. Primetan je veliki broj različitih zona kod eseja na ekstraktima lista, posebno kod ispitivanog soja *E. coli*. Vidljive su dve zone inhibicije rasta bakterija kod ekstrakata lista, niža zona pri hR_F 5 – 40, kao i viša zona pri hR_F 70 – 90 gde je prisutno više odvojenih mrlja. Široke i intenzivne zone su primetne između 20 i 30 hR_F (*B. subtilis* i *E. coli*) i između 30 i 40 hR_F (*S. aureus*, *E. coli*, i *E. amylovora*) u opsegu niže zone. Zone između hR_F 40 i 70 su uglavnom razdvojene i izraženo zavisne od uzoraka koji su ispitivani. Tačnije, inhibicione zone detektovane su pri hR_F ~47 (L2) i ~63 (L2, L4 i L5) za *S. aureus*, pri hR_F ~55 (L2, L3, L4 i L5) kod *E. coli* i hR_F ~50 (L1, L2, L4, L5 i L6) kod *E. amylovora*. Prisustvo ili odsustvo zona je posledica razlika u profilu bioaktivnih supstanci. Uzorci L1 (list otprne sorte Rewena) i L6 (list standardne sorte Jonagold) pokazuju slabu antimikrobnu aktivnost kod svih bakterijskih eseja. Suprotno njima, ekstrakti lista sorti jabuka Kadumana (L4) i Kopaoničanka (L5) pokazuju izrazite aktivne zone, pogotovo između 70 i 90 hR_F . ASA esej pokazuje brojne zone različitih vizuelnih karakteristika, time i pojedinačna jedinjenja, u pomenutom opsegu. Mrlje se primetno pojavljuju i na istim pozicijama kao i zone inhibicije na antimikrobnim esejima. Antimikrobna aktivnost lista jabuke je ispitivana u malom broju studija do sada, uglavnom primenom disk-difuzione metode^{142,156}. U radu *Sowa i sar.* je opisana antimikrobna aktivnost metanolnih ekstrakata lista različitih sorti jabuke prema soju *S. aureus* (ATCC 25923). U istom radu ekstrakti nisu pokazali antimikrobnu aktivnost prema sojevima *E. coli* (ATCC 25922) i *B. subtilis* (ATCC 6633). *Móricz i Ott* su pokazali antimikrobnu aktivnost lista kajsije (*Prunus armeniaca*) prema soju *B. subtilis* primenom HPTLC-EDA. U pomenutoj studiji antimikrobna aktivnost je pripisana ursolnoj, oleanolnoj, betulinskoj, korosolnoj i maslinskoj kiselini¹⁵⁷. *Chandramu i sar.* opisuju antimikrobnu aktivnost betulinske i ursolne kiseline prema *B. subtilis*. Skłodowska i sar. su opisali dinamiku promene koncentracije fenolnih jedinjenja u mladim listovima jabuke sorte Ajdared i Enterprajz u odgovoru prema infekciji *E. amylovora*. Pomenuta studija ukazuje na *in vitro* aktivnost galne kiseline, floroglucinola, hidrohinona i floretima prema ispitanom soju *E. amylovora*, merenjem veličine inhibicionih zona u Petri šolji¹⁵⁸.

Ekstrakti pokožice takođe pokazuju izraženu antimikrobnu aktivnost. Primetna je razvučena, zasićena i difuzna zona u gornjoj trećini kod svih obavljenih bioautografskih eseja, u opsegu između 65 i 95 hR_F , a u opsegu ispod 65 hR_F mrlje su retke i slabog intenziteta. Izdvojene zone u gornjem opsegu kod eseja na soju *E. coli*. Kod ekstrakata P2, P4 i P5 je najizraženija inhibitorna aktivnost kod sva četiri eseja. Pomenute zone su po obliku slične ljubičastim zonama dobijenim kod derivatizacije ASA za koje je očekivano prisustvo triterpenoida, a pogotovo kod eseja sa *B. subtilis* i *S. aureus*. Na hR_F vrednostima u ovom opsegu detektovani su i upotrebljeni standardi triterpenoida: ursolna kiselina, betulinska kiselina, oleanolna kiselina i β -sitosterol (na trakama na kojima su nanete smeše standarda).

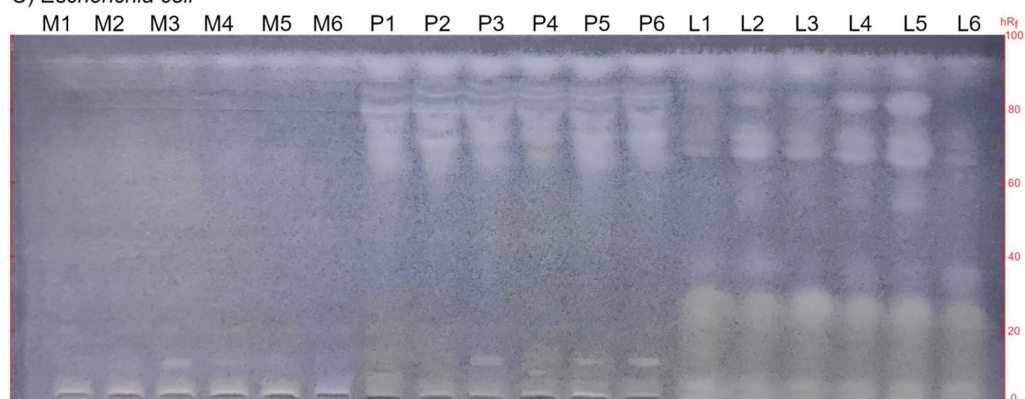
A) *Bacillus subtilis*



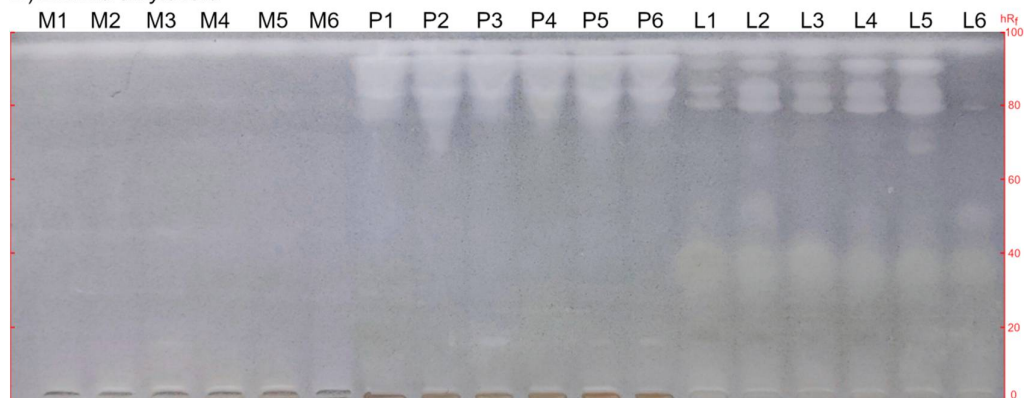
B) *Staphylococcus aureus*



C) *Escherichia coli*



D) *Erwinia amylovora*



Slika 18. HPTLC profil uzoraka – antimikrobni eseji posle vizualizacije sa MTT-jem. Sojevi bakterija: a) *Bacillus subtilis*, b) *Staphylococcus aureus*, c) *Escherichia coli*, d) *Erwinia amylovora*. Oznake su date u **Tabeli 20**.

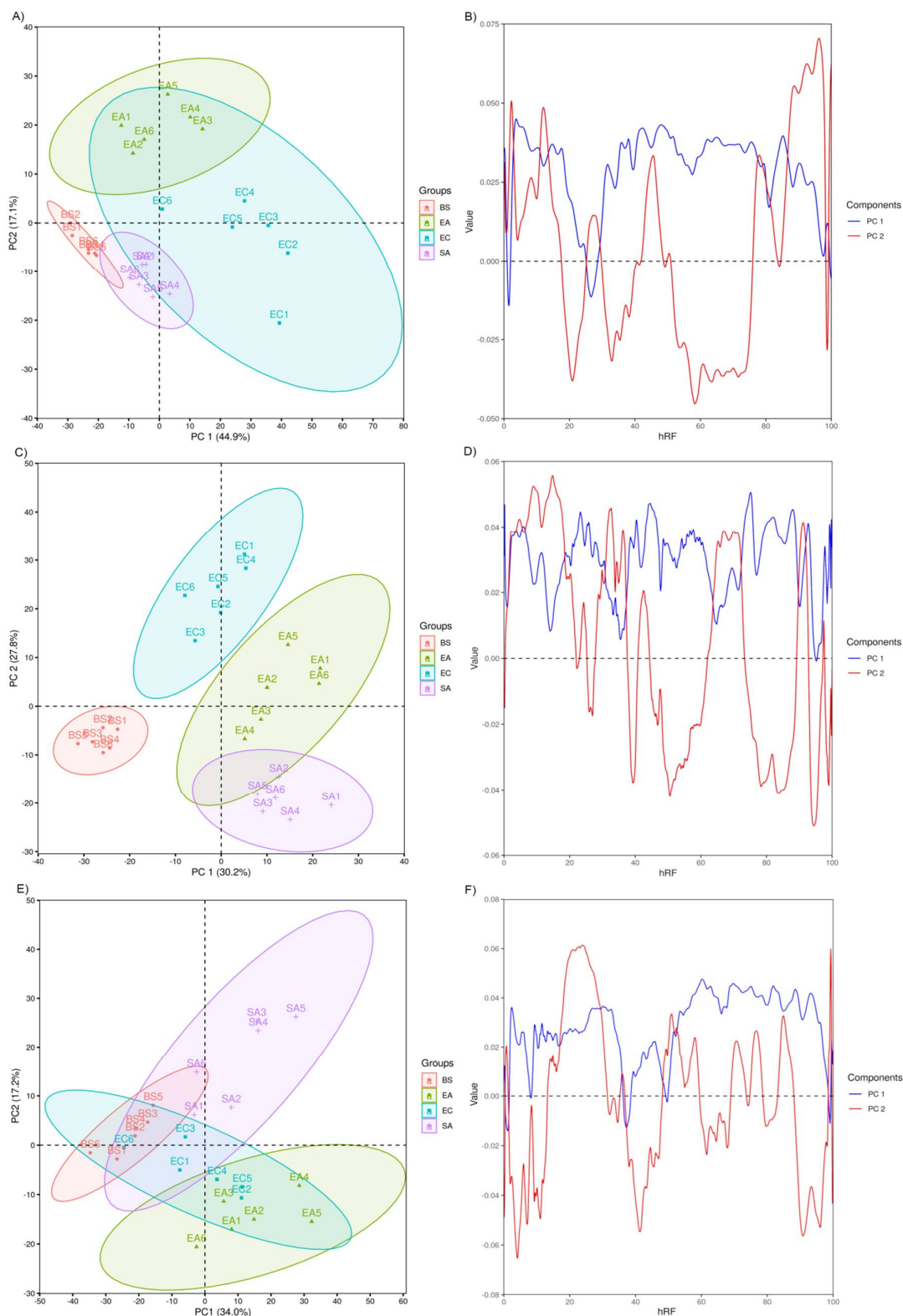
Selektivne zone niskog intenziteta između 5 i 20 hR_F primetne su kod eseja *S. aureus* (difuzne zone na $hR_F \sim 17$ kod uzoraka P1, P4 i P5), *E. coli* and *E. amylovora* (zona slabog intenziteta na $hR_F \sim 17$ kod ekstrakata P3, P5 i P6). Alberto i sar. su opisali ekstrakata pokožice jabuka Greni Smit i Rojal Gala prema sojevima *E. coli* i *S. aureus*. Fratianni i sar. su opisali bolju antimikrobnu aktivnost pokožice u poređenju sa mezokarpom prema sojevima *E. coli* i *B. cereus*. U istoj studiji uočena je različita antimikrobna aktivnost organski i komercijalno gajenih jabuka sorte Anurka¹⁵⁹.

Ekstrakti mezokarpa pokazuju jako slabu antimikrobnu aktivnost, bez intenzivnih zona inhibicije rasta bakterija kod sva četiri eseja. Slabe i selektivne inhibicione zone su vidljive kod *E. coli* and *B. subtilis*. Kod *E. coli* eseja primetna slaba mrlja kod uzoraka M3, M4 i M5. Isti uzorci pokazuju slabu inhibitornu zonu kod *B. subtilis* eseja na hR_F 40. Svi uzorci mezokarpa pokazuju slabu inhibitornu zonu kod *E. coli* and *B. subtilis* na približno 95 hR_F . Kod ekstrakata mezokarpa nije primetna vidljiva inhibitorna aktivnost kod ispitivanih sojeva *S. aureus* i *E. amylovora*.

Antimikrobna aktivnost mezokarpa jabuke je retko ispitivana zasebno od ostatka ploda. Ranija ispitivanja su slabu ili zanemarljivu antimikrobnu aktivnost fenolnih jedinjenja u mezokarpu, a u pokožici je veća koncentracija fenolnih jedinjenja^{20,134,138,139} i triterpenoidnih jedinjenja¹⁶⁰.

Postoji i uticaj pripreme uzorka na koncentraciju ekstrakata (list je osušen, a pokožica i mezokarp nisu) iako je ekstrakcija obavljena identičnim postupkom i sličnim rastvaračem. Ovaj uticaj je predstavljen i kroz sadržaj ukupnih fenola (**Prilog 5**) koji je bio najveći u ekstraktima lista (od 87,51 do 110 g GAE/kg), koga sledi sadržaj ukupnih fenola u pokožici (od 15,23 do 30,90 g GAE/kg), a najniži opseg je u uzorcima mezokarpa (od 0,57 do 2,68 g GAE/kg). Isti redosled je i kod ekstrakata uzoraka iz 2018. i 2019. godine (**Prilog 4**).

Klasifikacija uzoraka je dalje obavljena primenom PCA, sa ciljem da se razmotre sličnosti hromatografskih zona u različitim esejima i mogućnost razlikovanja sorti (**Slika 19**). Kod uzoraka mezokarpa i pokožice objekti na PCA grafiku napravili su grupe koje odgovaraju antimikrobnim esejima. Kod uzoraka lista nije toliko izraženo razdvajanje grupa, primetno je prklapanje uzoraka ispitanih uz *E. coli* esej sa ostalim uzorcima. Primetno je odvajanje uzoraka ispitanih *E. amylovora* esejem od *B. subtilis* i *S. aureus*. Prema loading plot jedinjenja između hR_F 3 i 20, gde je očekivano prisustvo 5-*O*-kefoilkinske kiseline, kvercetin-3-*O*-glikozida, doprinose razdvajanju, kao i kofeinska kiselina, kvercetin i floretin. Kod ekstrakata pokožice i lista primetno je antimikrobnu aktivnost prema *B. subtilis* and *S. aureus* karakterišu jedinjenja u opsegu hR_F 50 i 70. Zone između hR_F 70 i 90, koje su zasićene terpenoidnim jedinjenjima su više karakteristične za inhibiciju rasta *E. coli* i *E. amylovora*. Ovo zapažanje može ti epilog različite prirode ćelijske membrane Gram pozitivnih i Gram negativnih bakterija. Terpenoidi su lipofilna jedinjenja pa mogu da prodru kroz ćelijsku membranu i da izazovu njenu permeabilizaciju. Odsustvo debelog ćelijskog zida kod Gram-negativnih bakterija omogućuje lakše narušavanje komponenata i strukture ćelijske membrane. Nastala oštećenja ćelijske membrane dovode do gubitka jona i disbalansa membranskog potencijala, što dovodi kolapsa protonskih pumpi i nedostatka ATP-a¹⁶¹. Flavonoidi intereaguju sa različitim proteinima na površini ćelije kao što su komponente peptidoglikana prisutnog na površini ćelijskog zida Gram-pozitivnih bakterija¹⁶².



Slika 19. PCA grafici dobijeni od podataka ploča bioautografskim ispitivanjem različitih tkiva: mezokarp (A), pokožica (C) i list (E). Grafici vektora latentnih varijabli duž prve dve glavne ose za pomenute testove (B, D i F). Skraćenice: BS – *B. subtilis*, EC – *E. coli*, SA – *S. aureus* i EC – *E. amylovora*

4.7. Hromatografija spregnuta sa masenom spektrometrijom visoke rezolucije

4.7.1. Određivanje profila fenolnih jedinjenja u ekstraktima mezokarpa

Primenom UHPLC–MS/MS Orbitrap sistema ispitano je 24 uzorka mezokarpa (**Tabela 22**). U dobijenim ekstraktima je detektovano 20 fenolnih kiselina, 13 flavonoida i 3 dihidrokalkona (**Tabela 23**).

Hidroksicimetne kiseline su detektovane uglavnom kao estarski derivati kininske kiseline, pentoze ili heksoze (jedinjenja 4 – 20, **Tabela 22**), pored kojih je detektovana protokatehuinska kiselina (2) i dva njena derivata (1 i 3). Fragmentaciju hidroksicimetnih kiselina karakteriše gubitak jedinice od 132 Da koji odgovara pentozi, ili od jedinice 162 Da koji odgovara heksozi ili kininskoj kiselini. U MS² spektru jon na 179 m/z karakteriše derivate kofeinske kiseline, a na 163 m/z je karakterističan za derivate *p*-kumarinske kiseline. U MS³ spektru javljaju se fragmenti 135 m/z i 119 m/z kao ostaci pomenutih kiselina nakon dekarboksilacije^{104,163}. Kofeinska kiselina (14), *p*-kumarinska kiselina (5) i jedinjenja u čiju strukturu oni ulaze (slična jedinjenjima 8, 10, 12) opisani su u jabuci u više studija^{4,153,164,165}. Detektovano je tri derivata kofeinske kiseline vezanih sa heksozom (jedinjenja 4,6,7), kao i heksozil derivati protokatehuinske kiseline (1) i *p*-kumarinske kiseline (9). U uzorcima jabuke *Li i sar.* su opisali prisustvo kofeoil-glukoze, *p*-kumaroil-4-*O*-glukozida i protokatehuil-4-*O*-glukozida¹⁶⁵. Jedinjenja 15, 17 i 18 definisana kao metil *p*-kumaroilkinati, koji su u trenutku obavljanja ispitivanja bila opisana kod drugih voćaka, plodu jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.) i plodu borovnice (*Vaccinium corymbosum* L.)¹⁶⁶. Dva izomera metil *p*-kumaroilkinati se spominju u uzorcima jabuke u studiji *Navarro-Hoyo i sar.* objavljenoj 2021. godine¹⁶⁷. *Sanoner i sar.* opisuju prisustvo metil estara *p*-kumaroilkininske i *p*-kofeoilkininske kiseline u blago alkoholnom sajderu od jabuke³¹. Jedinjenje 20 daje MS² bazni pik na 367 m/z, a u MS³ spektru 179 m/z bazni pik i prisustvo pika 161 m/z. Ovo jedinjenje je asignirano kao kofeoil-feruol-kininska kiselina^{40,163}.

Floretin (jedinjenje 35, **Tabela 23**) daje 273 m/z bazni pik u MS spektru, koji daljom degradacijom daje pik na 167 m/z u MS² spektru. Derivati floretina daju pomenuti 273 m/z bazni pik u MS² spektru, florizin (36) karakteriše gubitak fragmenta od 162 Da, a floretin-2'-*O*-(2''-*O*-pentozilheksozid) (34) odvajanje fragmenta od 294 Da (što odgovara zbiru od 162 Da i 132 Da).

Detektovana su tri dimera procijanidina B tipa (23, 25 i 27). Pored baznog pika 425 m/z u MS² spektru, prisustvo 289 m/z pika ukazuje gubitak jedne jedinice flavan-3-ola prilikom fragmentacije. Katehini (26 i 28) detektovani su kao 245 m/z pik u MS² spektru. Glikozid katehina (22) daje pik na vrednosti 245 m/z u MS³ spektru. Jedinjenje 24, sa masom osnovnog jona 425 u MS spektru je identifikovano kao epiafzelehin-3-*O*-galat. Ovo jedinjenje je opisano u čaju (*Camellia sinensis*)¹⁶⁸. Jedinjenje 29 je identifikovano kao (epi)katehin-metil(epi)galokatehin¹⁶⁹. Ostali flavonoidi (jedinjenja 30, 31, 32 i 33) identifikovani su prema prethodno opisanim spektrima u literaturi¹⁰⁴.

Kod sorti Jesenji jablan i Bela kalačuša (obe su iz grupe autohtonih sorti) detektovana su sva jedinjenja koja su razmatrana o okviru ove metode, dok kod svih ostali sorti određen broj jedinjenja nije bio detektovan. Kod sorte Demirka detektovano je 35 od 36 ispitivanih jedinjenja, a kod sorte Ajdared je detektovano 34 ispitivana jedinjenja. (**Tabela 23**, **Tabela 22**).

Tabela 22. Lista sorti jabuke kod kojih je ispitivan fenolni profil mezokarpa i identifikovanih jedinjenja.

Red. broj	Naziv jedinjenja	Greni Smit	Ajdared	Revena	Remura	Zaječarska duguljasta	Mionička Tikvara	Zaječarski delišes	Gružanjaska letnja kolačara	Sećeruš	Pamuklija	Demirka	Jesenji jablan
1	Heksozid protokatehuinske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Protokatehuinska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Pentozilheksozid protokatehuinske kiseline	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
4	Heksozid kofeinske kiseline 1	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+
5	<i>p</i> -Kumarinska kiselina	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
6	Heksozid kofeinske kiseline 2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
7	Heksozid kofeinske kiseline 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	5- <i>O</i> -Kofeoilkininska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Heksozid <i>p</i> -kumarinske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Izomer 5- <i>O</i> -kofeoilkininske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Metil-3- <i>O</i> -kofeoilkinat	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
12	3- <i>p</i> -Kumaroilkininska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Kofeinska kiselina	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
15	Metil-3- <i>p</i> -kumaroilkinat	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Izomer metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinata	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Metil-5- <i>p</i> -kumaroilkinat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Izomer metil-5- <i>p</i> -kumaroilkinata	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Ruzmarinska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Kofeoil-feruloilkininska kiselina	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+
21	Prodelfinidin B tipa ((epi)galokatehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	(Epi)katehin-heksozid	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+
23	Procijanidin B tipa 1 (katehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Epiafzelehin 3- <i>O</i> -galat	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
25	Procijanidin B tipa 2 (katehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Katehin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Procijanidin B tipa 3 (katehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Epikatehin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	(Epi)katehin-metil(epi)galokatehin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Taksifolin	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
31	Kvercetin 3- <i>O</i> -ramnozid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Kamferol 3- <i>O</i> -pentozid	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
33	Kamferol 3- <i>O</i> -ramnozid	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
34	Floretin 2'- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -pentozilheksozid)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35	Floretin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	Florizin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 22. Nastavak tabele.

Red. broj	Naziv jedinjenja	Kadumana	Buzdija	Krtajka	Hajdučica	Vrtiglavyska slatkača	Kopaoničanka	Bela kalačuša	Loznička tikvara	Šipura	Šipina	Kožara	Budimka
1	Heksozid protokatehuinske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Protokatehuinska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Pentozilheksozid protokatehuinske kiseline	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
4	Heksozid kofeinske kiseline 1	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
5	<i>p</i> -Kumarinska kiselina	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Heksozid kofeinske kiseline 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Heksozid kofeinske kiseline 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	5- <i>O</i> -Kofeoilkininska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Heksozid <i>p</i> -kumarinske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
10	Izomer 5- <i>O</i> -kofeoilkininske kiseline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Metil-3- <i>O</i> -kofeoilkinat	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
12	3- <i>p</i> -Kumaroilkininska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Kofeinska kiselina	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Metil-3- <i>p</i> -kumaroilkinat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Izomer metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinata	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Metil-5- <i>p</i> -kumaroilkinat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Izomer metil-5- <i>p</i> -kumaroilkinata	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Ruzmarinska kiselina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
20	Kofeoil-feruloilkininska kiselina	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+
21	Prodelfinidin B tipa ((epi)galokatehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	(Epi)katehin-heksozid	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Procijanidin B tipa 1 (katehin-(epi)katehin)	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Epiafzelehin 3- <i>O</i> -galat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Procijanidin B tipa 2 (katehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Katehin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Procijanidin B tipa 3 (katehin-(epi)katehin)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Epikatehin	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
29	(Epi)katehin-metil(epi)galokatehin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Taksifolin	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
31	Kvercetin 3- <i>O</i> -ramnozid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Kamferol 3- <i>O</i> -pentozid	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
33	Kamferol 3- <i>O</i> -ramnozid	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
34	Floretin 2'- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -pentozilheksozid)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35	Floretin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	Florizin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 23. Identifikovana fenolna jedinjenja u ekstraktima mezokarpa jabuke i parametri identifikacije.

Red. br.	Naziv jedinjenja	t_R ; min	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa [M-H] ⁻	Izmerena masa [M-H] ⁻	Δ ppm	MS ² Fragmenti (% baznog pika)	MS ³ Fragmenti (% baznog pika)	MS ⁴ Fragmenti (% baznog pika)
1	Heksozid protokatehuinske kiseline	6,55	C ₁₃ H ₁₅ O ₉ ⁻	315,072156	315,07185	0,98	108(10); 109(11); 147(38); 152(42); 153 (100); 163(10); 165(12)	108(21); 109 (100)	81 (100)
2	Protokatehuinska kiselina	6,66	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,019332	153,01947	-0,89	107(89); 108(33); 109 (100); 110(25); 123(41); 125(79); 136(24)	65(28); 67(36); 81(59); 83(27); 91 (100)	
3	Pentozilheksozid protokatehuinske kiseline	6,72	C ₁₈ H ₂₃ O ₁₃ ⁻	447,114415	447,11415	0,60	152 (100); 153(35); 163(59); 177(31); 179(31); 271(36); 315(87)	108 (100)	
4	Heksozid kofeinske kiseline 1	6,84	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,087806	341,08804	-0,68	147(19); 153(25); 161(33); 179 (100); 180(9); 203(10); 251(13)	135 (100)	
5	<i>p</i> -Kumarinska kiselina	6,91	C ₉ H ₇ O ₃ ⁻	163,040068	163,04010	-0,17	103(82); 117(68); 119(96); 121(61); 133(71); 135 (100); 136(76)	75(24); 107 (100); 108(12)	
6	Heksozid kofeinske kiseline 2	7,03	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,087806	341,08754	0,77	147(19); 153(25); 161(33); 179 (100); 180(9); 203(10); 251(13)	135 (100)	
7	Heksozid kofeinske kiseline 3	7,35	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,087806	341,08769	0,33	135(9); 147(42); 153(26); 161(37); 179 (100); 180(10); 203(7)	135 (100)	79(40), 106 (100), 107(52)
8	5- <i>O</i> -Kofeoilkininska kiselina	7,47	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,087806	353,08760	0,58	179(3); 191 (100)	85 (100); 93(60); 111(36); 127(90); 171(25); 173(61)	57 (100)

Tabela 23. Nastavak tabele.

Red. br.	Naziv jedinjenja	t_R ; min	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa [M-H] ⁻	Izmerena masa [M-H] ⁻	Δ ppm	MS ² Fragmenti (% baznog pika)	MS ³ Fragmenti (% baznog pika)	MS ⁴ Fragmenti (% baznog pika)
9	Heksozid <i>p</i> -kumarinske kiseline	7,84	C ₁₅ H ₁₇ O ₈ ⁻	325,092891	325,09274	0,48	119(11); 145 (100); 146(10); 163(87); 187(40); 265(16); 289(58)	117 (100); 127(3)	
10	Izomer 5- <i>O</i> -kofeoilkininske kiseline	7,90	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,087806	353,08766	0,41	191 (100); 192(3)	85 (100); 93(60); 111(34); 127(83); 171(24); 173(57)	57 (100)
11	Metil-3- <i>O</i> -kofeoilkinat	8,03	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,103456	367,10338	0,22	135(46); 161 (100); 162(10); 179(52); 320(12); 321(13); 329(74)	133 (100)	
12	3- <i>p</i> -Kumaroilkininska kiselina	8,10	C ₁₆ H ₁₇ O ₈ ⁻	337,092891	337,09273	0,48	163(5); 173 (100)	59(7); 71(20); 93 (100); 109(7); 111(49); 155(11)	
13	Metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinat	8,45	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,103456	367,10310	0,96	134(3); 135(47); 136(4); 161(12); 179 (100); 180(9); 191(22)	135 (100)	89(38), 117(13), 135 (100)
14	Kofeinska kiselina	8,54	C ₉ H ₇ O ₄ ⁻	179,034982	179,03507	-0,49	135 (100)	107 (100)	
15	Metil-3- <i>p</i> -kumaroilkinat	8,73	C ₁₇ H ₁₉ O ₈ ⁻	351,108541	351,10846	0,24	117(5); 119(9); 145 (100); 146(5)	117 (100); 145(3)	
16	Izomer metil-5- <i>O</i> -kofeoilkinata	8,87	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,103456	367,10332	0,37	134(3); 135(47); 136(4); 161(10); 179 (100); 180(8); 191(20)	135 (100)	91(68), 106(29), 107(81), 135 (100)
17	Metil-3- <i>p</i> -kumaroilkinat	8,93	C ₁₇ H ₁₉ O ₈ ⁻	351,108541	351,10856	-0,06	119(17); 145(10); 163 (100); 164(7)	119 (100)	93 (100)
18	Izomer metil-3- <i>p</i> -kumaroilkinata	9,38	C ₁₇ H ₁₉ O ₈ ⁻	351,108541	351,10865	-0,31	119(19); 145(5); 163 (100); 164(7)	119 (100)	93 (100), 119(9), 135(72)
19	Ruzmarinska kiselina	9.65	C ₁₈ H ₁₅ O ₈ ⁻	359.077241	359.07707	0.47	133(5), 161(100), 162(9), 179(22), 197(20), 223(7), 313(4)	133(100)	

Tabela 23. Nastavak tabele.

Red. br.	Naziv jedinjenja	t_R ; min	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa [M-H] ⁻	Izmerena masa [M-H] ⁻	Δ ppm	MS ² Fragmenti (% baznog pika)	MS ³ Fragmenti (% baznog pika)	MS ⁴ Fragmenti (% baznog pika)
20	Kofeoil-feruolkiniska kiselina	10,22	C ₂₆ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	529,135150	529,13492	0,43	161(8); 179(6); 349(8); 367 (100); 368(18)	134(5); 35(60); 161(76); 179 (100); 191(20); 193(5)	135 (100)
21	Prodelfinidin B tipa ((epi)galokatechin-(epi)katehin)	6,39	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₃ ⁻	593,130065	593,12993	0,22	289(5); 315(11); 441 (100); 442(19)	153(34); 161(9); 271(14); 287(14); 289(50); 315 (100)	151(5), 153 (100), 161(26), 193(3), 297(21)
22	(Epi)katehin-heksozid	6,99	C ₂₁ H ₂₃ O ₁₁ ⁻	451,124585	451,12435	0,52	245(12); 289 (100); 290(16); 405(3)	179(8); 203(13); 205(38); 231(6); 245 (100); 247(7)	161(20), 175(17), 187(33), 188(20), 203 (100)
23	Procijanidin B tipa 1 (katehin- (epi)katehin)	7,08	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	577,135150	577,13502	0,23	289(24); 407(61); 408(13); 425 (100); 426(16); 451(26); 559(8)	273(7); 381(4); 407 (100)	281(93), 283(34), 285 (100), 297(35), 389(31)
24	Epiafzelehin-3-O-galat	7,67	C ₂₂ H ₁₇ O ₉ ⁻	425,087806	425,08756	0,58	243(21); 273(11); 285(6); 379(7); 381(10); 407 (100); 408(33)	256(27); 281(65); 283(30); 285 (100); 297(28); 389(21)	213(19), 241(4), 242(8), 257 (100), 258(13)
25	Procijanidin B tipa 2 (katehin- (epi)katehin)	7,67	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	577,135150	577,13510	0,09	287(6); 289(17), 407(51), 408(10), 425 (100), 426(11), 451(18)	273(7), 381(4), 407 (100)	281(87), 283(30), 285 (100), 297(27), 389(30)
26	Katehin	8,00	C ₁₅ H ₁₃ O ₆ ⁻	289,071762	289,07159	0,61	179(12), 203(10), 205(38), 231(6), 245 (100), 246(10), 247(6)	161(19), 175(10), 187(23), 188(14), 203 (100), 227(26)	157(10), 161(33), 175 (100), 185(16), 188(48)
27	Procijanidin B tipa 3 (katehin- (epi)katehin)	8,42	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	577,135150	577,13564	-0,85	287(11), 289(16), 407(45), 408(9), 425 (100), 426(14), 451(19)	273(9), 381(6), 407 (100)	281 (100), 283(34), 285(84), 297(29), 389(34)
28	Epikatehin	8,55	C ₁₅ H ₁₃ O ₆ ⁻	289,071762	289,07176	0,00	125(19), 167(35), 203(8), 205(30), 245 (100), 246(9), 271(18)	161(23), 185(37), 187(17), 201(19), 203 (100), 227(67)	

Tabela 23. Nastavak tabele.

Red. br.	Naziv jedinjenja	t_R ; min	Molekulska formula [M-H] ⁻	Izračunata masa [M-H] ⁻	Izmerena masa [M-H] ⁻	Δ ppm	MS ² Fragmenti (% baznog pika)	MS ³ Fragmenti (% baznog pika)	MS ⁴ Fragmenti (% baznog pika)
29	(Epi)katehin-metil(epi)galokatehin	8,79	C ₃₁ H ₂₇ O ₁₃ ⁻	607.145715	607.14571	0,01	287(79), 405(46), 423(33), 437(37), 449(22), 455(95), 575 (100)	245(8), 287 (100), 405(22), 413(20), 423(35), 449(48)	125 (100), 161(5), 243(12), 245(5)
30	Taksifolin	7,39	C ₁₅ H ₁₁ O ₇ ⁻	303.051026	303.05089	0,44	147(5), 177(12), 256(6), 257(12), 258(7), 285 (100), 286(12)	175(48), 199(38), 217(28), 241 (100), 242(19), 243(22)	173(63), 185(31), 197(38), 199 (100), 213(69)
31	Kvercetin 3-O-ramnozid	9,23	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁ ⁻	447.093285	447.09339	-0,23	285(3), 299(4), 300(28), 301 (100), 302(11)	151(82), 179 (100), 257(11), 72(10), 273(19), 283(20)	151 (100)
32	Kamferol 3-O-pentozid	9,56	C ₂₀ H ₁₇ O ₁₀ ⁻	417,082720	417,08261	0,26	255(5), 283(3), 284(66), 285 (100), 286(14), 327(4)	163(20), 229(45), 241(29), 256(46), 257 (100), 267(42)	163(85), 212(14), 213(22), 229 (100), 239(56)
33	Kamferol 3-O-ramnozid	9,73	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀ ⁻	431,098371	431,09814	0,55	255(6), 283(7), 284(40), 285 (100), 286(16), 327(5)	213(28), 229(41), 241(36), 256(70), 257 (100), 267(43)	163(63), 213(19), 227(14), 229 (100), 239(22)
34	Phloretin 2'-O-(2''-O-pentozilheksozid)	9,00	C ₂₆ H ₃₁ O ₁₄ ⁻	567,171929	567,17197	-0,07	167(7), 273 (100), 274(14)	123(4), 125(4), 167 (100)	123 (100), 125(13), 151(3)
35	Floretin	9,58	C ₁₅ H ₁₃ O ₅ ⁻	273,076847	273,07672	0,46	123(4), 125(4), 167 (100), 168(7)	123 (100), 125(13), 151(3)	67(3), 81 (100), 95(55), 108(3)
36	Floretin 2'-O-heksozid (florizin)	9,59	C ₂₁ H ₂₃ O ₁₀ ⁻	435,129671	435,12950	0,39	273 (100), 274(13)	123(5), 125(3), 167 (100)	123 (100), 125(14), 151(3)

4.7.2. Identifikacija biološki aktivnih jedinjenja u ekstraktima pokožice i lista

Fenolni profil u uzorcima pokožice i lista određen je upotrebom UHPLC Q-ToF MS tehnike. Masenoj spektrometriji je prethodilo frakcionisanje reprezentativnih uzoraka koji su odabrani shodno njihovoj antimikrobnoj aktivnosti i ishodu hemijske derivatizacije. Birani su ekstrakti koji su vizuelno imali najveći broj različitih zona dobijenih hemijskom derivatizacijom i ekstrakti koji su ispoljavali relativno jaču antimikrobnu aktivnost. Frakcije su grupisane u zavisnosti od njihove korespondencije sa zonama u kojima postoji antimikrobna aktivnost pri bioautografiji. Ekstrakti pokožice su frakcionisani u osam ekstrakata, a ekstrakti lista su frakcionisani u devet ekstrakata. Ispitivani su ekstrakti lista i pokožice sorti Kadumana i Kopaoničanka.

Detektovano je 71 jedinjenje u ispitivanim uzorcima pokožice i lista jabuke. Detektovani su derivati hidroksibenzoeve kiseline (12 jedinjenja); hidroksicimetne kiseline (14 jedinjenja); flavonoli (14 jedinjenja); flavanonoli (2 jedinjenja); flavanoni (5 jedinjenja); flavan-3-oli i pro(anto)cijanidini (6 jedinjenja); dihidrokalkoni (15 jedinjenja); i pentaciklični triterpenoidi (3 jedinjenja).

Hidroksibenzoeva, dihidroksibenzoeva (dva izomera) i vanilinska kiselina (jedinjenja 1, 4, 5 i 10 **Tabela 24**) detektovane su u formi aglikona. Hidroksibenzoeva i *p*-kumarinska kiselina detektovane su u frakciji F6 ekstrakta lista. Pomenuta frakcija zahvata položaj u kome je detektovan standard *p*-kumarinske kiseline na HPTLC ploči upotrebom derivatizacionih reagenasa. Izomeri dihidroksibenzoeve kiseline su polarniji, pa je izomer I (4) detektovan u F4 i F5 frakciji, što je približno položaju 3,4-dihidroksibenzoeve kiseline pri razvijanju standardne smeše. Izomer II (jedinjenje 5) je detektovan u F3 frakciji. Glikozidi hidroksibenzoeve kiseline (2 i 3) prisutni su u frakciji F1. Izomer I dihidroksibenzoeve kiseline (2) je detektovan u svim ispitivanim ekstraktima, a takođe i izomeri hidroksibenzoeve kiseline koji jedino nisu detektovani u ekstraktu P4. Heksozid dihidroksibenzoeve kiseline izomer II (3) i heksozid galne kiseline (12) detektovani su samo u uzorcima lista, a heksozid vanilinske kiseline (11) detektovan je samo u uzorcima pokožice. U studiji *Skłodowska i sar.*, je opisano prisustvo glukozyda 4-hidroksibenzoeve kiseline i glukozyda galne kiseline u mladaru jabuke. Opisana je veća koncentracija glukozyda 4-hidroksibenzoeve kiseline i manji koncentracije glukozyda galne kiseline u in vivo ispitivanju mladara jabuke sorte Enterprajz pri određivanju 6 h nakon infekcije i upoređivanju sa kontrolnim uzorkom¹⁵⁸.

Hidroksicimetne kiseline su u ekstraktima prisutne i kao derivati sa kininskom kiselinom i kao glikozidi. U frakciji F1 oba ekstrakta lista detektovani su izomeri kumaroikininske kiseline (jed. 15 i 16) i kofeoilkininske kiseline (22 i 23). Njihovi metil derivati (12,18, 24 i 15) su potvrđeni u F1 ili F2 frakcijama kod ispitivanih ekstrakata pokožice i lista. Izomeri metil-kumaroilkinata uglavnom su detektovani u F2 frakciji pokožice, a izomeri metil-kofeoilkinata su uglavnom bili prisutni u F1 frakciji pokožice. U literaturi je opisano prisustvo jedinjenja koja odgovaraju detektovanim jedinjenjima je prisustvo u jabuci opisano u celovitom plodu jabuke¹⁷⁰, pokožici^{167,171} i listu jabuke¹⁵⁸. U frakciji F2 pokožice sorte Kopaoničanka detektovana je kofeoilšikiminska kiselina (355 m/z). Heksozidi kumarinske, kofeinske i ferulinske kiseline (14, 21 i 26, redom) karakteriše postojanje fragmenata koji su za 162 Da manji od molekulskog jona. Pomenuti glikozidi su detektovani u F1 frakcijama, osim heksozyda kumarinske kiseline, koji je detektovan u F2 frakciji ekstrakta lista.

Među okarakterisanim derivatima flavonoida ističu se glikozidi kaemferola (28-31) i kvercetina (33-36). Svi glikozidi kvercetina su detektovani u frakciji F1, što je u skladu sa njihovim očekivanim položajem na HPTLC ploči. Jedinjenje 37 je prepoznato kao kvercetin-3-*O*-(2"-kumaroil)-heksozid, na osnovu fragmenata 463 m/z i 301 m/z koji su rezultat gubitka kumaroil i heksozil grupe. Ovo jedinjenje je detektovano u F1 frakciji uzorka pokožice sorte kopaoničanka. Kamferol-3-*O*-ramnozid je detektovan u F2 frakciji svih uzoraka. Kamferol-3-*O*-pentozid je detektovan u F2 i F3, dok su ostali derivati kaemferola detektovani u F1 frakciji uzoraka lista (uzorak L4, jedinjenje 31, uzorak L5 jedinjenje 30). Derivati kvercetina i kamferola su ranije detektovani u uzorcima jabuke u više slučajeva – u plodu^{44,153}, pokožici^{4,36,167,172}, kao i listu³⁷. Isorhamnetin-3-*O*-heksozid je detektovan u F1 frakciji uzorka pokožice sorte Kadumana. Kamferol, kvercetin, miricetin i izorhamnetin (detktovani samo u P4) su takođe detektovani kao aglikoni, uglavnom u frakciji F5. Miricetin je takođe prisutan i u frakcijama F3, F4 i F5, a kamferol

u frakcijama F5 i F6. Taksifolin i njegov glikozid (heskozid) detektovani su u ekstraktu pokožice redom u F3 i F1 frakcijama.

Od flavanona, naringenin je prisutan u F6 frakciji svih ekstrakata lista, a hesperetin je prisutan u F4 frakciji ekstrakta pokožice P5. Skłodowska i sar. su opisali prisustvo naringenina u listu jabuka sorte Enterprajz i Ajdared¹⁵⁸. Glikozidi hesperetina i eriodiktiola prisutni su u frakcijama ekstrakata lista i pokožice, u frakcijama F1 i, ili F2. Hesperetin-7-*O*-heksozid detektovan je u F1 i F2 frakcijama ekstrakta lista, a eriodiktiol-7-*O*-heksozid je detektovan u F1 frakciji pokožice oba ispitivana uzorka. Jedinjenje 47 je okarakterisano kao eriodiktiol-7-*O*-(2''-kumaroil)-heksozid (m/z 595) i detektovano je u ekstraktima pokožice sorte Kadumana u frakcijama F1 i F2. Jedinjenje je okarakterisano MS fragmentima 433 m/z, (koji nastaje gubitkom 162 m/z, heksoze), 287 m/z deprotonovanog eriodiktiola, 151 m/z, 135 m/z i 125 m/z¹⁷³.

Epikatehin je prisutan u F3 frakciji svih ekstrakata. Katehin je u tragovima prisutan u uzorcima pokožice (**Tabela 24**). Njihovo prisustvo je implicirano i na osnovu poređenja sa standardima pri HPTLC analizi, pošto su mrlje njihovih standarda na opsegu R_F vrednosti u frakciji F3 (**Slika 16**).

Proantocijanidini su detektovani u ekstraktima pokožice. Izomeri procijanidina B (jedinjenja 50 i 51) prisutni su u frakciji F1, dok je procijanidin A prisutan u frakciji F3. Ova jedinjenja su ranije detektovana u pokožici jabuke^{36,134,140,172} i za njih je u MS/MS spektru karakteristično postojanje fragmenta katehina 289 m/z.

Različiti dihidrokalkoni su prisutni u uzorcima i pokožice i lista. Floretin je zastupljen u frakcijama F5 kod pokožice i lista, a kod lista detektovan je i u frakcijama F6 oba uzorka. Florizin je detektovan u frakcijama F1 kod pokožice, a kod lista u frakcijama F2, F3 i F4 kod oba uzorka. Ostali dihidrokalkoni su uglavnom prisutni u ekstraktima lista. Jedinjenja 60 (m/z 567) i 63 (m/z 597) okarakterisana su kao floretin-2'-*O*-(6''-pentozil)-heksozid i floretin-2'-*O*-(6''-heksozil)-heksozid. Jedinjenje 60 je detektovano u F1 frakciji ekstrakta uzorka P4, a 63 je detektovano u F1 frakciji ekstrakata lista. Acilovani derivati floretina (58, 59, 61 i 64) imaju identične tipične fragmente 273 m/z (aglikon floretina) i 167 m/z, ali različite hemijske formule i monoizotopne mase. U listu *M. baccata* opisano je prisustvo floretin-4'-*O*-(6''-kumaroil)-heksozida (jedinjenje 61) i floretin-4'-*O*-(6''-feruloil)-heksozida (jedinjenje 65). Ova jedinjenja su detektovana u F1, F2 i F3 frakcijama lista. Jedinjenja 62 i 66 imaju iste mase i formule kao i jedinjenja 61 i 65, redom. Zbog fragmenata m/z 419 (jedinjenje 62) i 449 m/z (jedinjenje 66) jedinjenja su opisana kao floretin-4'-*O*-(2''-kumaroil)-heksozid i floretin-4'-*O*-(2''-feruloil)-heksozid. Oba jedinjenja su detektovana u frakcijama F1. 3-hidroksifloretin je jedino detektovan u ekstraktu lista sorte kopaoničanka, u frakciji F5. U frakciji F1 oba ekstrakta lista detektovan je 3-hidroksifloretin-2'-*O*-heksozid.

Hesperetin-7-*O*-heksozid (45, **Tabela 24**) i eriodiktiol-7-*O*-(2''-kumaroil)-heksozid (47), kao i benzoil-, hidroksibenzoil- i kofeoil-acilovani derivati floretina (58 – 66), do sada nisu opisani u uzorcima lista jabuke.

Tri triterpenoidna derivata su detektovana. Jedinjenje 69 je okarakterisano kao oksooleanolinska kiselina, detektovano u F7 frakciji ekstrakta pokožice sorte kadumana, dok su jedinjenja 70 i 71 detektovana u frakcijama F5, F6, i, ili F7 svih ispitivanih uzoraka pokožice i lista. Prisustvo ovih triterpenoidna jedinjenja opisano je u plodu jabuke, pokožici i otpadu od proizvodnje soka^{79,174}.

Tabela 24. Identifikovana fenolna jedinjenja u ispitivanim frakcijama ekstrakata pokožice i lista jabuke i parametri identifikacije.

Red br.	Ret. vreme	Jedinjenje	Formula	Izmerena masa	m/z tačna masa	mDa	MS fragmenti (%)	Detekcija (frakcija)			
								P4	P5	L4	L5
Fenolne kiseline i derivati											
Hidroksibenzoeve kiseline i derivati											
1	4,37	Hidroksibenzoeva kiselina	C ₇ H ₅ O ₃ ⁻	137,0239	137,0235	-0,37	108,0204(100)	-	6	6	6
2	2,6	Heksozid hidroksibenzoeve kis. I	C ₁₃ H ₁₅ O ₈ ⁻	299,0767	299,0772	0,51	137,0231(100)	-	1	1	1
3	3,77	Heksozid hidroksibenzoeve kis. II	C ₁₃ H ₁₅ O ₈ ⁻	299,0767	299,0772	0,51	137,0231(100)	-	1	1	1
4	2,57	Dihidroksibenzoeva kiselina I	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,0188	153,0187	-0,08	108,0204(100), 109,0276, 110,0295	4/5	4/5	4/5	5
5	5,92	Dihidroksibenzoeva kiselina II	C ₇ H ₅ O ₄ ⁻	153,0188	153,0199	1,12	109,0295(100), 135,0089, 110,0327, 108,019	-	-	3	3
6	2,66	Heksozid dihidroksibenzoeve kis. I	C ₁₃ H ₁₅ O ₉ ⁻	315,0716	315,0737	2,09	108,0201(100), 152,0101, 109,0279, 123,0431, 153,0208	1	1	1	1
7	4,07	Heksozid dihidroksibenzoeve kis. II	C ₁₃ H ₁₅ O ₉ ⁻	315,0716	315,0726	0,99	109,0294(100), 123,0452, 153,0226, 152,0118, 108,0217	-	-	1	1
8	8,43	Dihidroksibenzoil siringinska kiselina	C ₁₆ H ₁₃ O ₈ ⁻	333,061	333,0603	-0,74	165,0188(100), 137,0233, 138,0266, 197,0439, 109,0273, 123,0101	4	3/4	-	-
9	5,58	Pentozilheksozid hidroksibenzoeve kiseline	C ₁₈ H ₂₃ O ₁₃ ⁻	447,1139	447,1152	0,73	152,0118(100), 447,1146, 109,0292, 153,0172, 315,0719, 271,0834	-	-	1	-
10	7,42	Vanilinska kiselina	C ₈ H ₇ O ₄ ⁻	167,0344	167,0332	-1,23	108,0206(100), 109,0234, 152,0100, 123,045	5	5/6	5	5
11	7,12	Heksozid vanilinske kiseline	C ₁₄ H ₁₇ O ₉ ⁻	329,0873	329,0877	0,44	167,0326(100), 123,0439, 168,0366, 151,0290	1	1	-	-
12	1,79	Heksozid galne kiseline	C ₁₃ H ₁₅ O ₁₀ ⁻	331,0665	331,0688	2,28	168,0068(100), 125,024, 124,9962, 169,0126	-	-	1	1
Hidroksicimetne kiseline i derivati											
13	7,32	Kumarinska kiselina	C ₉ H ₇ O ₃ ⁻	163,0395	163,0412	1,68	119,0504(100), 108,0215, 117,035	-	-	6	6
14	6,42	Heksozid kumarinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₈ ⁻	325,0923	325,0917	-0,64	119,0488(100), 145,028, 163,0385	1	1	2	2
15	6,98	Kumaroilkininska kizm. izm. I	C ₁₆ H ₁₇ O ₈ ⁻	337,0923	337,0943	1,96	191,057(100), 119,0503, 173,0461, 163,0404, 111,0454, 163,0404, 145,0302, 127,0404	-	-	1	1
16	7,47	Kumaroilkininska kizm. izm. II	C ₁₆ H ₁₇ O ₈ ⁻	337,0923	337,0943	1,96	191,0566(100), 192,0603, 119,0508, 127,04, 173,0465, 111,0449, 145,03, 163,0403	-	-	1	1
17	7,48	Metil-3-O-kumaroilkinat	C ₁₇ H ₁₉ O ₈ ⁻	351,108	351,1073	-0,69	145,028(100), 117,0335, 119,049, 127,0388, 163,0388, 173,0444, 147,0351	2	2	2	-
18	7,91	Metil-5-O-kumaroilkinat	C ₁₇ H ₁₉ O ₈ ⁻	351,108	351,1073	-0,69	145,0281(100), 117,0333, 119,0489, 127,0387, 173,045, 163,0389	2	2	2	-
19	8,45	Kumaroil-galik heksozid	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₂ ⁻	477,1033	477,105	1,7	168,0072(100), 331,0679, 125,0244, 145,0297, 169,0126, 313,0579, 119,0504, 163,0401	-	-	1	-
20	7,19	Kofeoilšikiminska kiselina	C ₁₆ H ₁₅ O ₈ ⁻	335,0767	335,0772	0,51	135,0438(100), 179,0334, 161,0229, 134,0353, 173,0458	-	2	-	-
21	5,46	Heksozid kofeinske kiseline	C ₁₅ H ₁₇ O ₉ ⁻	341,0873	341,0866	-0,66	161,0229(100), 135,0431, 179,0329	1	1	1	1
22	6,39	Kofeoilkininska kiselina izm. I	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,0873	353,0895	2,24	191,0565(100), 192,0606, 127,04, 161,0248, 135,0454, 193,0615, 173,0455, 179,0359	-	-	1	1
23	6,94	Kofeoilkininska kiselina izm. II	C ₁₆ H ₁₇ O ₉ ⁻	353,0873	353,0895	2,24	191,0568(100), 192,0604, 179,0404, 161,0246, 134,0373, 127,0398, 173,0461	-	-	1	1
24	7,75	Metil-3-O-kofeoilkinat izm. I	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,1029	367,1022	-0,71	135,0443(100), 179,034, 161,0231, 367,0996, 191,0534	1/2	1/2	1	1
25	7,99	Metil-5-O- kofeoilkinat izm. II	C ₁₇ H ₁₉ O ₉ ⁻	367,1029	367,1021	-0,81	135,0435(100), 179,0333, 161,0222, 175,0414, 191,0500	-	1	-	-
26	6,85	Heksozid ferulinske kiseline	C ₁₆ H ₁₉ O ₉ ⁻	355,1029	355,1046	1,69	160,0156(100), 175,039, 134,0361, 161,0188, 178,0261, 193,0511, 149,0598	-	1	-	-

Tabela 24. Nastavak tabele.

Red br.	Ret. vreme	Jedinjenje	Formula	Izmerena masa	m/z tačna masa	mDa	MS fragmenti (%)	Detekcija (frakcija)			
								P4	P5	L4	L5
Derivati flavonoida											
Flavonoli i derivati											
27	10,4	Kamferol	C ₁₅ H ₉ O ₆ ⁻	285,0399	285,0387	-1,21	285,0390(100), 286,0409, 185,0587, 187,0397, 229,0485, 159,0429, 143,0489, 211,0395, 239,0329, 227,0333, 255,0277	5/6	5/6	5/6	-
28	8,60	Kamferol-3-O-pentozid	C ₁₇ H ₂₁ O ₁₂ ⁻	417,1033	417,1018	-1,5	284,0314(100), 255,0292, 227,0334, 417,0820	-	1/2	3	-
29	8,86	Kamferol-3-O-rhamnozid	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀ ⁻	431,0978	431,0965	-1,32	284,0312(100), 255,0277, 227,0345, 151,0016	2	2	2	2
30	7,72	Kamferol-3-O-heksozid	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁ ⁻	447,0927	447,0936	0,86	285,0406(100), 284,0329, 447,0936, 256,0386, 241,0523, 151,0039	-	-	-	1
31	8,19	Kamferol-3-O-(6"-ramnozil)-heksozid	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅ ⁻	593,1506	593,1503	-0,35	285,0425(100), 593,1531, 284,0337	-	-	1	-
32	9,64	Kvercetin	C ₁₅ H ₉ O ₇ ⁻	301,0348	301,035	0,17	151,0023(100), 107,0125, 121,0281, 178,9968, 245,0431, 273,0385, 229,0512	5	5	5	-
33	8,18	Kvercetin-3-O-pentozid	C ₂₀ H ₁₇ O ₁₁ ⁻	433,0771	433,077	-0,09	300,0256(100), 301,0316, 271,0236, 255,0282, 151,0023, 178,9973, 243,0278	1/2	1/2	1/2	1/2
34	8,49	Kvercetin-3-O-ramnozid	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁ ⁻	447,0927	447,0917	-1,04	300,0258(100), 301,0326, 151,0025, 271,0233, 255,0282	1	1	1	1
35	7,95	Kvercetin-3-O-heksozid	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂ ⁻	463,0877	463,0871	-0,55	300,0256(100), 301,0317, 271,0232, 255,0282, 151,0022, 463,0859, 178,9973	1	1	1	1
36	7,84	Kvercetin-3-O-(6"-rhamnozil)-heksozid	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆ ⁻	609,1456	609,1442	-1,36	300,026(100), 609,1426, 301,0327, 271,0233, 151,0033, 178,9975, 255,0282	1	1	1	1
37	9,28	Kvercetin-3-O-(2"-kumaroil)-heksozid	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₄ ⁻	609,1244	609,1245	0,07	300,0263(100), 463,0862, 301,0339, 609,1251, 151,0039, 271,0245	-	1	-	-
38	7,25	Miricetin	C ₁₅ H ₉ O ₈ ⁻	317,0297	317,0301	0,36	109,0279(100), 151,0028, 153,0168, 163,0065, 124,0157, 125,0221, 227,0384, 178,9974, 243,0198, 257,0244, 271,0244	3-5	3-5	3-5	-
39	10,58	Isoramnetin	C ₁₆ H ₁₁ O ₇ ⁻	315,0505	315,0499	-0,58	300,0262(100), 151,0023, 301,0289, 107,0126, 271,0232, 255,0282, 227,0338, 243,0282	5	-	-	-
40	8,53	Isoramnetin-3-O-heksozid	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₂ ⁻	477,1033	477,1022	-1,10	314,0413(100), 315,0458, 477,1001, 271,0299, 243,029, 285,0396, 299,0174, 178,9969, 300,0215, 151,002, 165,0091	1	-	-	-
Flavanonoli i derivati											
41	7,56	Taksifolin	C ₁₅ H ₁₁ O ₇ ⁻	303,0505	303,051	0,52	137,0229(100), 257,042, 109,0285, 138,0287, 285,0384, 189,0523, 125,0219, 151,0372, 175,0374	3	3	-	-
42	6,58	Taksifolin-3-O-heksozid	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂ ⁻	465,1033	465,1027	-0,60	285,0381(100), 125,023, 178,997, 286,0426, 151,0068, 241,0492, 177,0164, 303,0485	1	-	-	-
Flavanoni i derivati											
43	10,24	Naringenin	C ₁₅ H ₁₁ O ₅ ⁻	271,0606	271,0608	0,15	119,0492(100), 151,002, 107,0128, 123,0442, 167,0345, 187,0421, 177,0185	6	6	6	6
44	9,67	Hesperetin	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ ⁻	301,0712	301,0695	-1,71	285,0382(100), 243,0287, 269,045, 151,0018, 286,0444, 257,0437, 107,0123, 271,027, 227,0338	-	4	-	-
45	9,8	Hesperetin-7-O-heksozid	C ₂₂ H ₂₃ O ₁₁ ⁻	463,124	463,1265	2,46	301,0724(100), 195,0304, 302,0752, 153,0195, 179,0029, 283,0607, 273,0788, 257,0822, 207,0307	-	-	1/2	1/2
46	8,62	Eriodiktiol-7-O-heksozid	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁ ⁻	449,1084	449,1079	-0,49	151,0025(100), 135,0438, 287,0545, 152,0056, 125,0238, 107,0125, 167,0314	1	1	-	-
47	9,81	Eriodiktiol-7-O-(2"-kumaroil)-heksozid	C ₃₀ H ₂₇ O ₁₃ ⁻	595,1452	595,1451	-0,07	287,0551(100), 151,0035, 193,0497, 135,0418, 145,0266, 125,0262, 433,0926, 595,1501	1/2	-	-	-

Tabela 24. Nastavak tabele.

Red br.	Ret. vreme	Jedinjenje	Formula	Izmerena masa	m/z tačna masa	mDa	MS fragmenti (%)	Detekcija (frakcija)			
								P4	P5	L4	L5
Flavan-3-oli and pro(anto)cijanidini											
48	6,37	Katehin	C ₁₅ H ₁₃ O ₆ ⁻	289,0712	289,0717	0,49	123,0437(100), 109,0282, 125,0223, 151,0384, 137,0229, 203,0696, 161,0580, 187,0388, 221,0806, 175,0700, 245,0789	3	3	-	-
49	7,05	Epikatehin	C ₁₅ H ₁₃ O ₆ ⁻	289,0712	289,0717	0,49	123,0438(100), 109,0284, 125,0235, 151,0386, 137,0233, 121,0282, 203,0698, 221,0809, 161,0581, 245,0807	3	3	3	3
50	6,05	Procijanidin dimer B tip izm. I	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	577,1346	577,1328	-1,80	289,0701(100), 407,0749, 125,0228, 245,0786, 408,0774, 137,0228, 203,0685, 287,0551	1	-	-	-
51	6,66	Procijanidin dimer B tip izm. II	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂ ⁻	577,1346	577,1328	-1,80	289,0702(100), 407,0752, 125,0231, 408,0786, 245,0781, 161,0237, 137,0229, 205,0462, 203,0687, 109,0280	1	1	-	-
52	8,11	Proantocijanidin A izm. I	C ₃₁ H ₂₇ O ₁₂ ⁻	591,1503	591,1479	-2,35	289,0695(100), 301,07, 215,0701, 290,0735, 245,08, 137,0228, 205,0481, 109,0283, 151,0361, 179,0324	3	3	-	-
53	8,93	Proantocijanidin A izm. II	C ₃₁ H ₂₇ O ₁₂ ⁻	591,1503	591,148	-2,25	289,0704(100), 301,0698, 215,0698, 290,0732, 245,0811, 137,0232, 205,0492, 109,0276, 151,0361, 179,0324	3	-	-	-
Dihidroalkoni i derivati											
54	10,23	Floretin	C ₁₅ H ₁₃ O ₅ ⁻	273,0763	273,0759	-0,4	123,0437(100), 119,0493, 167,0326, 125,0242, 189,0573, 151,0020, 201,0932, 211,0799, 255,0670	5	5	5/6	5/6
55	9,17	Floretin 2'-O-pentozid	C ₂₀ H ₂₁ O ₉ ⁻	405,1186	405,121	2,44	167,0351(100), 273,0783, 123,0454, 179,0355, 168,0389, 125,0245	-	-	2	2
56	8,84	Florizin	C ₂₁ H ₂₃ O ₁₀ ⁻	435,1291	435,1282	-0,92	167,0336(100), 273,0749, 274,0783, 179,0336, 125,0232, 229,0851	1	1	2-4	2-4
57	9,41	Derivat floretina (nepoznat)	C ₂₃ H ₂₅ O ₁₃ ⁻	509,1295	509,1314	1,88	273,0782(100), 167,0354, 274,0807, 125,0244, 168,0388, 123,0447	-	-	1/2	-
58	10,98	Floretin-4'-O-(6"-benzoil)-heksozid	C ₂₈ H ₂₇ O ₁₁ ⁻	539,1553	539,1586	3,26	273,0777(100), 167,0352, 274,0804, 125,0249, 168,0385, 123,0454	-	-	2/3	2/3
59	9,97	Floretin-4'-O-(6"-hidroksibenzoil)-heksozid	C ₂₈ H ₂₇ O ₁₂ ⁻	555,1503	555,153	2,75	273,0774(100), 167,0353, 125,0249, 274,0812, 168,0385, 123,0454	-	-	2	2
60	8,35	Floretin-2'-O-(6"-pentosyl)- heksozid	C ₂₆ H ₃₁ O ₁₄ ⁻	567,1714	567,17	-1,38	273,0754(100), 167,0329, 274,0792, 125,0232, 567,1687, 168,0369, 123,0438	1	-	-	-
61	10,4	Floretin-4'-O-(6"-coumaroil)- heksozid	C ₃₀ H ₂₉ O ₁₂ ⁻	581,1659	581,1638	-2,1	273,0749(100), 167,0331, 125,0227, 274,0769, 123,0422, 145,0281	2	-	2	2
62	11,18	Floretin-4'-O-(2"-coumaroil)- heksozid	C ₃₀ H ₂₉ O ₁₂ ⁻	581,1659	581,1672	1,3	145,0294(100), 273,0776, 419,1145, 435,1282, 125,0252, 274,0813, 167,0355, 117,0348, 435,1301, 123,0451	-	-	1	1
63	8,06	Floretin-2'-O-(6"-heksosil)- heksozid	C ₂₇ H ₃₃ O ₁₅ ⁻	597,1819	597,1843	2,35	273,0776(100), 167,0357, 274,0808, 125,0241, 597,1846, 168,0385, 123,045	-	-	1	1
64	9,93	Floretin-4'-O-(6"-kofeoil)- heksozid	C ₃₀ H ₂₉ O ₁₃ ⁻	597,1608	597,1626	1,78	273,0776(100), 167,0356, 125,0245, 274,0812, 289,0726, 161,0248, 179,0367, 168,0378, 435,1102	-	-	1/2	1/2
65	10,54	Phloretin-4'-O-(6"-feruolil)- heksozid	C ₃₁ H ₃₁ O ₁₃ ⁻	611,1765	611,1796	3,13	273,0773(100), 167,0354, 274,0818, 125,0247, 179,0354, 168,0389, 123,0452, 175,0405, 149,0266	-	-	2	2
66	11,35	Floretin-4'-O-(2"-feruolil)- heksozid	C ₃₁ H ₃₁ O ₁₃ ⁻	611,1765	611,1788	2,33	273,0776(100), 449,1288, 435,1335, 175,0404, 125,0247, 274,0814, 167,035, 176,0442, 149,0255	-	-	1	1
67	9,48	3-Hidroksifloretin	C ₁₅ H ₁₃ O ₆ ⁻	289,0712	289,0739	2,69	123,0446(100), 167,035, 125,0249, 168,0407	-	-	-	5
68	8,29	3- Hidroksifloretin-2'-O-heksozid	C ₂₁ H ₂₃ O ₁₁ ⁻	451,124	451,1267	2,66	167,0353(100), 125,0247, 289,073, 168,0386, 123,0451, 271,0623, 245,0826, 109,0294	-	-	1	1
Triterpenoidi											
69	15,94	Oksooleanolna kiselina	C ₃₀ H ₄₅ O ₄ ⁻	469,3318	469,3321	0,32	469,3299(100), 470,3341, 451,3204, 452,3234, 453,3314, 407,3302, 425,3423	7	-	-	-
70	15,01	Hidroksiursolna kiselina (adukt) ili korosolna kiselina	C ₃₀ H ₄₇ O ₄ ⁻	471,3474	471,3467	-0,73	471,3451(100), 472,3479, 453,3348, 454,3369, 409,3493, 427,3532, 455,3396	7	6	6/7	7
71	13,13	Derivat ursolne kiseline (adukt) (Euskapinska kiselina)	C ₃₀ H ₄₇ O ₅ ⁻	487,3423	487,3413	-1,05	487,3408(100), 469,3293, 425,3395, 423,325, 407,3282, 441,3340, 393,3056	5	5	6	5/6

4.7.3. Upoređivanje LC-MS profila i TLC ispitivanja

Kod ekstrakata pokožice, jaka antimikrobna aktivnost je primetna u hR_F opsegu 69 – 91 kod antibakterijskih esejaja *B. subtilis*, *S. aureus* i *E. amylovora* i hR_F 61–61 kod *E. Coli* esejaja. Aktivnost se može pripisati triterpenoidnim derivatima koja su detektovana u odgovarajućim frakcijama, kao i detektovanim flavonoidima: floretin, naringenin, miricetin, izorhamnetin, kvercetin, kaemferol i fenolnim kiselinama: hidroksibenzoeva kiselina, dihidroksibeznoeva kiselina i vanilinska kiselina. Aktivnost u zonama u opsegu hR_F 44 – 61 može se pripisati prisustvu hesperetina, miricetina i dihidroksibenzoil-siringinske kiselina. Primetne su pojedinačne zone u opsegu hR_F 3 – 20, u kojima su prisutni procijanidini B tipa, eriodiktiol-7-*O*-heksozid, taksifolin-3-*O*-heksozid, izorhamnetin-3-*O*-heksozid, detektovani glikozidi kvercetina i detektovani heksozidi fenolnih kiselina. Rauha i sar. opisuju da kvercetin, naringenin, morin i kamferol imaju antimikrobnu aktivnost prema ispitivanim sojevima *S. aureus* i *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus* i *E. coli*, dok kofeinska, galna i protokatehuinska kiselina, kao i rutin, naringin i katehin ne pokazuju antimikrobnu aktivnost¹⁷⁵. U studiji Ristivojević i sar., pri bioautografskom ispitivanju ekstrakata propolisa, navodi se aktivnost zona koje sadrže fenolna jedinjenja, konkretno: kofeinski kiselinu, kvercetin, luteolin, apigenin, p-kumarinsku kiselinu, kamferol, naringenin i pinobanksin¹⁷⁶. Druge studije navode snimikrobnju aktivnost floretina¹⁷⁷ i kofeoilkinata⁴² protiv različitih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija.

Kod ekstrakata lista, jaka antimikrobna aktivnost je primetna u hR_F opsegu 77 – 93 kod bakterijskih esejaja, hR_F 69 – 77 kod *B. subtilis*, *S. aureus* i *E. Coli* i hR_F 60 – 69 (F5) kod *E. Coli*. Aktivnost se može pripisati triterpenoidnim derivatima koja su detektovana u odgovarajućim frakcijama, kao i detektovanim flavonoidima: 3-hidroksifloretin, floretin, naringenin, kaemferol, kvercetin, miricetin i detektovanim fenolnim kiselinama. Primetne su i zone antimikrobne aktivnosti u opsegu ispod hR_F 50. U zonama antimikrobne aktivnosti između hR_F 23 i 44 detektovani su izomer dihidroksibenzoeve kiseline, heksozid kumarinske kiseline, izomeri metil-kumaroilkinata, kamferol-3-*O*-pentoizid, kamferol-3-*O*-rhamnozid, kvercetin-3-*O*-pentoizid, hesperetin-7-*O*-heksozid, epikatehin, i različiti glikozilovani i acilovani derivati floretina (jedinjenja 55, 56, 58, 59, 61 i 65, **Tabela 24**). U zonama kod kojih je slaba antimikrobna aktivnost, pri hR_F 3 – 23 detektovani su glikozidi fenolnih kiselina (jedinjenja 2, 3, 6, 7, 9, 12, 20 i 22), derivati fenolnih kiselina i kininske kiseline (jedinjenja 15, 16, 23 i 24), glikozidi kaempferola (jedinjenja 30 i 31), glikozidi kvercetina (jedinjenja 33, 34, 35 i 36), i derivati floretina (jedinjenja 62, 63, 66 i 68).

Prisustvo pentacikličnih triterpenoida (ursolna, oleanska i betulinska kiselina) je implicirano samo poređenjem sa standardima na hromatogramu. Zone njihove detekcije u standardima se poklapaju sa zonama sličnih boja nakon derivatizacije i sa inhibitornim zonama pri bioautografskim esejima^{157,178}. Detekcija jedinjenja kao ursolna i betulinska kiselina je izazovna zbog nedostatka hromofora koje omogućuju laku detekciju UV detektorom pri HPLC ispitivanjima. Karakteriše ih i otežana jonizacija hemijskim putem, jedinjenja imaju mali broj mesta koja mogu da se jonizuju prilikom jonizacije i ne dolazi do delokalizacije elektrona prilikom jonizacije kao što je slučaj sa fenolnim jedinjenjima.

5. ZAKLJUČAK

Predmet ispitivanja u okviru ove disertacije bila je detaljna analiza profila saharida, karboksilnih kiselina kratkog niza, metala i fenola, kao i antioksidativna aktivnost, kvantifikacija i profil pojedinačnih fenola u uzorcima mezokarpa i pokožice ploda, kao i u uzorcima lista jabuke.

Cilj je bio upoređivanje fitohemijskog sastava i poređenje kvalitativnih i kvantitativnih hemijskih karakteristika uzoraka sa težnjom ka poređenju devetnaest autohtonih sorti jabuke sa pet standardnih i još šest sorti koje su rezistentne prema uticaju izazivača čađave krastavosti (*Venturia inaequalis*) i zastupljene u komercijalnoj proizvođačkoj praksi.

Kod ispitivanja sadržaja šećera u mezokarpu primetno je da pojedine autohtone sorte: Gružanjaska letnja kolačara, Sećeruša, Demirka i Hajdučica, imaju slične karakteristike kao i neke ispitivane desertne komercijalne sorte: Crveni delišes, Zlatni delišes i Gala Galaks. Fruktaza, saharoza i glukoza detektovane su kao dominantni šećeri u mezokarpu jabuke. Najizraženiji doprinos klasifikaciji sorti u pri analizi imaju ksiloza, kininska i šikiminska kiselina, arabinoza, rafinoza, jabučna, limunska i izolimunska kiselina.

U uzorcima lišća u najvećoj količini je kvantifikovan sorbitol, koji ima značajno učešće u translokaciji ugljenika kod jabuke. Kod uticaja tipa sorte na sadržaj karboksilnih kiselina kratkog niza, primetan je veći sadržaj limunske kiseline i manji sadržaj maleinske kiseline kod uzoraka lišća autohtonih sorti.

Analiza sadržaja elemenata ne ukazuje na njihov doprinos razdvajanju uzoraka prema tipu sorte. Uzorci su prikupljeni sa istog područja, stoga nepostojanje statistički značajne razlike nije neočekivano. Postoje razlike u sadržaju elemenata u zavisnosti od tipa tkiva. Najzastupljeniji elementi su K, Na, Ca i Mg u svim ispitivanim grupama tkiva, što je u skladu sa rezultatima u drugim radovima.

Florizin, 5-*O*-kofeoilkininska kiselina, florizin i floretin, i u mezokarpu i pokožici, kao i glikozidi kvercetina u pokožici detektovani su kao najzastupljenija fenolna jedinjenja, a njihova zastupljenost je veća kod autohtonih sorti u poređenju sa ostalim ispitivanim sortama.

Uzorci lista autohtonih sorti su se isticali po sadržaju rutina, 5-*O*-kofeoilkininske kiseline i naringenina. Ispitivanjem fenolnog profila mezokarpa, identifikovano je 36 jedinjenja od čega su 14 derivati kofeinske i ferulinske kiseline. Ovim merenjima je prvi put analiziran profil ispitivanih autohtonih sorti jabuke primenom UHPLC–MS/MS Orbitrap i razmatran u kontekstu sa raspoloživim podacima za druge sorte.

Ekstrakti sorti Revena i Jonagold kao komercijalnih sorti i ekstrakti autohtonih sorti Jesenji jablan, Demirka, Kadumana i Kopaoničanka su dalje ispitivani sa aspekta antimikrobne aktivnosti bioautografskom metodom. Zone antimikrobne aktivnosti su razmotrene u kontekstu hemijskih profila dobijenih derivatizacijom Neu-PEG i anisaldehyd-sumporna kiselina esejima.

U ovoj disertaciji, prvi put su istovremeno ispitivani uzorci lista, pokožice i mezokarpa jabuke primenom bioautografije.

Kod sorti Kadumana i Kopaoničanka ekstrakti pokožice i lista su frakcionisani. Ove dve sorte su odabrane jer su pokazivale najveći broj pojedinačnih zona kod hemijskog profila i veoma izraženo inhibiciono dejstvo pri bioautografskom ispitivanju. Dobijene frakcije dalje su ispitane primenom UHPLC Q-ToF MS. Kod bioautografskog ispitivanja primetno je formiranje dve grupe inhibicionih zona, gornja grupa inhibicionih zona (bliže frontu rastvarača) i donja grupa inhibicionih zona (bliže liniji nanošenja zona). U gornjim zonama antimikrobna aktivnost se može pripisati prisustvu triterpenoida (oleanskog i ursanskog tipa), aglikonima flavonoida, fenolnim kiselinama (hidroksibenzojeva kiselina, izomeri dihidroksibenzojeve kiseline, vanilinska i kumarinska kiselina). U donjim zonama antimikrobna aktivnost se može pripisati glikozidima kvercetina i kampferola, glikozidima i acilovanim oblicima floretina i derivatima kofeoilkininskih kiselina (hlorogenih kiselina).

Od ukupno 71 identifikovanog jedinjenja u pokožici ploda i u listu, hesperetin-7-*O*-heksozid, eriodiktiol-7-*O*-(2''-kumaroil)-heksozid i benzoil-, hidroksibenzoil- i kofeoil-acilovani derivati floretina, do sada nisu opisani u uzorcima lista jabuke.

Pregled literature ukazuje i na to da postoji mali broj radova u kojima je bioautografskim ispitivanjem uslovljeno frakcionisanje ispitivanih ekstrakta kako bi se frakcije okarakterisale ultraefikasnom tečnom hromatografijom spregnutom sa masenom spektrometrijom visoke rezolucije.

Dobijeni rezultati pokazuju da autohtone sorte jabuke mogu predstavljati vredan resurs u razvoju novih prehrambenih proizvoda sa poboljšanim svojstvima (kao što je prisustvo antioksidanata), novih sirovina za proizvodnju dodataka ishrani i razvoj prirodnih sredstava za konzervaciju hrane.

6. LITERATURA

- (1) Cornille, A.; Giraud, T.; Smulders, M. J. M.; Roldán-Ruiz, I.; Gladieux, P. The Domestication and Evolutionary Ecology of Apples. *Trends in Genetics* **2014**, *30* (2), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.10.002>.
- (2) Iaccarino, N.; Varming, C.; Agerlin Petersen, M.; Viereck, N.; Schütz, B.; Toldam-Andersen, T. B.; Randazzo, A.; Balling Engelsen, S. Ancient Danish Apple Cultivars—A Comprehensive Metabolite and Sensory Profiling of Apple Juices. *Metabolites* **2019**, *9* (7), 139. <https://doi.org/10.3390/metabo9070139>.
- (3) Mratinić, E.; Akšić, M. F. Phenotypic Diversity of Apple (*Malus* Sp.) Germplasm in South Serbia. *Braz. arch. biol. technol.* **2012**, *55* (3), 349–358. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000300004>.
- (4) Jakobek, L.; García-Villalba, R.; Tomás-Barberán, F. A. Polyphenolic Characterisation of Old Local Apple Varieties from Southeastern European Region. *Journal of Food Composition and Analysis* **2013**, *31* (2), 199–211. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.012>.
- (5) Mratinić, E.; Fotirić Akšić, M. Evaluation of Phenotypic Diversity of Apple (*Malus* Sp.) Germplasm Through the Principle Component Analysis. *Genetika* **2011**, *43* (2), 331–340. <https://doi.org/10.2298/GENSR1102331M>.
- (6) Jakobek, L.; Barron, A. R. Ancient Apple Varieties from Croatia as a Source of Bioactive Polyphenolic Compounds. *Journal of Food Composition and Analysis* **2016**, *45*, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.09.007>.
- (7) Bizjak Bat, K.; Eler, K.; Mazej, D.; Mozetič Vodopivec, B.; Mulič, I.; Kump, P.; Ogrinc, N. Isotopic and Elemental Characterisation of Slovenian Apple Juice According to Geographical Origin: Preliminary Results. *Food Chemistry* **2016**, *203*, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.039>.
- (8) Šavikin, K.; Živković, J.; Zdunić, G.; Gođevac, D.; Đorđević, B.; Dojčinović, B.; Đorđević, N. Phenolic and Mineral Profiles of Four Balkan Indigenous Apple Cultivars Monitored at Two Different Maturity Stages. *Journal of Food Composition and Analysis* **2014**, *35*, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.05.004>.
- (9) Challice, J. S. Rosaceae Chemotaxonomy and the Origins of the Pomoideae. *Botanical Journal of the Linnean Society* **1974**, *69* (4), 239–259. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1974.tb01629.x>.
- (10) Musacchi, S.; Serra, S. Apple Fruit Quality: Overview on Pre-Harvest Factors. *Scientia Horticulturae* **2018**, *234*, 409–430. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.057>.
- (11) Harris, S. A.; Robinson, J. P.; Juniper, B. E. Genetic Clues to the Origin of the Apple. *Trends in Genetics* **2002**, *18* (8), 426–430. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)02689-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)02689-6).
- (12) Vuković Vimić, A.; Vujadinović Mandić, M.; Fotirić Akšić, M.; Vukićević, K.; Meland, M. Climate Potential for Apple Growing in Norway—Part 1: Zoning of Areas with Heat Conditions Favorable for Apple Growing under Observed Climate Change. *Atmosphere* **2023**, *14* (6), 993. <https://doi.org/10.3390/atmos14060993>.
- (13) Pereira-Lorenzo, S.; Ramos-Cabrer, A. M.; Fischer, M. Breeding Apple (*Malus* x *Domestica* Borkh). In *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*; Springer New York: New York, NY, 2009; pp 33–81. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71203-1_2.
- (14) Patocka, J.; Bhardwaj, K.; Klimova, B.; Nepovimova, E.; Wu, Q.; Landi, M.; Kuca, K.; Valis, M.; Wu, W. *Malus Domestica*: A Review on Nutritional Features, Chemical Composition, Traditional and Medicinal Value. *Plants* **2020**, *9* (11), 1408. <https://doi.org/10.3390/plants9111408>.
- (15) Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Crops and Livestock Products, 2025. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (accessed 2025-05-28).
- (16) Arnold, M.; Gramza-Michalowska, A. Recent Development on the Chemical Composition and Phenolic Extraction Methods of Apple (*Malus Domestica*)—A Review. *Food Bioprocess Technol* **2024**, *17* (9), 2519–2560. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03208-9>.

- (17) Đurović, D. *Posebno Voćarstvo I - Jabučaste Voćke*; Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet: Beograd, 2021.
- (18) Meland, M.; Aksic, M. F.; Frøynes, O.; Konjic, A.; Lasic, L.; Pojskic, N.; Gasi, F. Genetic Identity and Diversity of Apple Accessions within a Candidate Collection for the Norwegian National Clonal Germplasm Repository. *Horticulturae* **2022**, *8* (7), 630. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070630>.
- (19) Jäger, S.; Trojan, H.; Kopp, T.; Laszczyk, M.; Scheffler, A. Pentacyclic Triterpene Distribution in Various Plants – Rich Sources for a New Group of Multi-Potent Plant Extracts. *Molecules* **2009**, *14* (6), 2016–2031. <https://doi.org/10.3390/molecules14062016>.
- (20) Petkovsek, M. M.; Stampar, F.; Veberic, R. Parameters of Inner Quality of the Apple Scab Resistant and Susceptible Apple Cultivars (*Malus Domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae* **2007**, *114* (1), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.05.004>.
- (21) Wojdyło, A.; Oszmiański, J.; Laskowski, P. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of New and Old Apple Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56* (15), 6520–6530. <https://doi.org/10.1021/jf800510j>.
- (22) Meike, R.; Dean, D. L.; Baird, T. Understanding Apple Attribute Preferences of US Consumers. *Foods* **2022**, *11* (2), 166. <https://doi.org/10.3390/foods11020166>.
- (23) Tschida, A.; Stadlbauer, V.; Schwarzwinger, B.; Maier, M.; Pitsch, J.; Stübl, F.; Müller, U.; Lanzerstorfer, P.; Himmelsbach, M.; Wruss, J.; Klanert, G.; Schurr, J.; Wurm, L.; Rosner, F.; Höglinger, O.; Winkler, S.; Weghuber, J. Nutrients, Bioactive Compounds, and Minerals in the Juices of 16 Varieties of Apple (*Malus Domestica*) Harvested in Austria: A Four-Year Study Investigating Putative Correlations with Weather Conditions during Ripening. *Food Chemistry* **2021**, *338*, 128065. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128065>.
- (24) Aprea, E.; Charles, M.; Endrizzi, I.; Laura Corollaro, M.; Betta, E.; Biasioli, F.; Gasperi, F. Sweet Taste in Apple: The Role of Sorbitol, Individual Sugars, Organic Acids and Volatile Compounds. *Sci Rep* **2017**, *7* (1), 44950. <https://doi.org/10.1038/srep44950>.
- (25) Li, Y.; Sun, H.; Li, J.; Qin, S.; Yang, W.; Ma, X.; Qiao, X.; Yang, B. Effects of Genetic Background and Altitude on Sugars, Malic Acid and Ascorbic Acid in Fruits of Wild and Cultivated Apples (*Malus* Sp.). *Foods* **2021**, *10* (12), 2950. <https://doi.org/10.3390/foods10122950>.
- (26) Le Bourvellec, C.; Bouzerzour, K.; Ginies, C.; Regis, S.; Plé, Y.; Renard, C. M. G. C. Phenolic and Polysaccharidic Composition of Applesauce Is Close to That of Apple Flesh. *Journal of Food Composition and Analysis* **2011**, *24* (4–5), 537–547. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.12.012>.
- (27) Berüter, J.; Feusi, M. E. S.; Rüedi, P. Sorbitol and Sucrose Partitioning in the Growing Apple Fruit. *Journal of Plant Physiology* **1997**, *151* (3), 269–276. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(97\)80252-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80252-0).
- (28) Ma, B.; Yuan, Y.; Gao, M.; Li, C.; Ogutu, C.; Li, M.; Ma, F. Determination of Predominant Organic Acid Components in *Malus* Species: Correlation with Apple Domestication. *Metabolites* **2018**, *8* (4), 74. <https://doi.org/10.3390/metabo8040074>.
- (29) Sweetman, C.; Deluc, L. G.; Cramer, G. R.; Ford, C. M.; Soole, K. L. Regulation of Malate Metabolism in Grape Berry and Other Developing Fruits. *Phytochemistry* **2009**, *70* (11–12), 1329–1344. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.08.006>.
- (30) Fotirić Akšić, M.; Mutić, J.; Tešić, Ž.; Meland, M. Evaluation of Fruit Mineral Contents of Two Apple Cultivars Grown in Organic and Integrated Production Systems. *Acta Hort.* **2020**, No. 1281. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1281.10>.
- (31) Sanoner, P.; Guyot, S.; Marnet, N.; Molle, D.; Drilleau, J.-F. Polyphenol Profiles of French Cider Apple Varieties (*Malus Domestica* Sp.). *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47* (12), 4847–4853. <https://doi.org/10.1021/jf990563y>.

- (32) Yuste, S.; Macià, A.; Motilva, M.-J.; Prieto-Diez, N.; Romero, M.-P.; Pedret, A.; Solà, R.; Ludwig, I. A.; Rubió, L. Thermal and Non-Thermal Processing of Red-Fleshed Apple: How Are (Poly)Phenol Composition and Bioavailability Affected? *Food Funct.* **2020**, *11* (12), 10436–10447. <https://doi.org/10.1039/D0FO02631J>.
- (33) Ignat, I.; Volf, I.; Popa, V. I. A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables. *Food Chemistry* **2011**, *126* (4), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>.
- (34) Motilva, M.-J.; Serra, A.; Macià, A. Analysis of Food Polyphenols by Ultra High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry: An Overview. *Journal of Chromatography A* **2013**, *1292*, 66–82. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.01.012>.
- (35) Vogt, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant* **2010**, *3* (1), 2–20. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>.
- (36) Kschonsek, J.; Wolfram, T.; Stöckl, A.; Böhm, V. Polyphenolic Compounds Analysis of Old and New Apple Cultivars and Contribution of Polyphenolic Profile to the In Vitro Antioxidant Capacity. *Antioxidants* **2018**, *7* (1), 20. <https://doi.org/10.3390/antiox7010020>.
- (37) Liaudanskas, M.; Viškelis, P.; Raudonis, R.; Kviklys, D.; Uselis, N.; Janulis, V. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of *Malus Domestica* Leaves. *The Scientific World Journal* **2014**, *2014*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/306217>.
- (38) Wojdyło, A.; Oszmiański, J. Antioxidant Activity Modulated by Polyphenol Contents in Apple and Leaves during Fruit Development and Ripening. *Antioxidants* **2020**, *9* (7), 567. <https://doi.org/10.3390/antiox9070567>.
- (39) Gosch, C.; Halbwirth, H.; Kuhn, J.; Miosic, S.; Stich, K. Biosynthesis of Phloridzin in Apple (*Malus Domestica* Borkh.). *Plant Science* **2009**, *176* (2), 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.10.011>.
- (40) Clifford, M. N.; Jaganath, I. B.; Ludwig, I. A.; Crozier, A. Chlorogenic Acids and the Acyl-Quinic Acids: Discovery, Biosynthesis, Bioavailability and Bioactivity. *Nat. Prod. Rep.* **2017**, *34* (12), 1391–1421. <https://doi.org/10.1039/C7NP00030H>.
- (41) Abrankó, L.; Clifford, M. N. An Unambiguous Nomenclature for the Acyl-Quinic Acids Commonly Known as Chlorogenic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65* (18), 3602–3608. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00729>.
- (42) Khan, F.; Bamunuarachchi, N. I.; Tabassum, N.; Kim, Y.-M. Caffeic Acid and Its Derivatives: Antimicrobial Drugs toward Microbial Pathogens. *J. Agric. Food Chem.* **2021**, *69* (10), 2979–3004. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07579>.
- (43) Maisto, M.; Piccolo, V.; Novellino, E.; Schiano, E.; Iannuzzo, F.; Ciampaglia, R.; Summa, V.; Tenore, G. C. Optimization of Phlorizin Extraction from Annurca Apple Tree Leaves Using Response Surface Methodology. *Antioxidants* **2022**, *11* (10), 1933. <https://doi.org/10.3390/antiox11101933>.
- (44) Oszmiański, J.; Lachowicz, S.; Gławdel, E.; Cebulak, T.; Ochmian, I. Determination of Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of 22 Old Apple Cultivars Grown in Poland. *Eur Food Res Technol* **2018**, *244* (4), 647–662. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2989-9>.
- (45) Ehrenkranz, J. R. L.; Lewis, N. G.; Ronald Kahn, C.; Roth, J. Phlorizin: A Review. *Diabetes Metabolism Res* **2005**, *21* (1), 31–38. <https://doi.org/10.1002/dmrr.532>.
- (46) Heldt, H.-W.; Piechulla, B. *Plant Biochemistry*, 4th ed.; Academic: Amsterdam : Boston, [Mass.], 2011. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63188-3>.
- (47) Bernfeld, P. *Biogenesis of Natural Compounds*, 2nd ed. [revised].; Pergamon Press: Oxford London, 1963.
- (48) Yamaguchi, H.; Noshita, T.; Kidachi, Y.; Umetsu, H.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Funayama, S.; Ryoyama, K. Isolation of Ursolic Acid from Apple Peels and Its Specific Efficacy as a Potent Antitumor Agent. *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE* **2008**, *54* (6), 654–660. <https://doi.org/10.1248/jhs.54.654>.

- (49) He, X.; Liu, R. H. Triterpenoids Isolated from Apple Peels Have Potent Antiproliferative Activity and May Be Partially Responsible for Apple's Anticancer Activity. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55* (11), 4366–4370. <https://doi.org/10.1021/jf063563o>.
- (50) Poirier, B. C.; Buchanan, D. A.; Rudell, D. R.; Mattheis, J. P. Differential Partitioning of Triterpenes and Triterpene Esters in Apple Peel. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66* (8), 1800–1806. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04509>.
- (51) Aprea, E.; Corollaro, M. L.; Betta, E.; Endrizzi, I.; Demattè, M. L.; Biasioli, F.; Gasperi, F. Sensory and Instrumental Profiling of 18 Apple Cultivars to Investigate the Relation between Perceived Quality and Odour and Flavour. *Food Research International* **2012**, *49* (2), 677–686. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.023>.
- (52) Matich, A. J.; Rowan, D. D.; Banks, N. H. Solid Phase Microextraction for Quantitative Headspace Sampling of Apple Volatiles. *Anal. Chem.* **1996**, *68* (23), 4114–4118. <https://doi.org/10.1021/ac9604548>.
- (53) Qin, L.; Wei, Q.-P.; Kang, W.-H.; Zhang, Q.; Sun, J.; Liu, S.-Z. Comparison of Volatile Compounds in 'Fuji' Apples in the Different Regions in China. *FSTR* **2017**, *23* (1), 79–89. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.79>.
- (54) Liu, X.; Deng, J.; Bi, J.; Wu, X.; Zhang, B. Cultivar Classification of Cloudy Apple Juices from Substandard Fruits in China Based on Aroma Profile Analyzed by HS-SPME/GC-MS. *LWT* **2019**, *102*, 304–309. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.043>.
- (55) Fromm, M.; Bayha, S.; Carle, R.; Kammerer, D. R. Comparison of Fatty Acid Profiles and Contents of Seed Oils Recovered from Dessert and Cider Apples and Further Rosaceous Plants. *Eur Food Res Technol* **2012**, *234* (6), 1033–1041. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1709-8>.
- (56) Górnaś, P.; Rudzińska, M.; Segliņa, D. Lipophilic Composition of Eleven Apple Seed Oils: A Promising Source of Unconventional Oil from Industry by-Products. *Industrial Crops and Products* **2014**, *60*, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.003>.
- (57) Górnaś, P.; Symoniuk, E.; Soliven, A. Reversed Phase HPLC with UHPLC Benefits for the Determination of Tocochromanols in the Seeds of Edible Fruits in the Rosaceae Family. *Food Chemistry* **2024**, *460*, 140789. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140789>.
- (58) Acquavia, M.; Pascale, R.; Foti, L.; Carlucci, G.; Scrano, L.; Martelli, G.; Brienza, M.; Coviello, D.; Bianco, G.; Lelario, F. Analytical Methods for Extraction and Identification of Primary and Secondary Metabolites of Apple (*Malus Domestica*) Fruits: A Review. *Separations* **2021**, *8* (7), 91. <https://doi.org/10.3390/separations8070091>.
- (59) Lucci, P.; Saurina, J.; Núñez, O. Trends in LC-MS and LC-HRMS Analysis and Characterization of Polyphenols in Food. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2017**, *88*, 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.12.006>.
- (60) Morlock, G.; Schwack, W. Hyphenations in Planar Chromatography. *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217* (43), 6600–6609. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.04.058>.
- (61) Naczki, M.; Shahidi, F. Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables: Occurrence, Extraction and Analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2006**, *41* (5), 1523–1542. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>.
- (62) Skoog, D.; West, D. *Principles of Instrumental Analysis*, 2nd ed.; Saunders College: Philadelphia, 1980.
- (63) Magalhães, L. M.; Segundo, M. A.; Reis, S.; Lima, J. L. F. C. Methodological Aspects about in Vitro Evaluation of Antioxidant Properties. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *613* (1), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>.
- (64) Pérez, M.; Domínguez-López, I.; Lamuela-Raventós, R. M. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)Phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *J. Agric. Food Chem.* **2023**, *71* (46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>.

- (65) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* **1995**, 28 (1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- (66) Natić, M.; Dabić Zagorac, D.; Gašić, U.; Dojčinović, B.; Ćirić, I.; Relić, D.; Todić, S.; Sredojević, M. Autochthonous and International Grape Varieties Grown in Serbia - Phenolic and Elemental Composition. *Food Bioscience* **2021**, 40, 100889. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100889>.
- (67) Robards, K.; Jackson, P. E.; Haddad, P. R. *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*; Elsevier, 2004. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-21323-7>.
- (68) Wilson, I. D.; Poole, C. F. Planar Chromatography – Current Practice and Future Prospects. *Journal of Chromatography B* **2023**, 1214, 123553. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123553>.
- (69) Hamburger, M. O.; Cordell, G. A. A Direct Bioautographic Tlc Assay for Compounds Possessing Antibacterial Activity. *J. Nat. Prod.* **1987**, 50 (1), 19–22. <https://doi.org/10.1021/np50049a003>.
- (70) Cataldi, T. R. I.; Campa, C.; De Benedetto, G. E. Carbohydrate Analysis by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection: The Potential Is Still Growing. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **2000**, 368 (8), 739–758. <https://doi.org/10.1007/s002160000588>.
- (71) Filip, M.; Vlassa, M.; Coman, V.; Halmagyi, A. Simultaneous Determination of Glucose, Fructose, Sucrose and Sorbitol in the Leaf and Fruit Peel of Different Apple Cultivars by the HPLC–RI Optimized Method. *Food Chemistry* **2016**, 199, 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.060>.
- (72) Guadalupe, Z.; Martínez-Pinilla, O.; Garrido, Á.; Carrillo, J. D.; Ayestarán, B. Quantitative Determination of Wine Polysaccharides by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS) and Size Exclusion Chromatography (SEC). *Food Chemistry* **2012**, 131 (1), 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.049>.
- (73) Martínez Montero, C.; Rodríguez Dodero, M. C.; Guillén Sánchez, D. A.; Barroso, C. G. Analysis of Low Molecular Weight Carbohydrates in Food and Beverages: A Review. *Chromatographia* **2004**, 59 (1–2), 15–30. <https://doi.org/10.1365/s10337-003-0134-3>.
- (74) Márquez-Sillero, I.; Cárdenas, S.; Valcárcel, M. Comparison of Two Evaporative Universal Detectors for the Determination of Sugars in Food Samples by Liquid Chromatography. *Microchemical Journal* **2013**, 110, 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.07.008>.
- (75) Johnson, D. C.; LaCourse, W. R. Liquid Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection at Gold and Platinum Electrodes. *Anal. Chem.* **1990**, 62 (10), 589A–597A. <https://doi.org/10.1021/ac00209a715>.
- (76) Larew, L. A.; Johnson, D. C. Concentration Dependence of the Mechanism of Glucose Oxidation at Gold Electrodes in Alkaline Media. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1989**, 262 (1–2), 167–182. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(89\)80020-8](https://doi.org/10.1016/0022-0728(89)80020-8).
- (77) Hajós, P.; Nagy, L. Retention Behaviours and Separation of Carboxylic Acids by Ion-Exchange Chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **1998**, 717 (1–2), 27–38. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(98\)00247-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(98)00247-3).
- (78) Mukherjee, P. S.; Karnes, H. T. Ultraviolet and Fluorescence Derivatization Reagents for Carboxylic Acids Suitable for High Performance Liquid Chromatography: A Review. *Biomed. Chromatogr.* **1996**, 10 (5), 193–204. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0801\(199609\)10:5<193::AID-BMC591>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0801(199609)10:5<193::AID-BMC591>3.0.CO;2-B).
- (79) Butkeviciute, A.; Viskelis, J.; Liaudanskas, M.; Viskelis, P.; Bobinas, C.; Janulis, V. Variation of Triterpenes in Apples Stored in a Controlled Atmosphere. *Molecules* **2021**, 26 (12), 3639. <https://doi.org/10.3390/molecules26123639>.

- (80) Jemmali, Z.; Chartier, A.; Dufresne, C.; Elfakir, C. Optimization of the Derivatization Protocol of Pentacyclic Triterpenes Prior to Their Gas Chromatography–Mass Spectrometry Analysis in Plant Extracts. *Talanta* **2016**, *147*, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.026>.
- (81) Boss, C. B.; Fredeen, K. J. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*; PerkinElmer Instruments, 2004.
- (82) Douvris, C.; Vaughan, T.; Bussan, D.; Bartzas, G.; Thomas, R. How ICP-OES Changed the Face of Trace Element Analysis: Review of the Global Application Landscape. *Science of The Total Environment* **2023**, *905*, 167242. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167242>.
- (83) Chatfield, C. Exploratory Data Analysis. *European Journal of Operational Research* **1986**, *23* (1), 5–13. [https://doi.org/10.1016/0377-2217\(86\)90209-2](https://doi.org/10.1016/0377-2217(86)90209-2).
- (84) Miller, J. N.; Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th ed.; Prentice Hall/Pearson: Harlow, 2010.
- (85) Andrić, F.; Trifković, J. *Osnove Obrade Podataka u Hemiji*; Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet: Beograd, 2023.
- (86) Ståhle, L.; Wold, S. Multivariate Analysis of Variance (MANOVA). *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1990**, *9* (2), 127–141. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(90\)80094-M](https://doi.org/10.1016/0169-7439(90)80094-M).
- (87) Krzanowski, W. J. Multivariate Analysis: Overview. In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*; Kenett, R. S., Longford, N. T., Piegorsch, W. W., Ruggeri, F., Eds.; Wiley, 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat06467>.
- (88) Percival, B.; Gibson, M.; Leenders, J.; Wilson, P. B.; Grootveld, M. Univariate and Multivariate Statistical Approaches to the Analysis and Interpretation of NMR-Based Metabolomics Datasets of Increasing Complexity. In *Computational Techniques for Analytical Chemistry and Bioanalysis*; Wilson, P. B., Grootveld, M., Eds.; The Royal Society of Chemistry, 2020; pp 1–40. <https://doi.org/10.1039/9781788015882-00001>.
- (89) Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P. Principal Component Analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1987**, *2* (1–3), 37–52. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(87\)80084-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(87)80084-9).
- (90) Berrueta, L. A.; Alonso-Salces, R. M.; Héberger, K. Supervised Pattern Recognition in Food Analysis. *Journal of Chromatography A* **2007**, *1158* (1–2), 196–214. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.05.024>.
- (91) Skov, T.; Van Den Berg, F.; Tomasi, G.; Bro, R. Automated Alignment of Chromatographic Data. *Journal of Chemometrics* **2006**, *20* (11–12), 484–497. <https://doi.org/10.1002/cem.1031>.
- (92) Ristivojević, P.; Trifković, J.; Vovk, I.; Milojković-Opsenica, D. Comparative Study of Different Approaches for Multivariate Image Analysis in HPTLC Fingerprinting of Natural Products Such as Plant Resin. *Talanta* **2017**, *162*, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.023>.
- (93) Liland, K. H. 4S Peak Filling – Baseline Estimation by Iterative Mean Suppression. *MethodsX* **2015**, *2*, 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2015.02.009>.
- (94) Bloemberg, T. G.; Gerretzen, J.; Lunshof, A.; Wehrens, R.; Buydens, L. M. C. Warping Methods for Spectroscopic and Chromatographic Signal Alignment: A Tutorial. *Analytica Chimica Acta* **2013**, *781*, 14–32. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.03.048>.
- (95) Gad, H. A.; El-Ahmady, S. H.; Abou-Shoer, M. I.; Al-Azizi, M. M. Application of Chemometrics in Authentication of Herbal Medicines: A Review. *Phytochemical Analysis* **2013**, *24* (1), 1–24. <https://doi.org/10.1002/pca.2378>.
- (96) Tomasi, G.; Van Den Berg, F.; Andersson, C. Correlation Optimized Warping and Dynamic Time Warping as Preprocessing Methods for Chromatographic Data. *Journal of Chemometrics* **2004**, *18* (5), 231–241. <https://doi.org/10.1002/cem.859>.

- (97) Fotirić Akšić, M. M.; Dabić, D. Č.; Gašić, U. M.; Zec, G. N.; Vulić, T. B.; Tešić, Ž. Lj.; Natić, M. M. Polyphenolic Profile of Pear Leaves with Different Resistance to Pear Psylla (*Cacopsylla Pyri*). *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (34), 7476–7486. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03394>.
- (98) Natić, M. M.; Dabić, D. Č.; Papetti, A.; Fotirić Akšić, M. M.; Ognjanov, V.; Ljubojević, M.; Tešić, Ž. Lj. Analysis and Characterisation of Phytochemicals in Mulberry (*Morus Alba* L.) Fruits Grown in Vojvodina, North Serbia. *Food Chemistry* **2015**, *171*, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.101>.
- (99) Dramićanin, A. M.; Andrić, F. Lj.; Poštić, D. Ž.; Momirović, N. M.; Milojković-Opsenica, D. M. Sugar Profiles as a Promising Tool in Tracing Differences between Potato Cultivation Systems, Botanical Origin and Climate Conditions. *Journal of Food Composition and Analysis* **2018**, *72*, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.06.005>.
- (100) Pavlović, A. V.; Dabić, D. Č.; Momirović, N. M.; Dojčinović, B. P.; Milojković-Opsenica, D. M.; Tešić, Ž. Lj.; Natić, M. M. Chemical Composition of Two Different Extracts of Berries Harvested in Serbia. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61* (17), 4188–4194. <https://doi.org/10.1021/jf400607f>.
- (101) Dramićanin, A.; Andrić, F.; Mutić, J.; Stanković, V.; Momirović, N.; Milojković-Opsenica, D. Content and Distribution of Major and Trace Elements as a Tool to Assess the Genotypes, Harvesting Time, and Cultivation Systems of Potato. *Food Chemistry* **2021**, *354*, 129507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129507>.
- (102) Gašić, U. M.; Natić, M. M.; Mišić, D. M.; Lušić, D. V.; Milojković-Opsenica, D. M.; Tešić, Ž. Lj.; Lušić, D. Chemical Markers for the Authentication of Unifloral *Salvia Officinalis* L. Honey. *Journal of Food Composition and Analysis* **2015**, *44*, 128–138. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.08.008>.
- (103) Pavlović, A. V.; Papetti, A.; Zagorac, D. Č. D.; Gašić, U. M.; Mišić, D. M.; Tešić, Ž. Lj.; Natić, M. M. Phenolics Composition of Leaf Extracts of Raspberry and Blackberry Cultivars Grown in Serbia. *Industrial Crops and Products* **2016**, *87*, 304–314. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.052>.
- (104) Kečkeš, S.; Gašić, U.; Veličković, T. Č.; Milojković-Opsenica, D.; Natić, M.; Tešić, Ž. The Determination of Phenolic Profiles of Serbian Unifloral Honeys Using Ultra-High-Performance Liquid Chromatography/High Resolution Accurate Mass Spectrometry. *Food Chemistry* **2013**, *138* (1), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.025>.
- (105) Gašić, U.; Kečkeš, S.; Dabić, D.; Trifković, J.; Milojković-Opsenica, D.; Natić, M.; Tešić, Ž. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Serbian Polyfloral Honeys. *Food Chemistry* **2014**, *145*, 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.088>.
- (106) Milinčić, D. D.; Vidović, B. B.; Gašić, U. M.; Milenković, M.; Kostić, A. Ž.; Stanojević, S. P.; Ilić, T.; Pešić, M. B. A Systematic UHPLC Q-ToF MS Approach for the Characterization of Bioactive Compounds from Freeze-Dried Red Goji Berries (*L. Barbarum* L.) Grown in Serbia: Phenolic Compounds and Phenylamides. *Food Chemistry* **2024**, *456*, 140044. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140044>.
- (107) Cebulj, A.; Cunja, V.; Mikulić-Petkovšek, M.; Veberic, R. Importance of Metabolite Distribution in Apple Fruit. *Scientia Horticulturae* **2017**, *214*, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.048>.
- (108) Hecke, K.; Herbinger, K.; Veberič, R.; Trobec, M.; Toplak, H.; Štampar, F.; Keppel, H.; Grill, D. Sugar-, Acid- and Phenol Contents in Apple Cultivars from Organic and Integrated Fruit Cultivation. *Eur J Clin Nutr* **2006**, *60* (9), 1136–1140. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602430>.
- (109) Cebulj, A.; Mikulić-Petkovšek, M.; Veberič, R.; Jakopic, J. Effect of Spring Frost Damage on Apple Fruit (*Malus Domestica* Borkh.) Inner Quality at Harvest. *Agriculture* **2021**, *12* (1), 14. <https://doi.org/10.3390/agriculture12010014>.

- (110) Huang, X.-Y.; Wang, C.-K.; Zhao, Y.-W.; Sun, C.-H.; Hu, D.-G. Mechanisms and Regulation of Organic Acid Accumulation in Plant Vacuoles. *Hortic Res* **2021**, *8* (1), 227. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00702-z>.
- (111) Etienne, A.; Génard, M.; Lobit, P.; Mbéguié-A-Mbéguié, D.; Bugaud, C. What Controls Fleshy Fruit Acidity? A Review of Malate and Citrate Accumulation in Fruit Cells. *Journal of Experimental Botany* **2013**, *64* (6), 1451–1469. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert035>.
- (112) Igamberdiev, A. U.; Eprintsev, A. T. Organic Acids: The Pools of Fixed Carbon Involved in Redox Regulation and Energy Balance in Higher Plants. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01042>.
- (113) Selinski, J.; Scheibe, R. Malate Valves: Old Shuttles with New Perspectives. *Plant Biol J* **2019**, *21* (S1), 21–30. <https://doi.org/10.1111/plb.12869>.
- (114) Berüter, J. Carbohydrate Metabolism in Two Apple Genotypes That Differ in Malate Accumulation. *Journal of Plant Physiology* **2004**, *161* (9), 1011–1029. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2003.12.008>.
- (115) Carrington, Y.; Guo, J.; Le, C. H.; Fillo, A.; Kwon, J.; Tran, L. T.; Ehltling, J. Evolution of a Secondary Metabolic Pathway from Primary Metabolism: Shikimate and Quinate Biosynthesis in Plants. *The Plant Journal* **2018**, *95* (5), 823–833. <https://doi.org/10.1111/tpj.13990>.
- (116) Krasensky, J.; Jonak, C. Drought, Salt, and Temperature Stress-Induced Metabolic Rearrangements and Regulatory Networks. *Journal of Experimental Botany* **2012**, *63* (4), 1593–1608. <https://doi.org/10.1093/jxb/err460>.
- (117) Zupan, A.; Mikulic-Petkovsek, M.; Stampar, F.; Veberic, R. Sugar and Phenol Content in Apple with or without Watercore: Effect of Watercore on Apple Phenols and Sugars. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, *96* (8), 2845–2850. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7453>.
- (118) Keunen, E.; Peshev, D.; Vangronsveld, J.; Van Den Ende, W.; Cuypers, A. Plant Sugars Are Crucial Players in the Oxidative Challenge during Abiotic Stress: Extending the Traditional Concept. *Plant Cell & Environment* **2013**, *36* (7), 1242–1255. <https://doi.org/10.1111/pce.12061>.
- (119) Yamada, K.; Osakabe, Y. Sugar Compartmentation as an Environmental Stress Adaptation Strategy in Plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology* **2018**, *83*, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.12.015>.
- (120) Tian, Y.; Deng, Y.; Zhang, W.; Mu, W. Sucrose Isomers as Alternative Sweeteners: Properties, Production, and Applications. *Appl Microbiol Biotechnol* **2019**, *103* (21–22), 8677–8687. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10132-6>.
- (121) Park, Y.; Oh, I. K.; Park, S. W.; Ryu, K.; Lee, S. Elucidation of Rheological, Microstructural, Water Mobility, and Noodle-Making Properties of Rice Flour Affected by Turanose. *Food Chemistry* **2019**, *276*, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.168>.
- (122) Šircelj, H.; Tausz, M.; Grill, D.; Batič, F. Biochemical Responses in Leaves of Two Apple Tree Cultivars Subjected to Progressing Drought. *Journal of Plant Physiology* **2005**, *162* (12), 1308–1318. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.01.018>.
- (123) Vemmos, S. N. Carbohydrate Changes in Flowers, Leaves, Shoots and Spurs of ‘Cox’s Orange Pippin’ Apple during Flowering and Fruit Setting Periods. *Journal of Horticultural Science* **1995**, *70* (6), 889–900. <https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515364>.
- (124) Sivaci, A. Seasonal Changes of Total Carbohydrate Contents in Three Varieties of Apple (*Malus Sylvestris* Miller) Stem Cuttings. *Scientia Horticulturae* **2006**, *109* (3), 234–237. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.04.012>.
- (125) Nemeskéri, E.; Kovács-Nagy, E.; Nyéki, J.; Sárdi, É. Responses of Apple Tree Cultivars to Drought: Carbohydrate Composition in the Leaves. *Turk J Agric For* **2015**, *39*, 949–957. <https://doi.org/10.3906/tar-1409-154>.
- (126) Wang, Z.; Stutte, G. W. The Role of Carbohydrates in Active Osmotic Adjustment in Apple under Water Stress. *Jashs* **1992**, *117* (5), 816–823. <https://doi.org/10.21273/jashs.117.5.816>.

- (127) Li, T. H.; Li, S. H. Leaf Responses of Micropropagated Apple Plants to Water Stress: Nonstructural Carbohydrate Composition and Regulatory Role of Metabolic Enzymes. *Tree Physiology* **2005**, *25* (4), 495–504. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.4.495>.
- (128) Wojdyło, A.; Nowicka, P.; Turkiewicz, I. P.; Tkacz, K.; Hernandez, F. Comparison of Bioactive Compounds and Health Promoting Properties of Fruits and Leaves of Apple, Pear and Quince. *Sci Rep* **2021**, *11* (1), 20253. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99293-x>.
- (129) Hänsch, R.; Mendel, R. R. Physiological Functions of Mineral Micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* **2009**, *12* (3), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006>.
- (130) Krstić, Đ.; Vukojević, V.; Mutić, J.; Fotirić Akšić, M.; Ličina, V.; Milojković-Opsenica, D.; Trifković, J. Distribution of Elements in Seeds of Some Wild and Cultivated Fruits. Nutrition and Authenticity Aspects: Distribution of Elements in Seeds of Some Wild and Cultivated Fruits. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99* (2), 546–554. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9213>.
- (131) Juranović Cindrić, I.; Krizman, I.; Zeiner, M.; Kampić, Š.; Medunić, G.; Stinger, G. ICP-AES Determination of Minor- and Major Elements in Apples after Microwave Assisted Digestion. *Food Chemistry* **2012**, *135* (4), 2675–2680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.051>.
- (132) Preti, R.; Tarola, A. M. Study of Polyphenols, Antioxidant Capacity and Minerals for the Valorisation of Ancient Apple Cultivars from Northeast Italy. *Eur Food Res Technol* **2021**, *247* (1), 273–283. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03624-7>.
- (133) Polat, D.; Yıldırım, F.; Yıldırım, A. N. Identification of Minerals in Leaves of 14 Apple Rootstocks in Stool Bed Condition. *Erwerbs-Obstbau* **2020**, *62* (1), 77–81. <https://doi.org/10.1007/s10341-019-00461-1>.
- (134) Kalinowska, M.; Bielawska, A.; Lewandowska-Siwkiewicz, H.; Priebe, W.; Lewandowski, W. Apples: Content of Phenolic Compounds vs. Variety, Part of Apple and Cultivation Model, Extraction of Phenolic Compounds, Biological Properties. *Plant Physiology and Biochemistry* **2014**, *84*, 169–188. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.09.006>.
- (135) Cheynier, V.; Comte, G.; Davies, K. M.; Lattanzio, V.; Martens, S. Plant Phenolics: Recent Advances on Their Biosynthesis, Genetics, and Ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry* **2013**, *72*, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>.
- (136) Khanizadeh, S.; Tsao, R.; Rekika, D.; Yang, R.; Charles, M. T.; Vasantha Rupasinghe, H. P. Polyphenol Composition and Total Antioxidant Capacity of Selected Apple Genotypes for Processing. *Journal of Food Composition and Analysis* **2008**, *21* (5), 396–401. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.03.004>.
- (137) Milosevic, T.; Milošević, N.; Miletić, N. Segregation of Apple Cultivars on the Basis of Main Fruit Physical and Chemical Properties and Antioxidant Activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **2023**, *47* (3), 412–426. <https://doi.org/10.55730/1300-011X.3097>.
- (138) Łata, B.; Trampczynska, A.; Paczesna, J. Cultivar Variation in Apple Peel and Whole Fruit Phenolic Composition. *Scientia Horticulturae* **2009**, *121* (2), 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.01.038>.
- (139) Raudone, L.; Raudonis, R.; Liaudanskas, M.; Janulis, V.; Viskelis, P. Phenolic Antioxidant Profiles in the Whole Fruit, Flesh and Peel of Apple Cultivars Grown in Lithuania. *Sci. Hort.* **2017**, *216*, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.005>.
- (140) Feng, S.; Yi, J.; Li, X.; Wu, X.; Zhao, Y.; Ma, Y.; Bi, J. Systematic Review of Phenolic Compounds in Apple Fruits: Compositions, Distribution, Absorption, Metabolism, and Processing Stability. *J. Agric. Food Chem.* **2021**, *69* (1), 7–27. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05481>.
- (141) Lu, Y.; Du, Y.; Qin, X.; Wu, H.; Huang, Y.; Cheng, Y.; Wei, Y. Comprehensive Evaluation of Effective Polyphenols in Apple Leaves and Their Combinatory Antioxidant and Neuroprotective Activities. *Industrial Crops and Products* **2019**, *129*, 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.013>.

- (142) Rana, S.; Kumar, S.; Rana, A.; Sharma, V.; Katoch, P.; Padwad, Y.; Bhushan, S. Phenolic Constituents from Apple Tree Leaves and Their in Vitro Biological Activity. *Industrial Crops and Products* **2016**, *90*, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.027>.
- (143) Mikulic Petkovsek, M.; Slatnar, A.; Stampar, F.; Veberic, R. Phenolic Compounds in Apple Leaves after Infection with Apple Scab. *Biologia plant.* **2011**, *55* (4). <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0176-6>.
- (144) Zupan, A.; Mikulic-Petkovsek, M.; Slatnar, A.; Stampar, F.; Veberic, R. Individual Phenolic Response and Peroxidase Activity in Peel of Differently Sun-Exposed Apples in the Period Favorable for Sunburn Occurrence. *Journal of Plant Physiology* **2014**, *171* (18), 1706–1712. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.010>.
- (145) Drogoudi, P. D.; Pantelidis, G. Effects of Position on Canopy and Harvest Time on Fruit Physico-Chemical and Antioxidant Properties in Different Apple Cultivars. *Scientia Horticulturae* **2011**, *129* (4), 752–760. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.036>.
- (146) Treutter, D. Biosynthesis of Phenolic Compounds and Its Regulation in Apple. *Plant Growth Regulation* **2001**, *34* (1), 71–89. <https://doi.org/10.1023/A:1013378702940>.
- (147) Naish, M.; Clifford, M. N.; Birch, G. G. Sensory Astringency of 5-O-Caffeoylquinic Acid, Tannic Acid and Grape-Seed Tannin by a Time-Intensity Procedure. *J. Sci. Food Agric.* **1993**, *61* (1), 57–64. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610110>.
- (148) Marks, S. C.; Mullen, W.; Crozier, A. Flavonoid and Chlorogenic Acid Profiles of English Cider Apples. *J. Sci. Food Agric.* **2007**, *87* (4), 719–728. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2778>.
- (149) Vrhovsek, U.; Rigo, A.; Tonon, D.; Mattivi, F. Quantitation of Polyphenols in Different Apple Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (21), 6532–6538. <https://doi.org/10.1021/jf049317z>.
- (150) Belviso, S.; Scursatone, B.; Re, G.; Zeppa, G. Novel Data on the Polyphenol Composition of Italian Ancient Apple Cultivars. *null* **2013**, *16* (7), 1507–1515. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.599089>.
- (151) Mikulič Petkovšek, M.; Štampar, F.; Veberič, R. Accumulation of Phenolic Compounds in Apple in Response to Infection by the Scab Pathogen, *Venturia Inaequalis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **2009**, *74* (1), 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2009.09.003>.
- (152) Slatnar, A.; Mikulic Petkovsek, M.; Halbwirth, H.; Stampar, F.; Stich, K.; Veberic, R. Enzyme Activity of the Phenylpropanoid Pathway as a Response to Apple Scab Infection. *Annals of Applied Biology* **2010**, *156* (3), 449–456. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00402.x>.
- (153) De Paepe, D.; Valkenborg, D.; Noten, B.; Servaes, K.; Diels, L.; De Loose, M.; Van Droogenbroeck, B.; Voorspoels, S. Variability of the Phenolic Profiles in the Fruits from Old, Recent and New Apple Cultivars Cultivated in Belgium. *Metabolomics* **2015**, *11* (3), 739–752. <https://doi.org/10.1007/s11306-014-0730-2>.
- (154) Agatonovic-Kustrin, S.; Wong, S.; Dolzhenko, A. V.; Gegechkori, V.; Ku, H.; Tan, W. K.; Morton, D. W. Effect Directed Analysis of Bioactive Compounds in Leaf Extracts from Two *Salvia* Species by High-Performance Thin-Layer Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2023**, *227*, 115308. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115308>.
- (155) Wildner, A. C.; Ferreira, P. L.; Oliveira, S. S.; Gnoatto, S. B.; Bergold, A. M. Variation of Ursolic and Betulinic Acid in Five *Malus × Domestica* Clones from Southern Brazil. *J App Pharm Sci* **2018**, *8* (9), 158–165. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8922>.
- (156) Sowa, A.; Zgórk, G.; Szykuła, A.; Franiczek, R.; Żbikowska, B.; Gamian, A.; Sroka, Z. Analysis of Polyphenolic Compounds in Extracts from Leaves of Some *Malus Domestica* Cultivars: Antiradical and Antimicrobial Analysis of These Extracts. *BioMed Research International* **2016**, *2016*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2016/6705431>.

- (157) Mórnicz, Á. M.; Ott, P. G. Separation and Detection of Apricot Leaf Triterpenes by High-Performance Thin-Layer Chromatography Combined with Direct Bioautography and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2022**, *1675*, 463167. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463167>.
- (158) Skłodowska, M.; Mikiciński, A.; Wielanek, M.; Kuźniak, E.; Sobiczewski, P. Phenolic Profiles in Apple Leaves and the Efficacy of Selected Phenols against Fire Blight (*Erwinia Amylovora*). *Eur J Plant Pathol* **2017**. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1368-5>.
- (159) Alberto, M. R.; Rinsdahl Canavosio, M. A.; Manca De Nadra, M. C. Antimicrobial Effect of Polyphenols from Apple Skins on Human Bacterial Pathogens. *Electron. J. Biotechnol.* **2006**, *9* (3), 0–0. <https://doi.org/10.2225/vol9-issue3-fulltext-1>.
- (160) Butkevičiūtė, A.; Janulis, V.; Kviklys, D. Triterpene Content in Flesh and Peel of Apples Grown on Different Rootstocks. *Plants* **2022**, *11* (9), 1247. <https://doi.org/10.3390/plants11091247>.
- (161) Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological Effects of Essential Oils – A Review. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, *46* (2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- (162) Cushnie, T. P. T.; Lamb, A. J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* **2005**, *26* (5), 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.
- (163) Jaiswal, R.; Kuhnert, N. How to Identify and Discriminate between the Methyl Quinates of Chlorogenic Acids by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **2011**, *46* (3), 269–281. <https://doi.org/10.1002/jms.1889>.
- (164) Kim, I.; Ku, K.; Jeong, M.; Kim, S. S.; Mitchell, A. E.; Lee, J. A Comparison of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Several New Early- to Mid-season Apple Cultivars for a Warmer Climate with Traditional Cultivars. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99* (10), 4712–4724. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9712>.
- (165) Li, H.; Subbiah, V.; Barrow, C. J.; Dunshea, F. R.; Suleria, H. A. R. Phenolic Profiling of Five Different Australian Grown Apples. *Applied Sciences* **2021**, *11* (5), 2421. <https://doi.org/10.3390/app11052421>.
- (166) Fotirić Akšić, M.; Dabić Zagorac, D.; Sredojević, M.; Milivojević, J.; Gašić, U.; Meland, M.; Natić, M. Chemometric Characterization of Strawberries and Blueberries According to Their Phenolic Profile: Combined Effect of Cultivar and Cultivation System. *Molecules* **2019**, *24* (23), 4310. <https://doi.org/10.3390/molecules24234310>.
- (167) Navarro-Hoyos, M.; Arnáez-Serrano, E.; Quesada-Mora, S.; Azofeifa-Cordero, G.; Wilhelm-Romero, K.; Quirós-Fallas, M. I.; Alvarado-Corella, D.; Vargas-Huertas, F.; Sánchez-Kopper, A. HRMS Characterization, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Polyphenols in *Malus Domestica* Cultivars from Costa Rica. *Molecules* **2021**, *26* (23), 7367. <https://doi.org/10.3390/molecules26237367>.
- (168) Chen, S.; Li, M.; Zheng, G.; Wang, T.; Lin, J.; Wang, S.; Wang, X.; Chao, Q.; Cao, S.; Yang, Z.; Yu, X. Metabolite Profiling of 14 Wuyi Rock Tea Cultivars Using UPLC-QTOF MS and UPLC-QqQ MS Combined with Chemometrics. *Molecules* **2018**, *23* (2), 104. <https://doi.org/10.3390/molecules23020104>.
- (169) Schmidt, C. A.; Murillo, R.; Heinzmann, B.; Laufer, S.; Wray, V.; Merfort, I. Structural and Conformational Analysis of Proanthocyanidins from *Parapiptadenia Rigida* and Their Wound-Healing Properties. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74* (6), 1427–1436. <https://doi.org/10.1021/np200158g>.
- (170) Lopez-Rodulfo, I. M.; Tsochatzis, E. D.; Stentoft, E. W.; Martinez-Carrasco, P.; Bechtner, J. D.; Martinez, M. M. Partitioning and in Vitro Bioaccessibility of Apple Polyphenols during Mechanical and Physiological Extraction: A Hierarchical Clustering Analysis with LC-ESI-QTOF-MS/MS. *Food Chemistry* **2024**, *441*, 138320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138320>.

- (171) Park, E. K.; Ahn, S. R.; Kim, D.-H.; Lee, E.-W.; Kwon, H. J.; Kim, B. W.; Kim, T. H. Effects of Unripe Apple Polyphenols on the Expression of Matrix Metalloproteinase-1 and Type-1 Procollagen in Ultraviolet Irradiated Human Skin Fibroblasts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **2014**, *57* (4), 449–455. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4128-7>.
- (172) Wang, X.; Li, C.; Liang, D.; Zou, Y.; Li, P.; Ma, F. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Red-Fleshed Apples. *Journal of Functional Foods* **2015**, *18*, 1086–1094. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.013>.
- (173) De Rijke, E.; Out, P.; Niessen, W. M. A.; Ariese, F.; Gooijer, C.; Brinkman, U. A. Th. Analytical Separation and Detection Methods for Flavonoids. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1112* (1–2), 31–63. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019>.
- (174) Grigoras, C. G.; Destandau, E.; Fougère, L.; Elfakir, C. Evaluation of Apple Pomace Extracts as a Source of Bioactive Compounds. *Industrial Crops and Products* **2013**, *49*, 794–804. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.026>.
- (175) Rauha, J.-P.; Remes, S.; Heinonen, M.; Hopia, A.; Kähkönen, M.; Kujala, T.; Pihlaja, K.; Vuorela, H.; Vuorela, P. Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology* **2000**, *56* (1), 3–12. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00218-X).
- (176) Ristivojević, P.; Dimkić, I.; Trifković, J.; Berić, T.; Vovk, I.; Milojković-Opsenica, D.; Stanković, S. Antimicrobial Activity of Serbian Propolis Evaluated by Means of MIC, HPTLC, Bioautography and Chemometrics. *PLoS ONE* **2016**, *11* (6), e0157097. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0157097>.
- (177) Barreca, D.; Bellocco, E.; Laganà, G.; Ginestra, G.; Bisignano, C. Biochemical and Antimicrobial Activity of Phloretin and Its Glycosilated Derivatives Present in Apple and Kumquat. *Food Chem.* **2014**, *160*, 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.118>.
- (178) Fontanay, S.; Grare, M.; Mayer, J.; Finance, C.; Duval, R. E. Ursolic, Oleanolic and Betulinic Acids: Antibacterial Spectra and Selectivity Indexes. *Journal of Ethnopharmacology* **2008**, *120* (2), 272–276. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.001>.

7. PRILOG

Prilog 1. Sadržaj ispitivanih saharida i karboksilnih kiselina u uzorcima mezokarpa.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2018. godina				
			Sorbitol	Glukoza	Fruktoza	Saharoza	Suma ¹
1	Crveni delišes	S	5,00	17,54	59,91	18,12	100,56
2	Greni Smit	S	8,70	35,17	60,19	27,15	131,21
3	Ajdared	S	5,84	14,79	67,68	26,86	115,17
4	Zlatni delišes	S	5,28	12,71	78,65	28,16	124,81
5	Jonagold	S	7,23	17,66	62,39	35,11	122,40
6	Prima	R	3,43	13,53	55,68	28,33	100,97
7	Gala Galaks	R	4,42	30,79	92,87	32,93	161,02
8	Vilijems Prajd	R	3,68	11,94	57,41	16,72	89,75
9	Revena	R	7,12	22,36	55,02	24,18	108,69
10	Topaz	R	7,64	17,85	58,97	31,47	115,93
11	Remura	R	6,92	13,87	56,36	16,65	93,80
12	Zaječarska duguljasta	A	3,72	17,43	42,13	32,73	96,01
13	Mionička tikvara	A	3,47	9,23	44,81	20,35	77,85
14	Zaječarski delišes	A	4,45	42,11	62,76	18,28	127,60
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	3,75	27,51	48,47	33,05	112,78
16	Sećeruša	A	4,88	11,29	65,60	21,26	103,02
17	Pamuklija	A	3,74	8,94	48,15	21,54	82,37
18	Demirka	A	9,54	16,25	66,47	37,93	130,19
19	Jesenji jablan	A	12,52	11,89	56,74	24,33	105,49
20	Kadumana	A	12,15	12,04	53,08	24,12	101,39
21	Buzlija	A	4,99	19,64	50,04	27,46	102,13
22	Krtajka	A	2,07	9,01	41,26	11,01	63,36
23	Hajdučica	A	5,00	22,41	42,20	19,32	88,93
24	Vrtiglavska slatkača	A	9,52	9,43	63,86	18,61	101,41
25	Kopaoničanka	A	4,16	18,66	32,37	39,32	94,51
26	Bela kalačuša	A	11,67	13,77	56,76	24,45	106,64
27	Loznička tikvara	A	4,42	19,20	52,56	38,49	114,67
28	Šipura	A	2,17	11,87	39,57	21,48	75,09
29	Šipina	A	3,73	19,31	45,69	28,85	97,58
30	Kožara	A	5,68	14,14	39,33	24,95	84,10

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2018. godina							
	Glicerol	Arabinoza	Ksiloz	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,036	0,018	0,32	0,120	0,178	0,010	0,012	0,344
2	0,185	0,015	0,14	0,011	0,113	0,235	0,007	0,390
3	0,234	0,014	0,48	0,026	0,061	0,082	0,011	0,167
4	0,095	0,027	0,47	0,085	0,019	0,009	0,002	0,175
5	0,015	0,003	0,18	0,101	0,042	0,251	0,011	0,341
6	0,188	0,002	0,42	0,105	0,056	0,122	0,008	0,320
7	0,024	0,003	0,56	0,039	0,045	0,025	0,004	0,248
8	0,187	0,011	0,16	0,069	0,038	0,205	0,001	0,134
9	0,006	0,003	0,35	0,025	0,170	0,011	0,017	0,355
10	0,039	0,009	0,60	0,051	0,046	0,043	0,009	0,292
11	0,003	0,004	0,13	0,051	0,019	0,014	0,002	0,229
12	0,134	0,021	0,63	0,262	0,336	0,315	0,003	0,305
13	0,143	0,026	0,76	0,079	0,027	0,030	0,004	0,020
14	0,094	0,037	1,09	0,269	0,089	0,008	0,006	0,209
15	0,059	0,027	0,63	0,055	0,012	0,337	0,005	0,149
16	0,065	0,031	0,93	0,280	0,090	0,073	0,005	0,208
17	0,114	0,016	0,84	0,213	0,160	0,110	0,007	0,269
18	0,082	0,022	0,56	0,270	0,314	0,247	0,003	0,347
19	0,099	0,062	0,99	0,123	0,077	0,301	0,008	0,317
20	0,054	0,019	0,91	0,125	0,169	0,087	0,001	0,498
21	0,054	0,026	0,76	0,136	0,077	0,047	0,020	0,085
22	0,159	0,022	0,68	0,107	0,084	0,008	0,006	0,058
23	0,050	0,022	0,66	0,144	0,077	0,113	0,003	0,360
24	0,132	0,026	0,53	0,160	0,172	0,045	0,012	0,283
25	0,104	0,037	1,10	0,236	0,113	0,163	0,008	0,159
26	0,019	0,015	0,15	0,142	0,275	0,060	0,007	0,333
27	0,082	0,036	1,01	0,210	0,110	0,103	0,010	0,335
28	0,075	0,022	0,66	0,101	0,195	0,062	0,002	0,488
29	0,113	0,045	1,05	0,279	0,308	0,022	0,002	0,136
30	0,130	0,025	0,75	0,269	0,447	0,119	0,006	0,331

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2018. godina						Suma ²	Odnos ³
	Kininska	Šikiminska	Jabucna	Maleinska	Limunska	Izolimunska		
1	1,76	0,040	5,193	0,027	0,053	0,011	7,42	13,55
2	1,47	0,068	15,922	0,050	0,175	0,051	18,12	7,24
3	0,39	0,090	11,966	0,010	0,113	0,011	12,75	9,03
4	0,52	0,128	9,790	0,028	0,080	0,020	10,74	11,62
5	0,46	0,028	8,833	0,037	0,205	0,005	9,91	12,35
6	0,58	0,057	13,249	0,043	0,123	0,006	14,38	7,02
7	0,52	0,047	7,870	0,039	0,046	0,014	8,78	18,34
8	0,81	0,125	14,376	0,085	0,188	0,050	15,77	5,69
9	0,50	0,029	11,816	0,071	0,317	0,023	13,11	8,29
10	0,45	0,122	12,614	0,030	0,296	0,012	13,82	8,39
11	0,49	0,030	8,657	0,040	0,178	0,014	9,64	9,73
12	2,76	0,156	17,093	0,020	0,296	0,058	20,69	4,64
13	1,89	0,109	6,559	0,046	0,162	0,003	8,79	8,86
14	2,09	0,188	8,605	0,024	0,128	0,027	11,27	11,32
15	1,72	0,111	7,089	0,013	0,157	0,022	9,26	12,18
16	1,92	0,113	7,230	0,017	0,111	0,016	9,61	10,72
17	1,45	0,184	5,794	0,023	0,138	0,055	7,91	10,41
18	1,93	0,232	4,785	0,049	0,162	0,018	7,53	17,30
19	0,60	0,101	6,612	0,065	0,275	0,010	7,98	13,22
20	1,23	0,118	15,459	0,040	0,328	0,045	17,72	5,72
21	1,30	0,119	6,882	0,026	0,204	0,036	8,65	11,81
22	0,85	0,094	24,291	0,115	0,636	0,140	26,18	2,42
23	0,79	0,141	6,292	0,026	0,256	0,032	7,89	11,27
24	1,42	0,184	6,620	0,052	0,140	0,022	8,72	11,63
25	0,95	0,163	10,462	0,008	0,351	0,037	12,13	7,79
26	0,56	0,078	15,111	0,042	0,286	0,025	16,44	6,49
27	1,19	0,152	5,097	0,027	0,241	0,041	7,08	16,19
28	1,42	0,152	15,894	0,056	0,244	0,018	18,27	4,11
29	1,81	0,239	13,450	0,110	0,320	0,038	16,11	6,06
30	0,82	0,108	15,161	0,070	0,309	0,058	16,85	4,99

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2019. godina				Suma ¹
			Sorbitol	Glukoza	Fruktoza	Saharoza	
1	Crveni delišes	S	8,74	25,14	71,02	31,849	136,74
2	Greni Smit	S	5,21	20,15	46,37	21,368	93,10
3	Ajdared	S	9,13	11,82	74,34	30,812	126,10
4	Zlatni delišes	S	2,20	21,52	59,93	39,885	123,53
5	Jonagold	S	7,10	22,66	72,09	31,891	133,75
6	Prima	R	3,76	5,93	50,80	41,947	102,44
7	Gala Galaks	R	2,57	14,54	64,86	34,987	116,95
8	Vilijems Prajd	R	3,24	13,67	50,29	31,933	99,13
9	Revena	R	7,62	31,23	65,10	21,292	125,25
10	Topaz	R	3,32	18,56	50,94	49,500	122,33
11	Remura	R	6,85	14,65	60,42	24,646	106,56
12	Zaječarska duguljasta	A	2,73	16,74	60,86	29,904	110,23
13	Mionička tikvara	A	9,68	18,04	79,78	22,941	130,44
14	Zaječarski delišes	A	12,14	41,17	90,75	18,234	162,29
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	2,24	22,83	48,72	14,564	88,36
16	Sećeruša	A	13,18	34,83	89,99	24,354	162,35
17	Pamuklija	A	12,96	15,19	85,60	22,116	135,87
18	Demirka	A	10,98	19,77	78,81	27,611	137,18
19	Jesenji jablan	A	13,29	18,82	66,02	40,499	138,63
20	Kadumana	A	6,69	25,31	71,85	17,518	121,36
21	Buzlija	A	13,25	13,43	81,33	24,195	132,20
22	Krtajka	A	4,56	17,48	66,21	29,937	118,18
23	Hajdučica	A	10,49	27,85	84,57	15,132	138,04
24	Vrtiglavska slatkača	A	12,97	20,44	87,69	24,211	145,31
25	Kopaoničanka	A	10,37	19,17	65,33	39,936	134,80
26	Bela kalačuša	A	13,02	13,24	65,33	35,975	127,57
27	Loznička tikvara	A	6,95	16,34	59,01	31,172	113,47
28	Šipura	A	2,95	20,69	67,98	27,660	119,28
29	Šipina	A	10,91	24,11	80,26	24,235	139,51
30	Kožara	A	10,88	18,81	68,39	15,287	113,36

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2019. godina							
	Glicerol	Arabinoza	Ksiloz	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,117	0,010	0,226	0,076	0,059	0,074	0,011	0,363
2	0,081	0,010	0,024	0,067	0,068	0,089	0,007	0,310
3	0,181	0,006	0,384	0,036	0,084	0,239	0,009	0,302
4	0,170	0,014	0,096	0,057	0,076	0,225	0,006	0,287
5	0,209	0,003	0,079	0,077	0,050	0,237	0,008	0,461
6	0,377	0,004	0,181	0,065	0,036	0,253	0,012	0,537
7	0,417	0,002	0,256	0,097	0,035	0,276	0,009	0,396
8	0,273	0,007	0,150	0,075	0,078	0,059	0,009	0,171
9	0,266	0,002	0,093	0,066	0,073	0,029	0,006	0,241
10	0,044	0,004	0,135	0,065	0,041	0,206	0,008	0,313
11	0,156	0,002	0,273	0,055	0,178	0,072	0,007	0,240
12	0,288	0,007	0,391	0,084	0,248	0,105	0,005	0,299
13	0,473	0,011	0,855	0,143	0,069	0,120	0,008	0,076
14	0,094	0,013	0,460	0,157	0,134	0,022	0,007	0,122
15	0,998	0,014	1,193	0,023	0,034	0,098	0,004	0,108
16	0,176	0,014	0,325	0,082	0,104	0,124	0,007	0,210
17	0,546	0,014	0,401	0,107	0,158	0,114	0,007	0,238
18	0,025	0,016	0,300	0,105	0,127	0,112	0,004	0,230
19	0,625	0,019	0,310	0,242	0,108	0,190	0,011	0,511
20	0,783	0,016	0,215	0,066	0,133	0,081	0,005	0,306
21	0,545	0,011	0,350	0,085	0,120	0,130	0,008	0,129
22	0,030	0,013	0,220	0,091	0,120	0,045	0,007	0,075
23	0,224	0,016	0,218	0,074	0,091	0,090	0,005	0,219
24	0,400	0,017	0,352	0,101	0,149	0,023	0,008	0,218
25	0,128	0,016	0,390	0,161	0,264	0,197	0,011	0,260
26	0,511	0,018	0,526	0,169	0,193	0,165	0,010	0,444
27	0,193	0,017	0,300	0,175	0,301	0,224	0,013	0,478
28	0,518	0,015	0,348	0,153	0,230	0,124	0,009	0,466
29	0,135	0,013	0,272	0,168	0,250	0,057	0,008	0,130
30	0,451	0,013	0,305	0,184	0,250	0,166	0,011	0,483

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2019. godina						Suma ²	Odnos ³
	Kininska	Šikiminska	Jabucna	Maleinska	Limunska	Izolimunska		
1	1,68	0,044	7,80	0,020	0,079	0,000	9,99	13,69
2	0,72	0,042	14,09	0,046	0,173	0,036	15,42	6,04
3	0,73	0,160	12,82	0,052	0,215	0,063	14,34	8,80
4	0,21	0,042	5,59	0,103	0,034	0,004	6,27	19,70
5	0,78	0,053	11,54	0,050	0,176	0,043	13,10	10,21
6	0,20	0,032	14,82	0,061	0,173	0,022	15,84	6,47
7	0,62	0,057	8,17	0,052	0,135	0,000	9,43	12,40
8	1,03	0,044	13,42	0,118	0,253	0,049	15,09	6,57
9	0,66	0,024	14,14	0,060	0,216	0,031	15,37	8,15
10	0,48	0,029	4,84	0,116	0,090	0,004	5,87	20,85
11	0,33	0,036	16,60	0,038	0,232	0,040	17,52	6,08
12	0,55	0,236	8,77	0,042	0,248	0,022	10,17	10,84
13	1,65	0,105	7,31	0,043	0,171	0,014	9,37	13,92
14	2,28	0,208	10,53	0,037	0,178	0,013	13,36	12,14
15	2,74	0,106	5,71	0,028	0,292	0,018	9,00	9,82
16	1,99	0,242	9,73	0,018	0,144	0,017	12,35	13,14
17	1,39	0,131	7,12	0,096	0,154	0,023	9,15	14,85
18	1,46	0,146	8,60	0,072	0,237	0,015	10,76	12,75
19	0,65	0,142	7,08	0,044	0,245	0,016	8,69	15,96
20	2,34	0,167	14,61	0,077	0,312	0,008	17,81	6,81
21	1,38	0,804	9,83	0,073	0,190	0,030	12,43	10,63
22	0,71	0,101	16,95	0,058	0,356	0,063	18,32	6,45
23	1,14	0,162	8,38	0,025	0,179	0,009	10,11	13,65
24	1,63	0,229	7,00	0,054	0,177	0,031	9,34	15,56
25	1,01	0,114	14,15	0,048	0,343	0,050	15,97	8,44
26	0,55	0,278	18,70	0,056	0,323	0,047	20,40	6,25
27	0,68	0,119	6,36	0,159	0,235	0,004	8,04	14,11
28	1,50	0,155	13,00	0,030	0,246	0,049	15,45	7,72
29	1,79	0,131	15,65	0,111	0,392	0,066	18,27	7,64
30	0,98	0,198	17,65	0,048	0,405	0,070	19,83	5,72

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), mezokarp, 2020. godina				
			Sorbitol	Glukoza	Fruktoza	Saharoza	Suma ¹
1	Crveni delišes	S	4,51	38,38	53,72	41,40	138,00
2	Greni Smit	S	2,51	31,87	40,33	27,52	102,23
3	Ajdared	S	2,69	31,19	41,18	29,08	104,14
4	Zlatni delišes	S	2,40	31,23	51,96	27,78	113,37
5	Jonagold	S	3,05	35,96	52,34	26,98	118,33
6	Prima	R	7,63	17,02	48,32	20,59	93,55
7	Gala Galaks	R	1,61	15,61	55,87	35,60	108,69
8	Vilijems Prajd	R	2,07	10,53	43,97	21,76	78,33
9	Revena	R	4,53	47,48	47,96	20,01	119,98
10	Topaz	R	3,01	29,70	40,75	21,43	94,89
11	Remura	R	7,54	28,60	52,04	32,61	120,79
12	Zaječarska duguljasta	A	6,28	16,25	49,63	22,20	94,36
13	Mionička tikvara	A	2,40	13,99	47,34	19,02	82,74
14	Zaječarski delišes	A	11,18	47,51	60,46	40,47	159,62
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	2,26	26,87	44,84	15,52	89,49
16	Sećeruša	A	8,15	29,11	60,55	32,58	130,39
17	Pamuklija	A	9,97	19,41	51,23	19,66	100,27
18	Demirka	A	7,32	35,67	62,79	33,50	139,28
19	Jesenji jablan	A	8,53	26,77	46,83	25,91	108,04
20	Kadumana	A	6,04	28,18	46,86	21,80	102,88
21	Buzlija	A	8,07	17,54	53,52	26,88	106,02
22	Krtajka	A	5,78	26,94	56,14	40,55	129,41
23	Hajdučica	A	7,43	31,71	63,57	17,44	120,14
24	Vrtiglavska slatkača	A	5,17	18,18	59,96	20,70	104,02
25	Kopaoničanka	A	8,14	21,64	60,61	19,62	110,01
26	Bela kalačuša	A	8,93	12,34	41,02	24,51	86,81
27	Loznička tikvara	A	11,16	21,85	62,22	26,50	121,73
28	Šipura	A	4,66	18,47	42,85	21,81	87,79
29	Šipina	A	8,39	28,59	52,23	25,57	114,78
30	Kožara	A	7,37	18,63	48,19	21,82	96,00

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg) , mezokarp, 2020. godina							
	Glicerol	Arabinoza	Ksiloz	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,093	0,005	0,802	0,096	0,075	0,094	0,012	0,461
2	0,050	0,002	0,361	0,099	0,096	0,121	0,007	0,443
3	0,037	0,006	0,548	0,026	0,061	0,163	0,011	0,202
4	0,270	0,004	0,639	0,059	0,071	0,211	0,002	0,269
5	0,071	0,006	0,786	0,074	0,043	0,223	0,011	0,410
6	0,093	0,004	0,448	0,051	0,164	0,157	0,008	0,311
7	0,195	0,004	0,392	0,104	0,038	0,293	0,004	0,420
8	0,146	0,005	0,331	0,047	0,044	0,060	0,001	0,110
9	0,117	0,003	0,226	0,070	0,083	0,031	0,017	0,254
10	0,038	0,004	0,504	0,050	0,033	0,145	0,009	0,218
11	0,084	0,008	0,508	0,068	0,037	0,089	0,002	0,295
12	0,095	0,013	0,842	0,152	0,359	0,143	0,003	0,431
13	0,217	0,010	0,676	0,112	0,067	0,118	0,004	0,075
14	0,043	0,015	1,335	0,237	0,280	0,045	0,006	0,255
15	0,169	0,019	1,257	0,058	0,104	0,178	0,005	0,200
16	0,086	0,016	1,076	0,153	0,161	0,195	0,005	0,332
17	0,088	0,013	0,864	0,149	0,171	0,123	0,007	0,250
18	0,360	0,013	0,531	0,158	0,153	0,133	0,003	0,263
19	0,134	0,020	0,902	0,159	0,075	0,154	0,008	0,341
20	0,138	0,016	0,691	0,091	0,183	0,111	0,001	0,428
21	0,152	0,031	0,841	0,109	0,154	0,166	0,020	0,165
22	0,181	0,015	0,828	0,113	0,149	0,056	0,006	0,093
23	0,148	0,015	0,561	0,094	0,117	0,116	0,003	0,279
24	0,114	0,014	0,590	0,103	0,154	0,025	0,012	0,213
25	0,164	0,013	1,192	0,168	0,267	0,203	0,008	0,261
26	0,085	0,014	1,026	0,073	0,129	0,082	0,007	0,203
27	0,077	0,011	0,808	0,160	0,257	0,193	0,010	0,399
28	0,149	0,013	0,784	0,107	0,212	0,111	0,002	0,399
29	0,024	0,013	0,807	0,189	0,299	0,067	0,002	0,152
30	0,173	0,012	0,650	0,205	0,231	0,135	0,006	0,367

Prilog 1. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg) , mezokarp, 2020. godina						Suma ²	Odnos ³
	Kininska	Šikiminska	Jabucna	Maleinska	Limunska	Izolimunska		
1	1,547	0,133	6,90	0,025	0,098	0,011	9,17	15,05
2	0,721	0,150	17,10	0,067	0,187	0,051	18,71	5,46
3	0,631	0,041	10,78	0,021	0,149	0,036	11,86	8,78
4	0,499	0,084	8,89	0,046	0,114	0,022	9,93	11,42
5	0,585	0,102	8,45	0,038	0,131	0,009	9,73	12,16
6	0,438	0,072	8,09	0,065	0,168	0,042	9,18	10,19
7	0,461	0,046	5,56	0,025	0,047	0,008	6,57	16,56
8	0,479	0,063	13,34	0,053	0,154	0,042	14,24	5,50
9	0,632	0,070	12,09	0,052	0,159	0,031	13,29	9,03
10	0,564	0,058	13,35	0,030	0,169	0,041	14,43	6,58
11	0,638	0,085	7,19	0,025	0,126	0,027	8,39	14,40
12	1,712	0,261	21,67	0,014	0,380	0,064	24,53	3,85
13	0,554	0,120	14,03	0,058	0,169	0,019	15,02	5,51
14	1,427	0,190	10,57	0,028	0,163	0,027	12,66	12,61
15	1,736	0,152	6,77	0,034	0,148	0,029	9,07	9,87
16	1,769	0,257	10,28	0,021	0,147	0,016	12,82	10,17
17	1,453	0,233	7,93	0,066	0,175	0,027	10,14	9,89
18	0,643	0,148	13,63	0,036	0,208	0,024	14,95	9,32
19	0,616	0,151	6,85	0,056	0,288	0,078	8,38	12,90
20	2,396	0,169	11,19	0,056	0,195	0,024	14,45	7,12
21	1,221	0,148	9,37	0,061	0,320	0,034	11,31	9,37
22	1,013	0,136	19,29	0,046	0,282	0,081	20,94	6,18
23	0,958	0,108	8,97	0,058	0,225	0,011	10,61	11,33
24	1,517	0,137	7,35	0,047	0,172	0,044	9,47	10,98
25	1,047	0,113	14,03	0,056	0,352	0,070	15,93	6,91
26	0,625	0,181	21,21	0,086	0,403	0,098	22,80	3,81
27	1,374	0,068	7,65	0,062	0,176	0,019	9,75	12,48
28	0,839	0,160	19,19	0,054	0,483	0,117	21,24	4,13
29	1,598	0,128	16,87	0,078	0,425	0,089	19,34	5,94
30	0,843	0,140	20,24	0,046	0,408	0,081	22,12	4,34

Prilog 2. Sadržaj ispitivanih saharida i karboksilnih kiselina u uzorcima lista.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), list, 2018. godina				
			Glicerol	Sorbitol	Manitol	Arabinoza	Glukoza
1	Crveni delišes	S	1,86	51,36	0,035	0,036	28,10
2	Greni Smit	S	2,42	38,88	0,038	0,019	25,96
3	Ajdared	S	2,35	69,77	0,028	0,029	31,18
4	Zlatni delišes	S	2,19	63,91	0,042	0,027	29,03
5	Jonagold	S	2,07	69,38	0,076	0,025	23,44
6	Prima	R	2,25	50,65	0,045	0,022	31,04
7	Gala Galaks	R	2,42	45,52	0,014	0,033	30,21
8	Vilijems Prajd	R	3,49	72,68	0,040	0,028	34,62
9	Revena	R	3,90	55,26	0,041	0,021	31,05
10	Topaz	R	3,41	56,56	0,017	0,016	29,21
11	Remura	R	3,88	45,09	0,029	0,021	33,60
12	Zaječarska duguljasta	A	2,07	87,26	0,036	0,047	52,90
13	Mionička tikvara	A	1,94	67,95	0,028	0,025	34,43
14	Zaječarski delišes	A	3,68	48,27	0,112	0,028	34,30
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	2,01	80,92	0,043	0,038	32,91
16	Sećeruša	A	3,44	65,73	0,055	0,034	39,99
17	Pamuklija	A	2,22	72,01	0,011	0,037	34,99
18	Demirka	A	3,40	56,52	0,021	0,057	42,65
19	Jesenji jablan	A	1,81	67,10	0,017	0,041	41,51
20	Kadumana	A	3,00	56,56	0,031	0,027	38,84
21	Buzlija	A	2,77	59,39	0,023	0,025	37,13
22	Krtajka	A	2,43	45,73	0,034	0,034	30,04
23	Hajdučica	A	2,25	86,46	0,039	0,035	56,87
24	Vrtiglavska slatkača	A	1,86	99,55	0,037	0,041	53,79
25	Kopaoničanka	A	3,46	93,60	0,064	0,041	29,44
26	Bela kalačuša	A	1,97	92,40	0,036	0,032	43,80
27	Loznička tikvara	A	3,05	47,00	0,033	0,030	32,68
28	Šipura	A	2,05	70,66	0,029	0,027	37,77
29	Šipina	A	1,82	77,67	0,028	0,031	39,06
30	Kožara	A	2,63	68,71	0,036	0,027	47,45

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list, 2018. godina								
	Ksiloza	Fruktoza	Riboza	Saharoza	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,007	5,10	0,150	0,400	0,028	0,335	0,175	0,118	0,255
2	0,003	5,39	0,085	0,744	0,254	0,018	0,201	0,712	0,295
3	0,019	3,93	0,125	0,405	0,122	0,327	0,084	0,288	0,185
4	0,010	1,38	0,066	0,088	0,011	0,008	0,150	0,069	0,221
5	0,005	2,21	0,068	0,127	0,015	0,073	0,190	0,113	0,252
6	0,002	4,47	0,058	0,424	0,225	0,077	0,222	0,136	0,226
7	0,001	5,65	0,093	0,429	0,030	0,345	0,060	0,110	0,162
8	0,007	2,79	0,112	0,510	0,314	0,033	0,074	0,394	0,306
9	0,015	4,79	0,077	0,706	0,271	0,006	0,084	0,432	0,216
10	0,008	4,78	0,166	0,370	0,222	0,013	0,062	0,339	0,166
11	0,040	5,89	0,080	0,740	0,263	0,003	0,131	0,388	0,263
12	0,054	6,67	0,072	0,480	0,033	0,263	0,125	0,103	0,225
13	0,006	3,87	0,129	0,557	0,023	0,290	0,157	0,110	0,253
14	0,035	4,79	0,121	0,365	0,085	0,169	0,105	0,188	0,266
15	0,009	4,17	0,060	0,203	0,024	0,338	0,061	0,115	0,158
16	0,003	6,56	0,128	0,624	0,336	0,122	0,062	0,430	0,173
17	0,005	3,71	0,076	0,187	0,022	0,255	0,116	0,121	0,207
18	0,017	6,38	0,084	0,466	0,032	0,461	0,137	0,107	0,233
19	0,027	4,65	0,042	0,152	0,018	0,288	0,020	0,114	0,094
20	0,042	5,68	0,096	0,777	0,317	0,008	0,198	0,397	0,346
21	0,010	6,08	0,124	0,480	0,317	0,029	0,182	0,398	0,264
22	0,007	6,04	0,142	0,449	0,031	0,289	0,071	0,121	0,175
23	0,044	8,35	0,079	0,725	0,039	0,036	0,064	0,119	0,197
24	0,012	8,59	0,065	0,637	0,039	0,381	0,103	0,112	0,218
25	0,039	4,28	0,044	0,207	0,025	0,438	0,095	0,117	0,192
26	0,015	5,35	0,115	0,414	0,029	0,383	0,207	0,118	0,275
27	0,023	5,09	0,078	0,501	0,149	0,250	0,023	0,497	0,074
28	0,007	3,16	0,114	0,166	0,020	0,319	0,205	0,113	0,265
29	0,007	4,37	0,064	0,210	0,025	0,300	0,128	0,110	0,219
30	0,032	5,86	0,046	0,440	0,031	0,399	0,031	0,106	0,126

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list 2018. godina								
	Kininska	Šikiminska	Jabučna	Maleinska	Fumarna	Limunska	Izolimunska	Galu ¹	Gulu ²
1	32,94	1,60	13,19	1,20	0,005	1,54	0,116	0,048	0,009
2	31,09	1,86	11,88	1,33	0,002	2,00	0,178	0,036	0,009
3	14,03	1,36	20,86	1,69	0,004	1,20	0,116	0,056	0,007
4	20,97	3,50	18,00	0,72	0,006	2,31	0,200	0,063	0,007
5	25,12	2,12	18,19	1,15	0,004	1,12	0,241	0,098	0,161
6	29,35	2,15	18,26	1,26	0,001	2,93	0,220	0,077	0,010
7	28,48	1,79	19,54	1,58	0,009	2,12	0,172	0,013	0,014
8	25,91	1,73	21,76	0,80	0,278	3,69	0,138	0,132	0,009
9	29,64	1,46	15,38	0,95	0,006	1,45	0,122	0,050	0,008
10	30,84	0,43	24,46	0,84	0,018	3,32	0,525	0,052	0,042
11	38,51	0,74	14,37	1,56	0,240	1,32	0,253	0,046	0,030
12	26,92	4,73	18,31	0,49	0,006	4,70	0,134	0,000	0,007
13	18,63	2,16	13,91	0,50	0,000	5,76	0,194	0,194	0,025
14	24,49	2,50	16,20	0,87	0,004	2,07	0,125	0,208	0,021
15	31,85	0,46	22,54	0,73	0,262	6,25	0,368	0,128	0,012
16	35,63	1,64	22,13	0,68	0,001	2,61	0,115	0,141	0,019
17	24,42	0,31	15,21	0,65	0,001	7,05	0,364	0,195	0,019
18	16,69	2,02	12,54	0,41	0,462	6,11	0,170	0,249	0,018
19	36,99	0,44	21,54	1,02	0,010	2,74	0,231	0,131	0,011
20	25,86	2,20	21,55	0,96	0,292	2,33	0,211	0,113	0,010
21	18,31	2,57	16,30	0,48	0,006	4,57	0,161	0,161	0,005
22	18,95	2,67	29,07	1,44	0,072	4,09	0,170	0,153	0,007
23	28,06	2,42	13,27	1,08	0,183	2,87	0,064	0,101	0,042
24	18,46	2,76	10,67	0,69	0,006	3,85	0,150	0,169	0,013
25	22,59	2,38	18,99	0,50	0,221	6,33	0,113	0,182	0,015
26	21,28	2,42	18,32	0,62	0,189	2,68	0,152	0,119	0,021
27	13,17	7,00	15,54	0,46	0,004	6,67	0,225	0,172	0,017
28	19,69	3,44	23,19	1,16	0,193	4,96	0,102	0,179	0,015
29	21,47	4,02	19,23	0,63	0,170	2,19	0,093	0,109	0,035
30	19,82	2,41	15,25	0,47	0,004	2,46	0,079	0,173	0,011

*1 – galaktouronska kiselina**2 – glukouronska kiselina*

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), list, 2019. godina				
			Glicerol	Sorbitol	Manitol	Arabinoza	Glukoza
1	Crveni delišes	S	2,06	63,13	0,078	0,028	47,67
2	Greni Smit	S	1,89	48,06	0,049	0,010	36,34
3	Ajdared	S	2,01	65,41	0,023	0,021	41,22
4	Zlatni delišes	S	2,30	64,33	0,054	0,029	30,57
5	Jonagold	S	1,98	74,99	0,021	0,025	48,10
6	Prima	R	1,94	71,25	0,068	0,022	46,31
7	Gala Galaks	R	1,99	63,67	0,031	0,025	42,16
8	Vilijems Prajd	R	2,41	56,01	0,027	0,030	42,96
9	Revena	R	1,96	59,58	0,050	0,033	35,37
10	Topaz	R	2,03	82,53	0,023	0,025	38,68
11	Remura	R	1,84	63,72	0,036	0,026	38,62
12	Zaječarska duguljasta	A	3,13	44,65	0,034	0,024	40,49
13	Mionička tikvara	A	1,82	63,00	0,023	0,029	44,62
14	Zaječarski delišes	A	2,98	48,62	0,170	0,036	39,61
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	2,29	36,42	0,052	0,010	41,40
16	Sećeruša	A	2,47	60,80	0,048	0,013	17,63
17	Pamuklija	A	1,85	67,23	0,018	0,040	43,15
18	Demirka	A	4,22	40,74	0,097	0,040	44,31
19	Jesenji jablan	A	3,70	51,25	0,036	0,017	44,89
20	Kadumana	A	3,08	32,80	0,022	0,027	30,47
21	Buzlija	A	1,90	60,24	0,054	0,025	28,34
22	Krtajka	A	1,85	52,36	0,033	0,015	42,70
23	Hajdučica	A	2,21	53,30	0,041	0,028	36,65
24	Vrtiglavska slatkača	A	1,79	68,40	0,023	0,021	26,61
25	Kopaoničanka	A	1,88	64,08	0,040	0,031	13,36
26	Bela kalačuša	A	2,23	66,10	0,058	0,023	36,19
27	Loznička tikvara	A	1,86	62,86	0,053	0,021	28,65
28	Šipura	A	1,91	48,74	0,023	0,037	23,55
29	Šipina	A	2,20	64,40	0,026	0,021	22,90
30	Kožara	A	2,33	46,81	0,063	0,029	43,96

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list 2019. godina								
	Ksiloza	Fruktoza	Riboza	Saharoza	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,021	3,44	0,164	0,211	0,021	0,276	0,130	0,106	0,216
2	0,025	4,73	0,094	0,274	0,351	0,001	0,036	0,558	0,131
3	0,089	2,23	0,138	0,153	0,015	0,000	0,025	0,115	0,100
4	0,002	3,09	0,072	0,195	0,019	0,322	0,153	0,116	0,231
5	0,005	4,37	0,075	0,250	0,025	0,351	0,120	0,115	0,213
6	0,066	3,94	0,064	0,232	0,619	0,069	0,068	0,146	0,164
7	0,063	3,77	0,102	0,225	0,022	0,260	0,142	0,119	0,227
8	0,003	2,91	0,123	0,187	0,019	0,193	0,036	0,113	0,121
9	0,010	2,99	0,084	0,190	0,019	0,342	0,208	0,104	0,266
10	0,006	4,00	0,183	0,235	0,023	0,244	0,058	0,120	0,154
11	0,010	4,32	0,088	0,248	0,025	0,272	0,142	0,103	0,229
12	0,028	6,06	0,079	0,579	0,378	0,001	0,141	0,278	0,261
13	0,003	3,73	0,141	0,868	0,022	0,311	0,158	0,115	0,302
14	0,018	4,74	0,133	0,331	0,414	0,003	0,015	0,675	0,098
15	0,007	3,64	0,066	0,219	0,022	0,265	0,191	0,116	0,259
16	0,004	1,58	0,141	0,344	0,012	0,363	0,151	0,113	0,245
17	0,020	2,97	0,084	0,692	0,019	0,242	0,204	0,109	0,314
18	0,030	4,72	0,092	0,294	0,368	0,003	0,144	0,252	0,235
19	0,018	5,27	0,046	1,592	0,300	0,002	0,072	0,324	0,305
20	0,008	3,62	0,106	0,227	0,211	0,001	0,126	0,516	0,215
21	0,004	2,22	0,136	0,489	0,015	0,165	0,178	0,119	0,278
22	0,012	4,30	0,156	0,274	0,183	0,239	0,047	0,430	0,145
23	0,013	3,22	0,087	0,551	0,304	0,177	0,192	0,512	0,292
24	0,039	2,99	0,072	0,393	0,000	0,276	0,172	0,106	0,264
25	0,021	2,84	0,048	0,113	0,001	0,229	0,153	0,119	0,223
26	0,001	3,00	0,126	0,191	0,019	0,211	0,152	0,104	0,231
27	0,004	3,09	0,086	0,343	0,020	0,217	0,111	0,103	0,215
28	0,025	3,06	0,126	0,799	0,019	0,227	0,128	0,109	0,274
29	0,007	1,19	0,071	0,093	0,009	0,281	0,182	0,110	0,240
30	0,009	3,35	0,051	0,301	0,021	0,313	0,059	0,107	0,162

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list, 2019. godina								
	Kininska	Šikiminska	Jabučna	Maleinska	Fumarna	Limunska	Izolimunska	Galu ¹	Gulu ²
1	36,29	3,50	19,13	1,44	0,006	1,11	0,422	0,181	0,019
2	36,56	3,33	12,81	1,94	0,004	1,34	0,162	0,081	0,015
3	16,67	2,32	25,34	1,54	0,003	1,29	0,422	0,046	0,013
4	26,78	2,16	20,85	1,19	0,006	2,01	0,140	0,133	0,016
5	31,39	3,63	30,76	1,09	0,000	1,80	0,231	0,136	0,032
6	30,28	4,38	16,78	1,51	0,012	1,25	0,169	0,155	0,019
7	26,54	3,47	32,50	1,77	0,030	2,41	0,557	0,082	0,014
8	14,34	2,04	36,73	2,06	0,139	5,77	0,204	0,296	0,037
9	31,49	1,57	17,98	1,17	0,006	1,60	0,113	0,072	0,011
10	25,79	3,70	30,92	1,88	0,005	2,53	0,255	0,011	0,027
11	28,13	2,83	25,65	1,00	0,269	2,17	0,239	0,200	0,044
12	32,78	3,19	16,20	1,56	0,253	1,74	0,283	0,068	0,016
13	17,56	3,35	19,73	0,68	0,025	5,27	0,175	0,351	0,038
14	29,26	3,24	27,37	1,07	0,005	2,07	0,146	0,201	0,024
15	17,75	3,36	33,22	1,17	0,257	8,38	0,502	0,183	0,032
16	30,58	3,19	31,78	1,04	0,027	3,60	0,334	0,281	0,010
17	22,65	3,36	21,16	0,58	0,018	5,45	0,285	0,450	0,041
18	25,85	1,53	28,73	1,00	0,002	2,44	0,249	0,221	0,039
19	27,37	2,83	24,94	0,55	0,302	4,50	0,270	0,197	0,112
20	28,44	3,18	27,32	0,62	0,334	5,26	0,299	0,193	0,048
21	22,42	2,81	20,20	0,61	0,008	5,56	0,129	0,304	0,017
22	20,81	2,82	21,70	0,69	0,001	2,71	0,108	0,091	0,011
23	32,71	2,86	23,93	0,96	0,179	4,25	0,141	0,181	0,061
24	24,06	3,24	27,46	0,58	0,004	7,53	0,136	0,301	0,027
25	21,44	8,62	21,61	0,62	0,195	4,79	0,092	0,274	0,052
26	18,99	1,70	21,60	0,46	0,138	2,82	0,082	0,231	0,019
27	21,43	2,56	21,25	0,66	0,001	6,36	0,223	0,405	0,013
28	22,41	1,27	25,47	0,52	0,261	3,67	0,176	0,148	0,033
29	18,98	2,37	29,18	1,88	0,173	5,44	0,184	0,446	0,063
30	22,81	3,15	24,66	0,53	0,006	5,27	0,172	0,338	0,039

*1 – galaktouronska kiselina**2 – glukouronska kiselina*

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Sorta	Tip	Koncentracija (g/kg), list, 2020. godina				
			Glicerol	Sorbitol	Manitol	Arabinoza	Glukoza
1	Crveni delišes	S	2,06	63,13	0,078	0,028	47,67
2	Greni Smit	S	3,13	53,87	0,026	0,024	37,10
3	Ajdared	S	2,23	55,80	0,029	0,012	40,97
4	Zlatni delišes	S	2,82	55,29	0,022	0,013	35,20
5	Jonagold	S	4,41	54,56	0,032	0,007	40,38
6	Prima	R	2,92	51,32	0,034	0,008	37,25
7	Gala Galaks	R	4,09	52,78	0,027	0,005	38,76
8	Vilijems Prajd	R	3,16	48,39	0,014	0,022	32,86
9	Revena	R	5,03	42,30	0,004	0,025	33,09
10	Topaz	R	4,45	46,23	0,034	0,010	36,91
11	Remura	R	4,24	51,40	0,010	0,015	30,21
12	Zaječarska duguljasta	A	2,99	56,99	0,018	0,011	53,46
13	Mionička tikvara	A	2,78	52,34	0,042	0,020	48,24
14	Zaječarski delišes	A	2,56	61,29	0,033	0,016	45,82
15	Gružanjaska letnja kolačara	A	2,55	70,16	0,026	0,012	40,97
16	Sećeruša	A	2,31	57,18	0,030	0,257	44,34
17	Pamuklija	A	2,10	71,20	0,038	0,018	42,30
18	Demirka	A	2,37	72,03	0,056	0,027	37,13
19	Jesenji jablan	A	3,38	70,56	0,064	0,281	38,50
20	Kadumana	A	3,52	88,00	0,057	0,027	57,30
21	Buzlija	A	2,04	65,16	0,035	0,016	48,29
22	Krtajka	A	1,44	57,15	0,032	0,015	43,65
23	Hajdučica	A	1,88	44,44	0,031	0,015	37,26
24	Vrtiglavska slatkača	A	2,87	57,11	0,037	0,018	46,88
25	Kopaoničanka	A	2,39	58,04	0,023	0,011	32,87
26	Bela kalačuša	A	4,40	53,89	0,017	0,008	34,30
27	Loznička tikvara	A	2,29	60,78	0,025	0,012	34,26
28	Šipura	A	2,40	47,53	0,064	0,030	33,70
29	Šipina	A	3,02	62,77	0,021	0,010	38,16
30	Kožara	A	3,28	54,68	0,052	0,025	38,28

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list, 2020. godina								
	Ksiloza	Fruktoza	Riboza	Saharoza	Rafinoza	Turanoza	Maltoza	Panoza	Maltotrioza
1	0,021	3,44	0,164	0,211	0,021	0,276	0,130	0,106	0,216
2	0,040	5,55	0,080	0,441	0,194	0,046	0,259	0,245	0,185
3	0,050	7,79	0,059	0,651	0,285	0,020	0,139	0,381	0,246
4	0,028	5,97	0,085	0,665	0,133	0,038	0,118	0,214	0,220
5	0,013	6,05	0,093	0,661	0,166	0,030	0,098	0,134	0,167
6	0,018	5,15	0,066	0,271	0,168	0,026	0,061	0,160	0,042
7	0,043	5,47	0,096	0,591	0,156	0,666	0,218	0,066	0,027
8	0,023	4,99	0,141	0,426	0,146	0,044	0,133	0,221	0,344
9	0,025	5,50	0,106	0,617	0,155	0,074	0,114	0,152	0,425
10	0,010	4,82	0,075	0,501	0,179	0,016	0,073	0,108	0,142
11	0,010	5,91	0,115	0,228	0,141	0,024	0,046	0,809	0,006
12	0,047	6,90	0,061	0,261	0,227	0,036	0,236	0,891	0,052
13	0,032	4,66	0,069	0,492	0,174	0,034	0,042	0,272	0,116
14	0,050	5,91	0,061	0,344	0,218	0,048	0,166	0,083	0,307
15	0,055	4,85	0,179	0,354	0,308	0,116	0,056	0,116	0,382
16	0,018	5,75	0,117	0,594	0,249	0,054	0,113	0,135	0,412
17	0,058	4,73	0,078	0,269	0,420	0,322	0,133	0,119	0,217
18	0,071	6,98	0,053	0,480	0,388	0,262	0,159	0,534	0,394
19	0,083	5,53	0,106	0,260	0,391	0,212	0,076	0,234	0,230
20	0,018	5,87	0,077	0,549	0,396	0,170	0,044	0,634	0,328
21	0,073	5,93	0,067	0,857	0,285	0,102	0,042	0,415	0,239
22	0,038	6,24	0,074	0,745	0,220	0,076	0,206	0,146	0,020
23	0,028	5,48	0,056	0,513	0,143	0,014	0,119	0,476	0,274
24	0,025	6,58	0,078	0,333	0,256	0,042	0,110	0,356	0,179
25	0,020	5,22	0,037	0,231	0,180	0,074	0,118	1,065	0,084
26	0,090	5,33	0,085	0,221	0,207	0,056	0,090	1,508	0,279
27	0,085	6,24	0,051	0,325	0,199	0,032	0,098	0,479	0,299
28	0,053	4,86	0,085	0,568	0,176	0,048	0,096	0,067	0,045
29	0,033	5,25	0,142	0,281	0,215	0,060	0,048	0,168	0,183
30	0,018	4,40	0,101	0,270	0,227	0,044	0,098	0,102	0,181

Prilog 2. Nastavak tabele.

Broj	Koncentracija (g/kg), list, 2020. godina								
	Kininska	Šikiminska	Jabučna	Maleinska	Fumarna	Limunska	Izolimunska	Galu ¹	Gulu ²
1	36,29	3,50	19,13	1,44	0,006	1,11	0,422	0,181	0,019
2	37,11	3,42	22,89	2,97	0,006	1,16	0,102	0,119	0,018
3	34,68	1,87	12,94	2,24	0,003	1,23	0,099	0,068	0,005
4	18,28	2,67	24,15	1,25	0,003	1,13	0,087	0,084	0,002
5	35,11	1,02	20,28	1,57	0,007	1,60	0,143	0,051	0,030
6	31,43	0,43	22,07	2,30	0,011	1,30	0,334	0,097	0,006
7	28,95	2,73	18,86	1,86	0,004	1,16	0,079	0,187	0,009
8	22,43	2,70	27,42	2,66	0,014	1,37	0,128	0,048	0,007
9	25,31	2,39	32,73	0,90	0,288	2,73	0,362	0,132	0,019
10	32,99	1,68	20,16	1,37	0,003	1,68	0,100	0,092	0,014
11	28,42	1,35	19,42	1,91	0,200	1,89	0,430	0,079	0,053
12	18,83	1,18	12,66	1,43	0,153	4,12	0,214	0,342	0,015
13	32,22	2,19	25,55	0,50	0,003	4,43	0,117	0,185	0,024
14	21,88	2,74	15,94	0,53	0,002	4,02	0,108	0,264	0,012
15	26,45	2,62	24,19	0,99	0,006	2,04	0,102	0,213	0,020
16	18,89	2,86	25,37	0,62	0,168	5,79	0,173	0,175	0,021
17	34,74	2,59	22,68	1,02	0,006	1,48	0,076	0,226	0,032
18	26,11	2,12	20,76	1,06	0,012	4,85	0,127	0,289	0,028
19	27,19	3,49	23,48	1,16	0,000	1,85	0,149	0,199	0,014
20	26,04	3,01	20,26	0,81	0,295	3,48	0,146	0,219	0,005
21	21,72	3,91	17,58	0,70	0,162	2,44	0,146	0,254	0,024
22	36,37	0,36	19,31	2,50	0,239	7,63	0,361	0,230	0,045
23	17,46	0,36	20,70	1,54	0,134	3,82	0,239	0,148	0,010
24	36,08	0,32	19,27	2,46	0,203	7,30	0,356	0,173	0,019
25	25,26	0,37	19,55	0,89	0,029	6,67	0,377	0,354	0,015
26	26,41	2,70	21,06	0,77	0,246	5,54	0,354	0,209	0,034
27	31,24	3,13	19,53	1,43	0,259	2,92	0,385	0,086	0,004
28	21,58	2,74	20,41	0,66	0,004	5,47	0,377	0,227	0,021
29	33,71	0,82	26,88	1,17	0,227	2,14	0,347	0,152	0,023
30	19,32	2,01	26,33	0,93	0,228	6,45	0,336	0,406	0,001

*1 – galaktouronska kiselina**2 – glukouronska kiselina*

Prilog 3. Sadržaj ispitivanih metala u uzorcima

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci mezokarpa, godina 2018.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	913	79,6	18,3	46,1	1,56	0,48	0,59	0,39	0,22	0,01	0,07	0,01	0,59	0,06	0,01	0,11	0,01
2	986	58,4	14,0	33,5	2,02	0,28	0,61	0,26	0,16	0,01	0,05	0,01	0,62	0,02	0,01	0,07	0,01
3	990	52,9	14,8	33,6	5,88	0,51	0,78	0,41	0,21	0,01	0,13	0,19	0,52	0,07	0,01	0,41	0,01
4	934	73,2	13,4	33,3	5,62	0,33	0,70	0,42	0,16	0,01	0,33	0,01	0,89	0,02	0,01	0,10	0,01
5	988	56,3	14,1	26,4	5,68	0,35	0,65	0,26	0,21	0,01	0,11	0,01	0,53	0,02	0,01	0,09	0,01
6	1034	95,9	57,2	35,1	1,98	0,52	0,78	0,41	0,21	0,01	0,13	0,20	0,52	0,06	0,01	0,41	0,01
7	1060	79,6	18,4	37,3	1,60	0,33	0,70	0,42	0,16	0,01	0,33	0,01	0,90	0,02	0,01	0,10	0,01
8	967	55,3	17,2	14,0	1,43	0,29	0,49	0,10	0,12	0,01	0,06	0,01	0,49	0,02	0,01	0,08	0,01
9	999	79,5	18,5	28,6	1,65	0,48	0,58	0,38	0,21	0,01	0,07	0,01	0,58	0,06	0,01	0,11	0,01
10	897	52,8	14,7	34,9	5,81	0,35	0,64	0,26	0,21	0,01	0,11	0,01	0,52	0,02	0,01	0,09	0,01
11	907	89,8	52,7	43,6	1,93	0,51	0,78	0,41	0,21	0,01	0,13	0,19	0,52	0,07	0,01	0,41	0,01
12	874	60,9	16,0	19,3	1,35	0,29	0,49	0,11	0,12	0,01	0,06	0,01	0,49	0,02	0,01	0,08	0,01
13	975	84,2	21,8	43,6	1,30	0,35	0,65	0,26	0,21	0,01	0,11	0,01	0,53	0,02	0,01	0,09	0,01
14	977	54,2	14,5	30,3	5,74	0,52	0,78	0,41	0,21	0,01	0,13	0,20	0,52	0,06	0,01	0,41	0,01
15	893	58,3	13,8	27,1	2,05	0,35	0,64	0,26	0,21	0,01	0,11	0,01	0,52	0,02	0,01	0,09	0,01
16	947	50,4	17,7	18,3	1,50	0,44	0,76	0,16	0,12	0,01	0,06	0,01	0,79	0,02	0,01	0,09	0,01
17	975	78,0	21,0	41,4	1,18	0,35	0,64	0,26	0,21	0,01	0,11	0,01	0,52	0,02	0,01	0,09	0,01
18	968	70,3	14,8	39,7	1,45	0,34	0,63	0,14	0,14	0,01	0,07	0,01	0,51	0,04	0,01	0,13	0,01
19	881	69,9	15,1	40,7	1,13	0,33	0,62	0,15	0,14	0,01	0,07	0,01	0,50	0,04	0,01	0,13	0,01
20	939	48,0	18,1	28,0	1,42	0,45	0,76	0,16	0,12	0,01	0,06	0,01	0,80	0,02	0,01	0,09	0,01
21	963	70,0	14,3	37,7	1,31	0,39	0,55	0,15	0,16	0,01	0,08	0,01	0,48	0,03	0,01	0,07	0,01
22	965	84,5	21,5	32,5	1,15	0,33	0,70	0,42	0,16	0,01	0,34	0,01	0,90	0,02	0,01	0,10	0,01
23	957	58,1	13,7	20,7	2,08	0,28	0,61	0,25	0,16	0,01	0,05	0,01	0,63	0,02	0,01	0,07	0,01
24	991	65,7	13,8	36,3	1,17	0,40	0,55	0,15	0,17	0,01	0,08	0,01	0,47	0,02	0,01	0,08	0,01
25	902	90,8	19,7	22,0	1,27	1,56	1,12	0,44	0,30	0,01	0,18	0,01	1,03	0,05	0,01	0,16	0,01
26	933	70,1	15,0	40,2	1,29	0,28	0,61	0,26	0,16	0,01	0,05	0,01	0,63	0,02	0,01	0,07	0,01
27	890	52,6	13,8	32,5	0,79	0,49	0,78	0,30	0,16	0,01	0,07	0,01	0,90	0,02	0,01	0,30	0,01
28	953	50,6	17,7	26,6	1,51	0,48	0,59	0,38	0,22	0,01	0,07	0,01	0,59	0,06	0,01	0,11	0,01
29	969	52,9	14,7	34,3	5,85	0,52	0,78	0,41	0,21	0,01	0,13	0,19	0,52	0,06	0,01	0,41	0,01
30	991	55,3	14,3	30,8	5,70	0,48	0,76	0,30	0,16	0,01	0,07	0,01	0,91	0,02	0,01	0,29	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci mezokarpa, godina 2019.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	950	80,8	28,0	24,3	4,06	0,30	0,81	0,22	0,17	0,01	0,05	0,01	0,62	0,03	0,01	0,11	0,02
2	912	80,8	41,7	25,7	3,06	0,32	0,55	0,12	0,14	0,01	0,07	0,01	0,55	0,03	0,01	0,09	0,01
3	957	80,8	37,1	25,3	2,97	0,39	0,71	0,16	0,16	0,01	0,08	0,01	0,57	0,05	0,01	0,14	0,01
4	970	53,1	20,8	37,4	2,56	0,29	0,62	0,24	0,14	0,01	0,05	0,01	0,46	0,02	0,01	0,06	0,01
5	990	53,3	20,9	41,9	2,56	0,30	0,61	0,24	0,14	0,01	0,05	0,01	0,46	0,02	0,01	0,06	0,01
6	949	59,9	32,6	17,3	4,00	0,30	0,82	0,22	0,18	0,01	0,05	0,01	0,63	0,03	0,01	0,12	0,02
7	886	81,0	22,6	24,5	1,89	0,32	0,55	0,12	0,14	0,01	0,07	0,01	0,55	0,03	0,01	0,09	0,01
8	897	64,3	16,9	38,4	1,61	0,63	2,83	1,02	0,40	0,01	0,11	0,01	1,01	0,04	0,01	0,77	0,01
9	926	42,1	21,9	35,4	3,51	0,35	0,44	0,10	0,15	0,01	0,06	0,01	0,36	0,05	0,01	0,06	0,09
10	927	142,2	42,6	33,0	2,34	0,83	0,90	0,41	0,17	0,02	0,20	0,01	1,02	0,38	0,01	0,65	0,03
11	940	42,7	22,3	34,4	3,61	0,34	0,44	0,10	0,15	0,01	0,06	0,01	0,36	0,06	0,01	0,06	0,09
12	824	116,0	54,4	56,2	6,57	0,39	1,04	0,25	0,16	0,01	0,07	0,01	1,30	0,02	0,01	0,29	0,01
13	922	108,5	42,8	51,2	7,99	0,61	0,81	0,25	0,18	0,02	0,08	0,01	0,74	1,37	0,01	0,14	0,03
14	971	138,8	40,1	16,1	2,24	0,30	0,82	0,22	0,18	0,01	0,05	0,01	0,63	0,03	0,01	0,12	0,02
15	944	78,3	21,2	41,3	1,88	1,81	1,04	0,55	0,27	0,01	0,10	0,01	1,44	0,06	0,01	0,18	0,01
16	892	60,9	36,5	17,7	3,74	0,30	0,80	0,22	0,17	0,01	0,05	0,01	0,61	0,03	0,01	0,11	0,02
17	867	42,4	22,1	34,9	3,56	0,34	0,44	0,10	0,15	0,01	0,06	0,01	0,36	0,05	0,01	0,06	0,09
18	907	39,8	38,8	28,2	3,48	0,41	1,05	0,26	0,16	0,01	0,07	0,01	1,29	0,02	0,01	0,29	0,01
19	966	84,3	21,1	47,9	2,13	0,57	2,54	0,91	0,36	0,01	0,10	0,01	0,90	0,04	0,01	0,68	0,01
20	960	37,9	40,9	27,9	3,26	0,32	0,55	0,12	0,14	0,01	0,06	0,01	0,55	0,02	0,01	0,09	0,01
21	932	52,8	20,8	32,8	2,55	0,29	0,63	0,24	0,14	0,01	0,05	0,01	0,46	0,02	0,01	0,06	0,01
22	972	116,3	53,6	50,6	6,71	0,41	1,05	0,26	0,16	0,01	0,07	0,01	1,29	0,02	0,01	0,29	0,01
23	939	141,3	42,7	33,7	2,38	0,40	1,05	0,25	0,16	0,01	0,07	0,01	1,30	0,02	0,01	0,29	0,01
24	926	108,0	42,5	49,3	7,98	0,61	0,81	0,25	0,18	0,02	0,08	0,01	0,74	1,38	0,01	0,14	0,03
25	903	80,4	27,7	22,0	4,01	0,45	0,61	0,17	0,19	0,01	0,09	0,01	0,53	0,03	0,01	0,08	0,01
26	890	140,3	42,8	34,4	2,42	0,82	0,91	0,41	0,17	0,02	0,21	0,01	1,03	0,38	0,01	0,66	0,03
27	860	81,2	28,2	26,5	4,11	0,38	0,70	0,16	0,16	0,01	0,08	0,01	0,56	0,05	0,01	0,14	0,01
28	897	116,1	54,0	53,4	6,64	0,82	0,90	0,41	0,17	0,02	0,20	0,01	1,02	0,38	0,01	0,65	0,03
29	931	109,0	43,1	53,0	7,99	0,61	0,82	0,25	0,18	0,02	0,08	0,01	0,74	1,36	0,01	0,14	0,03
30	935	96,0	26,7	25,0	2,09	0,32	0,55	0,12	0,14	0,01	0,06	0,01	0,55	0,02	0,01	0,09	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci mezokarpa, godina 2020.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	871	51,0	20,6	26,0	2,90	0,73	1,82	0,69	0,18	0,01	0,11	0,01	1,20	0,07	0,01	0,33	0,01
2	920	114,3	40,2	51,9	3,69	0,44	0,62	0,17	0,18	0,01	0,09	0,01	0,54	0,03	0,01	0,08	0,01
3	927	49,6	20,7	49,6	3,29	0,66	1,30	0,51	0,20	0,01	0,12	0,01	1,13	0,04	0,01	0,13	0,01
4	962	54,4	20,3	25,6	2,70	0,71	1,82	0,66	0,18	0,01	0,11	0,01	1,19	0,07	0,01	0,33	0,01
5	984	61,6	19,2	23,6	2,83	0,38	0,70	0,16	0,16	0,01	0,08	0,01	0,56	0,05	0,01	0,14	0,01
6	907	80,0	20,5	48,1	1,37	0,58	2,57	0,91	0,36	0,01	0,10	0,01	0,90	0,04	0,01	0,68	0,01
7	884	48,9	20,7	16,7	3,46	0,51	0,85	0,18	0,13	0,01	0,07	0,01	0,90	0,02	0,01	0,10	0,01
8	904	64,1	16,9	31,5	1,68	0,32	0,55	0,12	0,14	0,01	0,07	0,01	0,55	0,02	0,01	0,09	0,01
9	981	82,2	20,8	44,9	1,98	0,56	2,51	0,91	0,35	0,01	0,10	0,01	0,90	0,04	0,01	0,68	0,01
10	869	50,8	17,6	34,9	1,53	0,33	0,70	0,42	0,16	0,01	0,33	0,01	0,89	0,02	0,01	0,10	0,01
11	966	84,3	21,1	57,1	2,14	1,50	1,02	0,47	0,23	0,01	0,20	0,01	1,07	0,03	0,01	0,14	0,01
12	864	110,7	33,1	53,9	1,86	0,73	1,82	0,69	0,18	0,01	0,11	0,01	1,20	0,07	0,01	0,33	0,01
13	899	51,0	20,7	16,4	3,33	0,50	0,86	0,18	0,14	0,01	0,07	0,01	0,89	0,02	0,01	0,10	0,01
14	877	49,4	20,6	38,6	3,28	0,45	0,62	0,17	0,19	0,01	0,09	0,01	0,54	0,03	0,01	0,08	0,01
15	974	98,6	29,2	43,6	1,70	0,59	1,16	0,45	0,17	0,01	0,11	0,01	1,00	0,03	0,01	0,11	0,01
16	944	63,9	16,9	24,7	1,74	1,68	1,15	0,53	0,26	0,01	0,23	0,01	1,20	0,04	0,01	0,16	0,01
17	912	84,4	21,6	38,1	1,23	0,48	0,77	0,30	0,16	0,01	0,07	0,01	0,90	0,02	0,01	0,30	0,01
18	936	80,7	21,5	32,1	1,20	0,48	0,58	0,38	0,21	0,01	0,07	0,01	0,58	0,06	0,01	0,11	0,01
19	886	80,6	21,2	41,6	1,18	0,45	0,76	0,16	0,12	0,01	0,06	0,01	0,80	0,02	0,01	0,09	0,01
20	914	62,4	15,9	26,8	1,61	0,54	0,86	0,33	0,18	0,01	0,08	0,01	1,02	0,03	0,01	0,33	0,01
21	870	114,5	40,2	51,2	3,60	0,72	1,82	0,67	0,18	0,01	0,11	0,01	1,20	0,07	0,01	0,33	0,01
22	892	111,1	32,7	44,3	1,96	0,71	1,82	0,66	0,18	0,01	0,11	0,01	1,19	0,07	0,01	0,33	0,01
23	927	79,1	53,5	36,5	1,24	0,28	0,61	0,25	0,16	0,01	0,05	0,01	0,63	0,02	0,01	0,07	0,01
24	912	49,2	20,5	27,7	3,27	0,66	1,31	0,50	0,19	0,01	0,12	0,01	1,12	0,04	0,01	0,13	0,01
25	878	84,3	21,1	38,7	2,11	1,51	1,03	0,47	0,23	0,01	0,21	0,01	1,07	0,04	0,01	0,14	0,01
26	913	114,7	40,2	50,5	3,50	0,45	0,61	0,17	0,19	0,01	0,09	0,01	0,53	0,03	0,01	0,08	0,01
27	877	61,9	19,7	33,1	2,88	0,39	0,71	0,16	0,16	0,01	0,08	0,01	0,57	0,05	0,01	0,14	0,01
28	899	61,8	19,4	28,3	2,85	0,38	0,71	0,16	0,16	0,01	0,08	0,01	0,56	0,05	0,01	0,14	0,01
29	907	57,8	19,4	22,0	1,33	0,58	1,17	0,44	0,17	0,01	0,10	0,01	0,99	0,03	0,01	0,11	0,01
30	919	80,6	20,9	51,0	1,15	0,28	0,61	0,26	0,16	0,01	0,05	0,01	0,62	0,02	0,01	0,07	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci pokožice, godina 2018.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	1128	211	60,6	35,5	1,81	1,35	0,81	0,84	0,28	0,01	0,11	0,01	0,85	0,05	0,01	0,15	0,01
2	1114	260	88,8	41,3	2,27	1,81	1,05	0,56	0,27	0,01	0,10	0,01	1,46	0,06	0,01	0,18	0,01
3	1101	254	93,4	34,7	1,99	1,51	1,03	0,47	0,23	0,01	0,21	0,01	1,07	0,04	0,01	0,14	0,01
4	1144	200	64,3	35,6	2,12	1,62	1,15	0,46	0,29	0,01	0,19	0,01	0,81	0,05	0,01	0,06	0,01
5	1263	199	64,4	28,2	2,09	1,56	1,14	0,48	0,29	0,01	0,19	0,01	0,82	0,06	0,01	0,06	0,01
6	1164	275	98,4	47,4	2,15	1,60	1,15	0,55	0,31	0,01	0,17	0,01	1,30	0,04	0,01	0,10	0,01
7	1204	274	97,5	32,5	2,05	1,62	1,14	0,55	0,30	0,01	0,17	0,01	1,30	0,04	0,01	0,10	0,01
8	1070	260	88,7	38,8	2,29	0,58	2,57	0,91	0,36	0,01	0,10	0,01	0,90	0,04	0,01	0,68	0,01
9	1147	259	82,7	49,3	2,23	2,08	1,15	1,67	0,40	0,02	0,27	0,01	1,57	0,05	0,01	0,19	0,01
10	1110	298	108,8	42,3	2,75	0,63	0,94	0,32	0,19	0,01	0,09	0,01	1,26	0,04	0,01	0,24	0,01
11	1158	256	107,1	28,0	3,17	2,35	1,30	0,97	0,29	0,01	0,34	0,01	1,89	0,06	0,01	0,09	0,01
12	1055	213	62,0	32,0	1,72	0,67	0,72	0,32	0,13	0,02	0,16	0,01	0,81	0,30	0,01	0,52	0,02
13	1083	338	118,5	63,6	3,55	1,81	1,05	0,56	0,27	0,01	0,10	0,01	1,48	0,06	0,01	0,18	0,01
14	1095	263	95,8	32,8	1,91	1,81	1,04	0,55	0,27	0,01	0,10	0,01	1,44	0,06	0,01	0,18	0,01
15	1106	165	56,2	38,0	2,08	1,80	0,99	0,59	0,26	0,01	0,27	0,03	0,75	0,06	0,01	0,18	0,01
16	1070	256	76,3	50,2	3,55	2,00	1,73	1,57	0,48	0,01	0,15	0,01	1,35	0,06	0,01	0,41	0,04
17	1048	254	64,8	49,0	3,41	1,61	1,15	0,55	0,30	0,01	0,17	0,01	1,30	0,04	0,01	0,10	0,01
18	1110	196	57,8	37,8	2,05	1,50	1,03	0,47	0,23	0,01	0,21	0,01	1,07	0,04	0,01	0,14	0,01
19	1051	153	51,0	44,5	1,97	1,59	1,15	0,47	0,29	0,01	0,19	0,01	0,82	0,05	0,01	0,06	0,01
20	1034	190	60,8	35,6	2,08	0,49	0,78	0,30	0,16	0,01	0,07	0,01	0,90	0,02	0,01	0,30	0,01
21	1046	267	96,6	38,3	2,03	0,63	1,62	0,58	0,16	0,01	0,10	0,01	1,06	0,06	0,01	0,29	0,01
22	1098	257	61,0	52,2	3,46	1,81	1,05	0,56	0,27	0,01	0,10	0,01	1,48	0,06	0,01	0,18	0,01
23	1102	254	64,7	43,7	3,40	1,81	1,04	0,55	0,27	0,01	0,10	0,01	1,44	0,06	0,01	0,18	0,01
24	1053	254	64,9	54,3	3,43	1,51	1,03	0,47	0,23	0,01	0,21	0,01	1,07	0,04	0,01	0,14	0,01
25	1060	210	60,5	32,5	1,96	3,81	2,15	1,47	0,33	0,02	0,30	0,01	1,71	0,09	0,01	0,60	0,01
26	1109	168	60,5	36,7	2,02	1,34	0,80	0,83	0,28	0,01	0,11	0,01	0,85	0,05	0,01	0,16	0,01
27	1059	157	60,2	40,3	3,26	1,79	0,99	0,59	0,26	0,01	0,27	0,02	0,76	0,07	0,01	0,18	0,01
28	1075	260	89,0	43,7	2,25	0,56	2,51	0,91	0,35	0,01	0,10	0,01	0,90	0,04	0,01	0,68	0,01
29	1118	261	85,7	43,0	2,35	1,50	1,02	0,47	0,23	0,01	0,20	0,01	1,07	0,03	0,01	0,14	0,01
30	1100	275	97,9	40,0	2,10	2,37	2,72	0,45	0,24	0,01	0,24	0,01	0,95	0,05	0,01	0,15	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci pokožice, godina 2019.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	1187	258	29,6	3,10	1,79	1,57	1,40	0,43	0,01	0,13	0,01	1,21	0,06	0,01	0,37	0,03	29,6
2	1076	254	35,0	3,12	1,39	1,09	0,54	0,34	0,01	0,19	0,01	1,27	0,05	0,01	0,20	0,01	35,0
3	1104	257	36,9	3,18	1,91	1,07	1,41	0,36	0,02	0,25	0,01	1,43	0,05	0,01	0,17	0,01	36,9
4	1114	323	60,6	5,74	0,74	0,80	0,36	0,15	0,02	0,18	0,01	0,91	0,34	0,01	0,57	0,02	60,6
5	1106	341	59,4	5,57	2,15	2,75	0,45	0,24	0,01	0,24	0,01	0,94	0,05	0,01	0,15	0,01	59,4
6	1194	254	44,8	2,80	1,86	1,81	1,42	0,24	0,02	0,13	0,01	1,44	0,06	0,01	0,21	0,01	44,8
7	1074	256	30,0	2,13	1,80	1,56	1,41	0,43	0,01	0,13	0,01	1,21	0,06	0,01	0,37	0,03	30,0
8	1172	260	36,8	2,21	1,86	1,81	1,43	0,24	0,02	0,14	0,01	1,44	0,06	0,01	0,21	0,01	36,8
9	1092	153	37,8	2,78	1,91	1,07	1,41	0,36	0,02	0,25	0,01	1,43	0,05	0,01	0,17	0,01	37,8
10	1164	257	32,4	3,26	2,29	1,29	0,96	0,29	0,01	0,34	0,01	1,87	0,07	0,01	0,10	0,01	32,4
11	1101	136	17,0	5,79	1,96	1,05	0,72	0,37	0,01	0,13	0,01	1,03	0,05	0,01	0,09	0,01	17,0
12	1021	255	28,5	2,17	1,78	1,58	1,38	0,43	0,01	0,13	0,01	1,20	0,06	0,01	0,37	0,03	28,5
13	1008	153	40,1	2,00	2,17	2,04	1,28	0,40	0,01	0,14	0,01	1,58	0,09	0,01	0,55	0,01	40,1
14	1113	358	65,7	3,47	2,58	1,44	1,07	0,32	0,01	0,38	0,01	2,08	0,07	0,01	0,11	0,01	65,7
15	1152	290	47,3	2,53	3,81	2,83	1,41	0,62	0,02	0,48	0,01	1,57	0,09	0,01	0,27	0,01	47,3
16	982	260	31,1	2,13	3,85	4,79	1,26	0,54	0,02	0,44	0,01	1,40	0,08	0,01	0,24	0,01	31,1
17	935	154	48,9	1,95	2,17	2,08	1,30	0,40	0,01	0,14	0,01	1,61	0,09	0,01	0,55	0,01	48,9
18	935	137	45,0	5,86	1,99	1,00	0,73	0,37	0,01	0,13	0,01	1,04	0,05	0,01	0,09	0,01	45,0
19	1116	341	54,7	5,58	4,23	5,41	1,40	0,61	0,02	0,48	0,01	1,57	0,09	0,01	0,27	0,01	54,7
20	1170	155	37,9	3,12	1,87	1,04	1,50	0,36	0,02	0,25	0,01	1,41	0,05	0,01	0,17	0,01	37,9
21	1049	359	67,8	3,40	0,73	0,81	0,36	0,15	0,02	0,18	0,01	0,91	0,34	0,01	0,59	0,02	67,8
22	1066	341	50,0	5,58	2,38	2,70	0,44	0,23	0,01	0,24	0,01	0,95	0,05	0,01	0,14	0,01	50,0
23	1070	351	61,1	3,52	1,60	1,15	0,55	0,31	0,01	0,17	0,01	1,30	0,04	0,01	0,10	0,01	61,1
24	991	142	32,6	5,42	1,84	0,98	0,38	0,47	0,01	0,19	0,01	0,60	0,09	0,01	0,10	0,01	32,6
25	1065	258	22,4	3,05	1,87	1,04	1,50	0,36	0,02	0,25	0,01	1,41	0,05	0,01	0,17	0,01	22,4
26	1088	158	37,4	3,26	1,79	0,96	0,38	0,46	0,01	0,19	0,01	0,60	0,08	0,01	0,11	0,01	37,4
27	1031	256	49,0	2,91	1,89	1,05	1,45	0,36	0,02	0,25	0,01	1,42	0,05	0,01	0,17	0,01	49,0
28	1091	339	44,2	2,67	4,71	2,16	1,47	0,33	0,02	0,30	0,01	1,71	0,09	0,01	0,60	0,01	44,2
29	1028	145	35,8	5,53	1,56	1,14	0,48	0,29	0,01	0,19	0,01	0,82	0,06	0,01	0,06	0,01	35,8
30	1099	157	43,2	3,25	0,35	0,58	0,19	0,19	0,01	0,05	0,01	0,43	0,03	0,01	0,04	0,01	43,2

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci pokožice, godina 2020.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	1102	268	86,7	31,8	2,93	1,91	1,07	1,41	0,36	0,02	0,25	0,01	1,43	0,05	0,01	0,17	0,01
2	1170	271	93,0	29,3	3,00	2,17	2,04	1,28	0,40	0,01	0,14	0,01	1,58	0,09	0,01	0,55	0,01
3	1115	269	91,0	30,2	2,98	1,78	1,58	1,38	0,43	0,01	0,13	0,01	1,20	0,06	0,01	0,37	0,03
4	1114	180	49,5	47,9	2,17	0,50	2,26	0,82	0,32	0,01	0,09	0,01	0,81	0,03	0,01	0,61	0,01
5	1214	194	55,1	25,6	2,28	1,96	1,05	0,72	0,37	0,01	0,13	0,01	1,03	0,05	0,01	0,09	0,01
6	1156	257	79,2	35,0	2,77	1,80	1,56	1,41	0,43	0,01	0,13	0,01	1,21	0,06	0,01	0,37	0,03
7	1155	263	83,6	35,5	2,82	1,87	1,04	1,50	0,36	0,02	0,25	0,01	1,41	0,05	0,01	0,17	0,01
8	1141	271	92,1	31,0	2,89	1,80	1,56	1,41	0,43	0,01	0,13	0,01	1,21	0,06	0,01	0,37	0,03
9	1167	182	53,1	47,0	2,13	1,98	1,03	0,72	0,37	0,01	0,13	0,01	1,04	0,05	0,01	0,09	0,01
10	1108	255	83,4	48,7	2,89	1,78	1,58	1,38	0,43	0,01	0,13	0,01	1,20	0,06	0,01	0,37	0,03
11	1255	254	81,7	46,0	2,83	1,86	1,81	1,42	0,24	0,02	0,13	0,01	1,44	0,06	0,01	0,21	0,01
12	1139	272	93,8	27,6	3,11	1,87	1,04	1,50	0,36	0,02	0,25	0,01	1,41	0,05	0,01	0,17	0,01
13	1120	137	58,6	31,0	5,82	1,81	0,97	0,38	0,47	0,01	0,19	0,01	0,60	0,09	0,01	0,11	0,01
14	1124	212	60,7	38,5	1,85	4,71	2,17	1,46	0,33	0,02	0,30	0,01	1,71	0,09	0,01	0,60	0,01
15	1145	186	61,3	52,0	1,97	1,39	1,09	0,54	0,34	0,01	0,19	0,01	1,27	0,05	0,01	0,20	0,01
16	1142	186	61,4	42,1	2,04	1,39	1,09	0,54	0,34	0,01	0,19	0,01	1,28	0,05	0,01	0,20	0,01
17	1090	199	64,4	31,9	2,10	2,11	0,92	0,41	0,32	0,01	0,22	0,01	1,09	0,06	0,01	0,12	0,01
18	1086	188	63,7	31,8	2,15	1,56	1,12	0,44	0,30	0,01	0,18	0,01	1,03	0,05	0,01	0,16	0,01
19	1032	212	61,7	39,1	1,78	1,39	1,09	0,55	0,33	0,01	0,19	0,01	1,28	0,05	0,01	0,20	0,01
20	1108	186	61,5	32,3	2,12	1,56	1,13	0,43	0,30	0,01	0,18	0,01	1,01	0,05	0,01	0,16	0,01
21	1142	183	50,5	48,3	2,18	1,35	0,92	0,42	0,21	0,01	0,18	0,01	0,96	0,03	0,01	0,13	0,01
22	1166	182	53,5	51,0	2,17	1,36	0,92	0,42	0,21	0,01	0,19	0,01	0,97	0,03	0,01	0,13	0,01
23	1056	182	52,7	42,9	2,09	1,63	0,94	0,50	0,24	0,01	0,09	0,01	1,29	0,05	0,01	0,17	0,01
24	1168	183	50,4	39,4	2,13	1,63	0,95	0,51	0,24	0,01	0,09	0,01	1,33	0,05	0,01	0,17	0,01
25	1119	196	50,0	35,7	2,42	1,56	1,13	0,43	0,30	0,01	0,18	0,01	1,02	0,05	0,01	0,16	0,01
26	1184	183	53,4	40,3	2,11	1,91	1,07	1,41	0,36	0,02	0,25	0,01	1,43	0,05	0,01	0,17	0,01
27	1091	183	52,7	42,8	2,17	2,17	2,04	1,28	0,40	0,01	0,14	0,01	1,58	0,09	0,01	0,55	0,01
28	1114	196	50,0	45,0	2,43	2,17	2,08	1,30	0,40	0,01	0,14	0,01	1,61	0,09	0,01	0,55	0,01
29	1097	196	49,9	26,5	2,41	1,99	1,00	0,73	0,37	0,01	0,13	0,01	1,04	0,05	0,01	0,09	0,01
30	1141	252	76,2	42,7	2,68	1,86	1,81	1,45	0,24	0,02	0,14	0,01	1,44	0,06	0,01	0,21	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci lista, godina 2018.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	6400	3426	1243	398	60	37,3	14,98	46,7	1,62	2,53	3,55	1,80	8,26	0,16	0,20	1,06	0,01
2	6828	5785	1028	570	230	49,0	8,31	40,6	1,46	1,11	3,47	2,47	7,11	0,38	0,39	1,76	0,04
3	5325	4299	1330	254	300	35,3	7,56	30,7	1,34	0,15	3,79	1,20	3,26	0,97	0,78	1,23	0,02
4	7448	4348	679	733	133	29,0	1,24	42,3	1,88	1,34	3,25	1,15	11,12	0,08	0,19	0,13	0,01
5	13519	8061	1166	596	220	87,2	4,77	26,3	1,11	0,26	3,45	0,46	10,80	0,60	0,05	0,29	0,01
6	8025	7996	833	395	107	49,0	1,86	29,2	0,95	0,09	1,27	0,92	4,78	0,46	0,21	0,45	0,01
7	10219	5828	1162	615	215	86,6	7,18	30,7	1,52	0,28	3,50	1,30	6,27	0,16	0,49	0,91	0,01
8	5194	5132	714	338	101	46,4	2,24	55,9	1,96	1,06	1,00	2,46	9,96	0,31	0,21	1,83	0,25
9	7469	5363	1110	472	186	27,1	11,10	61,2	2,43	1,04	6,21	0,74	12,87	0,70	0,77	0,46	0,03
10	5439	5175	778	406	75	20,6	12,02	36,2	1,76	0,15	7,12	0,31	9,47	0,64	0,14	0,64	0,01
11	7313	3551	654	215	96	30,0	3,78	27,9	1,01	0,12	1,37	1,86	12,34	0,06	0,76	2,16	0,03
12	3837	4596	1034	333	64	19,7	8,73	26,9	1,49	0,50	3,35	2,52	5,70	0,72	0,13	3,02	0,01
13	4830	5031	1037	349	91	69,3	6,71	29,1	0,37	2,58	1,82	1,49	5,35	0,36	0,48	2,23	0,01
14	5367	4500	954	575	93	47,4	3,25	62,2	1,36	2,65	2,27	2,70	4,28	0,05	0,05	1,94	0,01
15	5348	6189	1007	545	136	45,9	1,85	36,2	1,62	1,22	3,25	0,73	9,15	0,12	0,10	1,11	0,01
16	4105	7989	1133	454	27	23,2	7,71	59,2	1,28	0,07	1,99	0,20	2,94	0,71	0,30	0,49	0,01
17	4338	5370	1056	677	88	65,4	10,38	41,2	1,23	1,32	1,79	1,76	6,34	0,24	0,10	1,06	0,24
18	6772	5208	681	452	136	52,0	2,02	19,0	1,18	2,07	1,17	0,57	5,15	0,03	0,06	0,31	0,01
19	4207	3373	1161	285	79	57,9	14,08	17,6	1,68	2,24	1,44	1,30	3,39	0,17	0,87	2,21	0,03
20	4176	3488	1066	336	243	47,2	1,84	37,0	1,02	1,20	1,27	0,62	5,10	0,10	0,04	0,13	0,01
21	3863	6316	1284	416	92	34,2	4,61	33,7	1,01	0,07	4,23	0,20	11,81	0,51	0,10	0,45	0,01
22	4390	3969	1151	567	50	62,8	10,07	17,0	1,99	0,15	2,47	0,55	14,55	1,57	0,64	1,16	0,01
23	4023	4873	1120	686	180	45,2	5,97	47,2	1,52	0,27	1,89	3,53	8,10	0,33	0,97	2,47	0,01
24	4444	5541	1037	284	58	47,9	6,81	51,7	1,11	0,08	1,65	1,71	5,54	0,83	0,31	0,54	0,01
25	3793	6547	1191	228	56	47,4	4,72	21,4	1,24	2,04	1,76	2,20	3,94	0,20	0,68	1,33	0,03
26	6891	6384	1120	481	83	51,6	11,47	33,6	1,81	0,20	3,07	0,31	5,82	1,09	0,22	1,13	0,08
27	4125	6867	964	322	99	23,2	2,22	58,2	1,42	1,12	1,67	1,13	8,14	0,09	0,22	0,09	0,01
28	4225	3384	1171	240	51	58,3	18,08	28,5	1,95	0,15	2,09	0,29	14,73	0,88	0,17	0,95	0,01
29	5989	5188	1096	690	102	87,6	7,44	68,6	1,24	1,23	2,44	1,73	13,15	0,67	0,69	0,45	0,18
30	5529	4785	1129	306	257	26,6	7,27	53,4	1,37	0,12	5,40	1,68	27,94	0,55	0,90	2,03	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci lista, godina 2019.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	9679	4254	1130	344	46	47,6	9,73	58,7	1,41	0,06	5,54	0,29	3,55	0,57	0,12	0,36	0,01
2	7324	5723	1114	676	347	38,8	6,69	50,3	1,42	0,35	7,16	6,35	6,56	0,32	0,06	5,34	0,01
3	9659	4026	1083	639	28	34,2	7,64	25,0	1,45	0,12	2,25	0,18	4,63	0,50	0,25	0,57	0,01
4	6214	3903	619	323	121	36,0	2,02	33,6	1,43	1,02	1,25	1,09	5,13	0,07	0,10	0,13	0,01
5	6240	5738	1053	470	247	36,1	11,23	68,6	2,83	2,17	1,29	2,78	4,88	1,29	0,03	1,32	0,03
6	10695	7448	689	319	72	73,6	5,34	27,8	1,94	3,53	2,77	1,45	4,84	0,96	1,00	1,45	0,21
7	6194	5745	801	674	111	36,0	10,16	52,3	2,78	1,83	2,19	2,51	17,36	0,24	0,09	1,60	0,03
8	8033	6395	678	364	114	72,5	4,67	31,1	1,58	1,88	1,66	0,18	19,63	0,31	0,09	2,47	0,03
9	8094	4862	1102	739	235	37,3	4,13	27,8	1,00	0,17	4,12	0,90	5,55	0,79	0,15	0,53	0,01
10	8475	4136	718	268	83	33,2	11,98	35,2	1,11	0,85	0,99	1,29	4,57	0,22	0,27	1,42	0,05
11	7444	7439	959	492	69	49,7	2,24	53,5	1,52	1,79	2,82	1,82	16,52	0,78	0,27	1,94	0,49
12	2498	4238	872	615	49	26,0	12,59	33,3	1,73	2,25	2,50	1,61	5,08	0,37	0,10	0,59	0,05
13	6781	7742	735	389	199	71,8	6,69	32,7	1,31	0,20	2,93	1,11	6,41	1,08	0,83	0,83	0,01
14	6011	9197	778	504	151	34,1	6,26	27,7	1,28	0,28	4,08	0,45	12,85	0,43	0,09	0,50	0,01
15	5698	4841	1003	636	89	49,4	10,10	36,7	1,58	1,91	1,95	1,32	6,50	0,36	0,95	1,91	0,41
16	5698	4879	939	435	97	45,7	2,32	52,8	3,54	1,65	1,08	0,17	19,09	0,26	0,09	2,27	0,02
17	3865	3662	1096	618	56	88,4	10,25	21,1	1,69	1,98	3,48	1,55	19,56	0,21	0,16	1,81	0,08
18	3975	5644	1370	420	38	27,0	9,29	33,6	1,15	0,11	5,25	0,07	6,95	0,50	0,06	0,42	0,01
19	3893	5613	773	328	105	54,1	4,85	31,2	1,21	2,97	1,35	1,27	4,66	1,87	0,55	1,04	0,40
20	14038	8109	1208	590	173	60,4	6,30	30,6	1,43	0,25	2,49	3,92	6,89	0,34	0,82	0,29	0,02
21	4352	4706	978	202	220	20,4	3,95	41,4	0,81	0,11	2,55	1,07	6,47	0,25	0,96	0,66	0,01
22	3915	5975	1124	261	116	61,0	12,88	45,5	1,94	0,32	3,25	0,15	9,22	1,12	0,39	0,77	0,02
23	3883	5396	640	140	35	29,1	7,38	23,6	1,49	0,10	1,18	0,08	9,37	1,04	0,31	0,23	0,01
24	6772	7131	1058	368	46	35,8	12,73	33,1	2,21	0,21	3,55	0,62	6,93	0,96	0,37	1,35	0,02
25	6431	6003	1107	219	66	43,9	9,35	27,3	2,43	0,40	2,47	0,89	3,71	0,70	0,10	1,72	0,01
26	4944	6470	1270	715	243	45,4	3,65	40,5	0,93	0,23	5,44	0,81	12,55	0,45	0,72	0,31	0,01
27	4018	4031	1181	295	253	27,1	5,66	69,8	1,29	0,17	2,57	0,57	3,68	0,55	0,22	0,56	0,01
28	5578	4554	882	432	48	43,8	8,23	17,0	1,08	0,15	2,25	0,08	7,80	0,75	0,05	0,42	0,01
29	6944	5295	818	321	195	45,9	5,35	32,7	1,32	0,32	3,47	0,40	14,90	0,85	0,76	0,77	0,01
30	6908	7681	1174	341	67	47,2	5,40	40,6	1,06	0,11	4,81	0,27	3,71	0,24	0,21	0,34	0,01

Prilog 3. Nastavak tabele

Broj sorte	Koncentracija (mg/kg), uzorci lista, godina 2020.																
	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Cu	Zn	Cr	Co	Ni	As	Sr	Mo	Cd	Pb	Bi
1	5139	5023	796	587	119	44,3	11,35	63,3	1,18	2,95	1,24	1,60	8,70	0,52	0,37	0,77	0,01
2	8033	5333	786	712	55	33,5	10,85	46,0	1,78	2,32	1,85	1,97	9,67	0,78	1,00	1,06	0,15
3	8894	6692	1074	523	126	72,9	5,21	37,0	1,17	0,19	1,75	1,10	6,24	0,56	0,73	1,97	0,01
4	9569	4699	1164	413	42	38,3	5,02	41,3	1,10	0,20	4,23	0,22	18,79	0,43	0,12	0,48	0,01
5	15894	6100	1406	641	264	65,0	10,78	21,7	1,17	0,19	2,47	0,38	9,04	0,37	0,16	0,93	0,01
6	8841	4950	702	311	244	53,7	14,52	33,0	2,19	0,84	3,36	1,97	13,86	0,36	0,43	3,88	0,04
7	6454	6173	1008	416	231	26,8	7,43	23,5	1,36	0,23	3,23	6,24	14,61	0,14	0,93	3,85	0,02
8	6743	6664	1072	538	102	38,6	7,73	42,5	1,47	0,31	1,53	6,30	15,33	0,62	0,34	5,35	0,01
9	9659	6497	1036	312	111	70,7	9,66	25,5	3,59	1,27	2,24	1,73	18,57	0,05	0,05	1,57	0,01
10	6053	4948	1092	390	18	37,4	8,90	23,6	1,32	0,08	5,64	0,11	9,21	0,40	0,25	0,36	0,01
11	11640	3975	1153	292	100	37,7	2,68	109,2	1,00	0,05	7,74	0,24	3,86	0,42	0,16	0,18	0,01
12	3598	3709	799	735	74	43,5	9,16	43,7	1,59	1,46	6,21	1,89	14,20	0,14	0,06	1,13	0,03
13	3742	7956	1128	397	69	50,0	11,12	28,8	2,03	0,49	5,22	0,26	8,77	1,34	0,46	1,12	0,02
14	5268	4054	1138	224	99	62,3	3,75	41,7	2,20	1,16	3,48	1,91	4,62	0,08	0,22	2,23	0,02
15	9344	5516	1004	602	73	49,2	6,20	31,8	1,24	0,13	1,56	0,44	4,06	0,17	0,23	0,46	0,01
16	6838	6613	703	344	93	19,6	5,51	35,9	1,24	0,14	1,22	0,20	9,54	0,66	0,10	0,16	0,01
17	4830	4665	1126	470	32	39,2	4,21	77,5	1,21	0,05	1,11	0,26	16,38	0,63	0,06	0,20	0,01
18	6493	3956	1089	481	43	44,1	9,96	55,1	1,36	0,10	2,72	0,24	5,14	0,50	0,23	0,59	0,01
19	3609	3752	874	227	132	36,4	10,11	34,2	2,74	1,29	0,91	3,81	9,28	0,79	0,39	1,65	0,02
20	4395	7183	803	428	31	32,1	6,22	46,5	1,26	0,12	4,19	0,37	14,85	0,30	0,33	0,45	0,01
21	3624	4826	1147	454	82	70,1	6,90	23,6	1,24	0,24	4,58	0,63	7,37	0,38	0,46	0,61	0,01
22	3909	3508	1086	204	201	24,0	5,46	70,1	1,49	0,43	2,35	1,55	13,20	0,14	0,01	1,16	0,10
23	4060	3789	1121	416	77	26,2	9,28	23,8	2,10	0,78	3,25	1,43	4,52	0,59	0,13	2,45	0,01
24	6882	3926	761	534	34	27,5	13,81	76,3	2,27	0,20	4,67	0,56	9,85	0,83	0,32	1,51	0,01
25	3752	5102	974	580	32	39,4	6,93	27,9	1,08	0,06	9,15	0,06	7,66	0,26	0,67	0,40	0,01
26	6755	4429	1206	445	59	25,8	7,83	29,2	1,90	0,15	1,09	0,24	6,63	0,92	0,05	0,77	0,01
27	3752	4219	1333	699	162	82,8	1,65	44,2	1,35	1,13	2,58	0,72	9,01	0,11	0,07	0,16	0,01
28	5184	3651	1328	229	29	37,6	8,64	46,8	1,40	0,11	1,85	5,56	9,94	0,87	0,75	2,21	0,01
29	6208	5181	1263	409	85	32,0	7,79	34,1	1,59	0,14	6,12	0,25	1,03	0,53	0,17	0,31	0,01
30	8838	5209	806	377	109	49,4	5,46	41,3	1,42	0,13	1,46	0,63	10,00	0,50	0,41	0,74	0,01

Prilog 4. Sadržaj ispitivanih fenolnih jedinjenja

Tkivo Godina	Mezokarp 2018														
Broj sorte ¹	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tip sorte ²	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A
TPC ³	0,49	1,41	0,67	0,62	0,46	0,92	0,39	0,27	0,33	0,64	0,53	2,44	0,82	1,03	4,51
RSA ⁴	17,58	20,97	18,63	18,71	8,94	19,70	15,86	7,98	8,57	16,78	19,73	30,30	16,03	17,84	45,52
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	17,88	36,53	68,37	58,27	17,34	134,03	37,81	30,34	28,93	29,59	6,73	128,16	101,23	37,20	206,75
Kofeinska kiselina	0,06	0,13	0,27	0,22	0,07	0,49	0,14	0,13	0,10	0,09	0,04	0,39	0,43	0,14	0,84
Floretin	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,07	0,09	0,09	0,06
Florizin	1,24	2,52	2,05	2,87	0,46	3,82	0,83	0,78	0,57	0,75	0,34	2,50	4,28	3,32	4,94
Kvercetin	0,10	0,11	0,13	0,21	0,11	0,25	0,12	0,08	0,06	0,03	0,11	0,29	0,44	0,26	0,24
Rutin	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03	0,06	0,04	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,10	0,00	0,29
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,32	0,29	0,93	0,70	0,28	1,84	1,34	0,87	0,12	0,06	1,35	0,53	1,37	0,51	1,83
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	0,63	1,62	0,48	2,72	2,67	4,09	1,03	1,77	1,64	0,45	0,51	3,18	0,60	0,79	2,13
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	1,63	0,08	0,04	0,06	0,02	0,05	0,02	0,02	1,68	1,67	1,69	1,85	1,83	1,81	1,84
Kamferol	0,53	0,54	0,56	0,54	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,54
Naringenin	0,54	0,55	0,57	0,55	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,55
Protocatehuinska kiselina	0,58	0,59	0,60	0,59	0,60	0,60	0,60	0,59	0,59	0,59	0,60	0,59	0,60	0,60	0,59
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,38	0,39	0,40	0,38	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,40	0,39	0,39
Katehin	6,37	35,67	6,04	8,84	2,68	14,80	4,84	0,70	3,33	7,11	6,14	40,79	7,63	11,69	14,90
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,01	0,05	0,07	0,02	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,03	0,04	0,07	0,04	0,21
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,45	0,46	0,47	0,46	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,46
Ferulic acid	0,65	0,01	0,68	0,67	0,68	0,02	0,68	0,02	0,02	0,67	0,02	0,04	0,02	0,02	0,04
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	0,56	0,45	0,28	0,26	0,27	0,52	0,19	0,83	0,20	0,16	0,32	0,53	0,33	0,77	0,52
Apigenin	0,39	0,40	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,40	0,40	0,40	0,41	0,40	0,41	0,41	0,40
Luteolin	0,32	0,33	0,34	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,34	0,33	0,33
Eriodiktio	0,58	0,59	0,61	0,59	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,61	0,60	0,59
Galna kiselina	0,47	0,48	0,49	0,48	0,48	0,49	0,48	0,48	0,48	0,48	0,49	0,48	0,49	0,49	0,48
Naringin	0,36	0,37	0,38	0,37	0,38	0,38	0,38	0,37	0,37	0,37	0,38	0,37	0,38	0,38	0,37

1 – broj sorte je odgovara nazivima u Tabeli 1.

2 – Tip sorte: S – standardna, R – rezistentna, A – autohtona

3 – sadržaj ukupnih fenola kao g/kg uzorka

4 – antioksidativna aktivnost kao mmol/kg uzorka

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	Mezokarp 2018														
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC	0,83	1,43	1,34	2,15	1,31	1,23	1,23	0,99	1,77	4,42	1,67	1,30	0,74	1,50	1,38
RSA	10,25	18,82	21,20	18,59	26,78	19,26	17,20	17,23	8,48	19,02	16,55	16,53	18,46	20,41	17,21
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	34,88	196,92	163,34	130,34	191,04	170,71	187,21	82,67	103,51	212,18	185,19	132,68	135,58	144,25	148,55
Kofeinska kiselina	0,14	0,75	0,65	0,49	0,67	0,67	0,63	0,31	0,37	0,72	0,67	0,49	0,46	0,51	0,48
Floretin	0,05	0,14	0,11	0,12	0,08	0,09	0,07	0,06	0,07	0,11	0,06	0,10	0,06	0,07	0,05
Florizin	1,76	8,42	6,22	9,00	5,17	5,44	4,10	2,26	4,97	7,99	2,69	4,19	2,26	3,91	2,68
Kvercetin	0,16	0,74	0,36	0,64	0,64	0,15	0,10	0,26	0,08	0,08	0,14	0,13	0,03	0,45	0,30
Rutin	0,00	0,60	0,04	0,02	0,00	0,01	0,00	0,03	0,05	0,31	0,02	0,00	0,00	0,16	0,04
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,56	4,71	0,63	1,14	1,39	0,60	0,23	0,82	0,63	0,80	0,48	0,49	0,50	5,45	0,47
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	0,97	1,15	0,38	5,19	2,74	0,19	1,39	3,20	0,31	0,80	1,47	0,17	0,78	3,75	1,61
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,03	1,65	1,69	0,03	0,12	1,71	0,04	0,01	1,56	1,66	1,70	0,02	0,02	0,02	1,68
Kamferol	0,56	0,54	0,55	0,56	0,55	0,56	0,56	0,55	0,51	0,54	0,55	0,52	0,55	0,56	0,55
Naringenin	0,57	0,55	0,56	0,57	0,56	0,57	0,57	0,56	0,52	0,55	0,56	0,53	0,56	0,57	0,56
Protocatehuinska kiselina	0,60	0,59	0,60	0,61	0,60	0,61	0,61	0,60	0,55	0,59	0,60	0,57	0,60	0,60	0,60
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,40	0,38	0,39	0,40	0,39	0,40	0,40	0,39	0,36	0,39	0,39	0,37	0,39	0,40	0,39
Katehin	7,23	13,37	18,63	53,08	9,95	15,39	10,42	19,05	4,37	12,25	29,97	12,09	3,91	27,79	18,90
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,03	0,10	0,11	0,35	0,15	0,07	0,09	0,09	0,06	0,08	0,03	0,07	0,08	0,04	0,05
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,48	0,46	0,47	0,48	0,47	0,48	0,48	0,47	0,43	0,46	0,47	0,45	0,47	0,47	0,47
Ferulic acid	0,69	0,04	0,03	0,12	0,07	0,69	0,02	0,19	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02	0,05	0,03
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	0,87	0,54	0,23	1,16	0,43	0,25	0,39	0,32	0,21	0,50	0,45	0,22	0,65	0,58	0,31
Apigenin	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,38	0,40	0,41	0,39	0,41	0,41	0,41
Luteolin	0,34	0,33	0,34	0,34	0,33	0,34	0,34	0,33	0,31	0,33	0,34	0,32	0,34	0,34	0,33
Eriodiktiol	0,61	0,59	0,60	0,61	0,60	0,61	0,61	0,60	0,56	0,59	0,61	0,57	0,60	0,61	0,60
Galna kiselina	0,49	0,48	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,45	0,48	0,49	0,46	0,49	0,49	0,48
Naringin	0,38	0,37	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,35	0,37	0,38	0,36	0,38	0,38	0,38

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	Mezokarp 2019														
Broj sorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tip sorte	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A
TPC	0,51	0,73	0,59	0,42	0,22	0,11	0,12	0,14	1,61	0,70	0,31	1,96	2,59	0,88	2,15
RSA	9,28	9,44	9,02	7,79	9,64	9,58	7,75	8,04	8,79	8,28	7,91	9,31	9,17	9,37	10,17
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	1,86	3,23	6,46	4,05	5,54	3,55	2,77	10,72	5,91	8,43	0,48	18,82	15,66	7,22	41,99
Caffeic acid	1,02	1,02	1,01	0,99	1,04	1,00	0,97	0,95	1,01	0,99	0,93	0,91	1,01	1,00	0,98
Floretin	0,04	0,05	0,06	0,06	0,04	0,06	0,04	0,09	0,05	0,04	0,04	0,07	0,17	0,07	0,15
Florizin	0,87	0,62	0,91	0,96	0,55	0,39	0,22	1,14	0,55	0,43	0,11	1,06	2,40	2,28	4,40
Kvercetin	1,76	1,75	1,74	1,70	1,79	1,73	1,67	1,63	1,74	1,71	1,60	1,57	1,73	1,72	1,69
Rutin	0,03	0,05	0,07	0,08	0,07	0,03	0,04	0,04	0,07	0,04	0,03	0,05	0,10	0,04	0,14
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,19	0,22	0,36	0,37	0,94	0,17	0,18	0,24	0,24	0,23	0,18	0,36	0,53	0,23	0,37
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	0,28	0,45	0,17	1,14	1,02	0,26	0,26	0,29	0,68	0,18	0,13	1,04	0,10	0,29	0,12
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,02	0,02	0,01	0,08	0,05	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,06	0,10	0,07	0,04
Kamferol	1,07	1,06	1,05	1,03	1,08	1,04	1,01	0,99	1,05	1,03	0,97	0,95	1,05	1,04	1,02
Naringenin	1,09	1,08	1,07	1,05	1,10	1,06	1,03	1,01	1,07	1,05	0,98	0,96	1,07	1,06	1,04
Protocatehuinska kiselina	1,16	1,15	1,14	1,12	1,18	1,13	1,10	1,07	1,14	1,12	1,05	1,03	1,14	1,13	1,11
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,76	0,76	0,75	0,73	0,77	0,74	0,72	0,70	0,75	0,74	0,69	0,67	0,75	0,74	0,73
Katehin	1,40	1,39	1,38	1,35	1,42	1,37	1,33	1,30	1,38	1,36	1,27	1,25	1,38	1,37	1,34
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,33	0,32	0,31	0,33	0,33	0,31	0,30	0,33	0,33	0,32
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,91	0,91	0,90	0,88	0,92	0,89	0,86	0,84	0,90	0,88	0,83	0,81	0,90	0,89	0,87
Ferulic acid	1,31	1,31	1,29	1,27	1,33	1,29	1,25	1,22	1,30	1,27	1,19	1,17	1,29	1,29	1,26
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	1,26	1,25	1,24	1,21	1,28	1,23	1,19	1,17	1,24	1,22	1,14	1,12	1,24	1,23	1,20
Apigenin	0,79	0,78	0,78	0,76	0,80	0,77	0,75	0,73	0,78	0,76	0,72	0,70	0,78	0,77	0,75
Luteolin	0,65	0,64	0,64	0,62	0,66	0,63	0,61	0,60	0,64	0,63	0,59	0,57	0,64	0,63	0,62
Eriodiktiol	1,17	1,16	1,15	1,12	1,18	1,14	1,10	1,08	1,15	1,13	1,06	1,03	1,14	1,14	1,11
Galna kiselina	0,94	0,94	0,93	0,91	0,96	0,92	0,89	0,87	0,93	0,91	0,85	0,84	0,93	0,92	0,90
Naringin	0,02	0,22	0,29	0,12	0,23	0,03	0,05	0,14	0,13	0,14	0,04	0,89	1,14	0,08	0,38

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	Mezokarp 2019															
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31*
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC	1,30	1,01	0,97	1,85	1,44	0,81	1,40	1,53	1,77	1,57	1,19	1,57	1,17	2,17	1,98	1,07
RSA	10,97	10,17	11,91	9,50	10,42	8,62	8,13	9,52	9,22	6,54	9,36	6,03	9,95	10,41	11,42	8,81
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	10,31	14,90	7,78	16,94	20,66	11,09	30,62	21,07	30,06	25,70	17,83	23,66	28,50	22,10	24,39	17,80
Caffeic acid	1,04	1,00	0,98	0,97	1,02	0,99	0,93	0,94	0,97	1,01	0,97	1,00	0,95	0,97	1,03	1,01
Floretin	0,20	0,17	0,08	0,23	0,09	0,11	0,12	0,09	0,21	0,24	0,10	0,22	0,08	0,15	0,26	0,10
Florizin	3,99	2,19	1,32	3,65	1,50	1,90	2,67	1,58	3,70	5,93	1,54	3,59	1,36	1,65	5,11	1,65
Kvercetin	1,79	1,73	1,69	1,67	1,75	1,71	1,61	1,62	1,67	1,73	1,67	1,73	1,64	1,66	1,77	1,74
Rutin	0,06	0,05	0,05	0,11	0,03	0,05	0,05	0,06	0,12	0,03	0,23	0,08	0,05	0,04	0,06	0,11
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,37	0,37	0,58	1,02	0,31	0,40	0,49	0,60	0,61	0,21	1,01	0,70	0,30	0,22	0,34	0,56
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	0,36	0,08	0,68	1,04	0,67	0,05	0,57	0,63	0,10	0,13	0,55	0,07	0,31	0,23	0,66	0,34
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,06	0,05	0,04	0,08	0,03	0,06	0,04	0,06	0,04	0,05	0,08	0,04	0,02	0,00	0,03	0,04
Kamferol	1,08	1,04	1,02	1,01	1,06	1,03	0,97	0,98	1,01	1,05	1,01	1,04	0,99	1,01	1,07	1,05
Naringenin	1,10	1,06	1,04	1,03	1,08	1,05	0,99	1,00	1,03	1,07	1,03	1,06	1,01	1,02	1,09	1,07
Protocatehuinska kiselina	1,18	1,13	1,11	1,10	1,15	1,12	1,06	1,06	1,09	1,14	1,10	1,13	1,07	1,09	1,16	1,14
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,77	0,74	0,73	0,72	0,75	0,74	0,69	0,70	0,72	0,75	0,72	0,74	0,70	0,72	0,76	0,75
Katehin	1,43	1,37	1,34	1,33	1,39	1,36	1,28	1,29	1,32	1,38	1,33	1,37	1,30	1,32	1,40	1,39
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,34	0,33	0,32	0,32	0,34	0,33	0,31	0,31	0,32	0,33	0,32	0,33	0,31	0,32	0,34	0,33
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,93	0,89	0,87	0,86	0,90	0,88	0,83	0,84	0,86	0,89	0,86	0,89	0,85	0,86	0,91	0,90
Ferulic acid	1,34	1,29	1,26	1,25	1,31	1,27	1,20	1,21	1,24	1,29	1,24	1,29	1,22	1,24	1,32	1,30
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	1,28	1,23	1,20	1,19	1,25	1,22	1,15	1,15	1,19	1,24	1,19	1,23	1,17	1,19	1,26	1,24
Apigenin	0,80	0,77	0,76	0,75	0,78	0,76	0,72	0,72	0,75	0,77	0,75	0,77	0,73	0,74	0,79	0,78
Luteolin	0,66	0,63	0,62	0,61	0,64	0,63	0,59	0,59	0,61	0,64	0,61	0,63	0,60	0,61	0,65	0,64
Eriodiktiol	1,18	1,14	1,12	1,10	1,16	1,13	1,06	1,07	1,10	1,14	1,10	1,14	1,08	1,10	1,17	1,15
Galna kiselina	0,96	0,92	0,90	0,89	0,93	0,91	0,86	0,86	0,89	0,92	0,89	0,92	0,87	0,89	0,94	0,93
Naringin	0,16	1,02	0,20	0,88	0,87	0,80	0,88	0,64	1,86	0,49	0,24	1,57	0,61	0,60	1,53	0,17

* uzorak dostupan samo u 2019. godini.

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo	Pokožica														
Godina	2018														
Broj sorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tip sorte	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A
TPC	3,67	5,31	6,51	3,43	4,55	5,44	4,52	3,55	3,30	3,13	3,50	7,71	6,78	7,52	6,70
RSA	50,75	57,64	42,08	29,34	36,35	61,21	33,25	30,81	54,82	26,28	31,12	49,35	40,93	43,19	41,46
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	4,55	7,58	85,52	63,33	12,64	206,53	49,84	11,99	25,73	12,46	3,81	80,99	312,00	24,77	557,46
Caffeic acid	0,03	0,05	0,34	0,26	0,08	0,83	0,24	0,06	0,13	0,07	0,05	0,33	1,30	0,15	1,69
Floretin	0,14	0,07	0,16	0,17	0,20	0,17	0,14	0,07	0,05	0,11	0,14	0,37	1,25	0,61	1,00
Florizin	20,66	6,10	23,09	19,18	10,52	13,77	12,14	3,95	4,03	4,05	4,99	31,99	42,85	38,31	30,21
Kvercetin	28,22	21,00	30,59	27,83	28,62	33,74	25,60	20,44	9,53	19,42	15,91	31,67	33,07	45,77	20,18
Rutin	2,20	13,41	3,26	5,01	1,87	5,59	3,12	3,67	3,24	5,70	1,28	2,55	9,41	4,43	11,96
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	49,12	62,71	57,45	53,31	34,87	55,39	48,39	45,36	35,21	41,72	24,24	45,43	45,11	54,00	32,31
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	25,63	38,94	27,15	26,00	29,40	67,68	23,90	48,94	47,49	42,03	6,71	22,66	16,99	24,11	17,79
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucozid	0,65	0,66	3,27	0,21	1,03	2,24	0,28	1,47	0,06	0,14	0,04	4,55	0,08	1,51	0,08
Kamferol	0,23	0,15	0,12	0,24	0,23	0,72	0,19	0,30	0,15	0,35	0,14	0,23	0,42	0,67	0,41
Naringenin	0,06	0,04	0,08	0,06	0,12	0,08	0,06	0,09	0,02	0,04	0,57	0,14	0,08	0,56	0,06
Protocatehuinska kiselina	0,51	0,51	0,86	0,52	0,57	1,01	0,68	0,92	0,57	0,54	0,97	0,57	0,65	0,71	0,99
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,07	0,11	0,10	0,07	0,20	0,05	0,08	0,15	0,08	0,15	0,13	0,09	0,12	0,16	0,30
Katehin	28,26	33,26	41,53	24,10	21,31	35,51	43,72	6,79	15,69	16,18	21,42	74,61	59,42	50,27	30,25
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,04	0,05	0,09	0,05	0,06	0,17	0,07	0,05	0,05	0,07	0,08	0,05	0,34	0,06	0,69
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,22	0,15	0,39	0,07	0,28	0,94	0,10	0,50	1,10	0,13	0,02	0,65	0,47	0,22	0,48
Ferulic acid	0,69	0,05	0,03	0,67	0,02	0,05	0,05	0,06	0,03	0,03	0,05	0,03	0,21	0,03	0,25
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	6,06	2,73	0,66	3,27	0,66	0,65	2,28	0,65	3,22	5,53	1,97	0,66	2,13	0,64	4,66
Apigenin	0,41	0,40	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,41	0,95	0,41	0,42	0,41	0,41	0,40	0,41
Luteolin	0,34	0,33	0,34	0,33	0,34	0,33	0,34	0,33	0,78	0,33	0,34	0,34	0,34	0,33	0,34
Eriodiktiol	0,61	0,59	0,61	0,59	0,61	0,60	0,61	0,60	1,40	0,60	0,62	0,61	0,60	0,60	0,61
Galna kiselina	0,49	0,48	0,49	0,48	0,49	0,48	0,49	0,49	1,13	0,49	0,50	0,49	0,49	0,48	0,49
Naringin	0,38	0,37	0,38	0,37	0,38	0,38	0,38	0,38	0,88	0,38	0,39	0,38	0,38	0,37	0,38

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	Pokožica 2018														
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC	6,60	6,40	5,70	8,54	7,53	7,52	4,87	4,35	5,07	8,42	7,57	7,91	5,41	8,59	9,26
RSA	40,85	41,45	37,08	44,13	45,61	39,48	39,21	29,51	34,16	45,64	45,86	40,38	36,07	48,44	45,71
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	36,15	428,67	430,92	93,81	503,12	214,73	224,67	96,40	326,37	269,85	257,52	227,26	235,77	272,71	312,87
Caffeic acid	0,12	1,52	1,64	1,05	1,71	0,80	0,89	0,49	1,35	0,84	1,19	0,79	0,78	0,81	1,29
Floretin	0,68	1,26	1,21	0,92	0,38	0,48	0,18	0,21	0,48	0,35	0,12	0,77	0,27	0,53	0,15
Florizin	25,77	38,95	35,58	35,46	17,95	44,66	17,54	14,76	43,69	54,25	12,72	59,04	25,24	32,52	13,25
Kvercetin	39,11	38,04	22,12	16,99	24,70	27,77	9,78	17,74	21,94	19,30	16,34	20,71	18,61	38,18	14,24
Rutin	5,98	19,70	3,87	1,71	1,26	23,24	0,45	4,30	9,92	20,62	8,12	6,52	0,67	6,29	6,09
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	42,68	43,15	19,86	15,52	23,53	71,81	9,18	37,66	41,80	75,25	37,63	45,05	30,44	50,68	27,02
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	20,46	15,32	8,50	14,00	18,80	23,20	9,09	20,87	15,38	27,26	16,00	18,84	19,12	25,26	13,00
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	2,18	0,18	0,06	0,04	1,94	0,28	2,12	0,09	0,17	0,24	0,25	0,18	2,41	0,24	0,14
Kamferol	0,61	0,59	0,17	0,55	0,34	0,17	0,02	0,11	0,30	0,48	0,22	0,11	0,09	0,39	0,15
Naringenin	0,57	0,11	0,05	0,06	0,09	0,04	0,04	0,04	0,06	0,07	0,03	0,04	0,12	0,14	0,03
Protocatehuinska kiselina	0,89	0,66	0,53	0,51	0,62	0,80	0,43	0,51	0,55	0,85	0,52	0,76	1,07	0,60	0,59
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,17	0,13	0,08	0,18	0,22	0,28	0,07	0,07	0,07	0,32	0,10	0,35	0,17	0,07	0,11
Katehin	31,55	32,30	56,05	136,11	58,32	49,52	29,85	77,83	37,78	43,97	57,66	56,56	34,24	88,20	58,57
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,04	0,30	0,51	1,50	0,40	0,18	0,23	0,39	0,33	0,09	0,28	0,24	0,18	0,08	0,35
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,65	0,48	0,47	0,48	0,31	0,46	0,26	0,05	0,47	0,49	0,12	0,13	0,21	0,47	0,07
Ferulic acid	0,69	0,22	0,44	0,48	0,18	0,09	0,09	0,52	0,33	0,03	0,47	0,11	0,04	0,06	0,27
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	12,21	3,93	1,42	1,87	0,65	3,08	0,66	1,43	2,55	7,45	2,68	2,30	0,66	3,52	2,76
Apigenin	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,40	0,41	0,41	0,41	0,42	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Luteolin	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,34	0,34	0,33	0,35	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Eriodiktiol	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61	0,59	0,61	0,61	0,60	0,62	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
Galna kiselina	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,48	0,49	0,49	0,49	0,50	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Naringin	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,37	0,38	0,38	0,38	0,39	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	Pokožica 2019														
Broj sorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tip sorte	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A
TPC	21,52	24,89	16,11	9,70	37,33	11,66	7,64	15,47	18,37	20,66	10,49	22,26	25,88	22,01	23,42
RSA	34,60	113,34	40,95	23,56	34,36	27,32	21,84	27,21	35,45	31,07	23,42	48,58	38,99	36,24	42,92
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	5,85	128,47	9,33	26,95	100,11	64,38	16,47	18,56	22,27	14,21	27,66	35,98	134,99	11,55	116,21
Caffeic acid	0,07	0,22	0,26	0,13	0,60	0,36	0,08	0,18	0,43	0,22	0,33	0,29	0,97	0,08	0,77
Floretin	0,52	0,99	0,24	0,43	0,89	0,30	0,12	0,10	0,21	0,61	0,21	0,98	1,54	0,71	0,94
Florizin	17,04	42,39	7,69	10,53	30,53	9,83	2,81	1,61	4,98	12,20	6,69	21,09	45,76	23,04	36,21
Kvercetin	57,01	20,41	37,10	32,51	27,76	20,67	14,02	41,46	44,78	92,04	18,54	70,28	30,64	51,53	55,63
Rutin	32,12	61,76	33,55	21,88	16,61	12,07	6,57	50,33	47,27	36,25	23,94	35,26	46,62	40,95	229,97
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	160,14	115,36	153,66	123,16	158,20	104,07	69,73	229,18	158,33	231,86	116,11	164,90	123,63	163,25	244,14
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	41,50	20,41	39,47	38,08	49,81	115,14	26,45	142,32	122,90	80,39	75,90	40,80	24,56	53,05	72,10
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	19,92	7,28	14,53	10,51	23,84	15,63	8,16	33,93	14,14	48,22	9,46	30,11	8,18	20,31	20,76
Kamferol	0,87	0,56	0,85	0,63	0,60	0,80	0,51	0,84	1,45	1,32	0,68	0,74	0,60	1,09	1,56
Naringenin	0,21	0,33	0,14	0,13	0,19	0,11	0,05	0,15	0,08	0,24	0,10	0,29	0,28	0,45	0,19
Protocatehuinska kiselina	1,49	1,39	1,40	1,45	1,49	1,50	1,47	1,45	1,49	1,50	1,42	1,50	1,51	1,49	1,49
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,97	0,91	0,92	0,95	0,98	0,98	0,97	0,95	0,98	0,98	0,93	0,98	0,99	0,97	0,98
Katehin	1,80	1,68	1,70	1,76	1,80	1,81	1,78	1,76	1,81	1,82	1,72	1,82	1,83	1,80	1,80
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,43	0,41	0,41	0,42	0,44	0,44	0,43	0,42	0,44	0,44	0,42	0,44	0,44	0,43	0,43
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,17	1,09	1,10	1,14	1,17	1,18	1,16	1,14	1,18	1,18	1,12	1,18	1,19	1,17	1,17
Ferulic acid	1,69	1,58	1,59	1,65	1,69	1,70	1,67	1,65	1,70	1,70	1,61	1,70	1,71	1,69	1,69
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	1,61	1,51	1,53	1,58	1,62	1,63	1,60	1,58	1,62	1,63	1,54	1,63	1,64	1,61	1,62
Apigenin	0,07	0,13	0,08	0,05	1,02	0,05	0,02	0,08	0,05	0,11	0,97	0,11	0,03	0,20	0,03
Luteolin	0,83	0,78	0,78	0,81	0,83	0,84	0,82	0,81	0,83	0,84	0,79	0,84	0,84	0,83	0,83
Eriodiktiol	0,10	0,06	0,06	0,09	0,10	0,04	0,03	0,09	0,12	0,14	0,05	0,14	0,06	0,11	0,06
Galna kiselina	1,21	1,13	1,14	1,18	1,21	1,22	1,20	1,18	1,21	1,22	1,16	1,22	1,23	1,21	1,21
Naringin	1,09	11,85	2,29	2,03	5,62	1,99	1,12	0,16	1,59	4,17	1,39	6,94	11,61	1,57	2,72

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo	Pokožica															
Godina	2019															
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31*
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC	24,69	22,57	18,46	28,78	41,62	20,47	24,95	25,26	27,77	21,16	28,66	21,47	28,70	10,61	24,33	15,24
RSA	43,80	98,13	40,19	46,76	38,10	36,00	124,55	43,40	112,90	35,21	48,97	38,88	54,05	23,48	42,85	28,46
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	15,47	60,17	16,46	24,38	67,36	94,21	67,08	50,20	128,06	89,73	121,61	127,79	94,35	1,37	82,14	74,63
Caffeic acid	0,07	0,51	0,34	0,30	0,46	0,35	1,49	0,24	1,04	0,85	1,16	0,93	0,32	0,08	0,71	0,46
Floretin	0,84	1,40	0,47	1,51	3,51	1,22	1,14	0,91	1,57	3,26	0,36	1,67	0,84	0,20	3,88	0,33
Florizin	32,37	31,89	10,74	36,77	52,88	35,48	25,63	25,75	44,95	40,00	11,82	25,01	34,31	1,22	45,84	10,16
Kvercetin	54,33	18,04	92,90	19,48	112,09	18,70	53,51	47,06	26,16	18,84	73,30	27,22	34,85	13,39	41,72	12,17
Rutin	63,71	20,06	19,36	98,76	19,62	45,39	67,03	134,38	61,36	57,98	167,03	62,38	46,11	4,30	44,22	36,04
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	183,65	80,28	173,74	153,35	172,96	117,30	193,38	209,13	125,08	139,46	224,54	123,87	226,27	64,85	141,76	85,73
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	54,16	16,13	57,65	49,84	77,79	17,31	52,86	54,38	22,08	29,94	47,81	14,37	75,22	11,12	41,29	19,66
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	22,63	4,86	18,82	11,77	44,99	6,58	74,46	17,20	7,77	11,34	19,38	7,17	36,32	7,51	13,77	7,39
Kamferol	1,33	0,57	1,23	0,95	1,06	0,51	0,76	0,97	0,65	0,82	1,46	0,91	0,65	0,53	1,01	0,61
Naringenin	0,55	0,22	0,19	0,26	0,70	0,19	0,68	0,45	0,40	0,65	0,16	0,69	0,39	0,07	0,75	0,08
Protocatehuinska kiselina	1,49	1,46	1,50	1,51	1,49	1,49	1,51	1,52	1,51	1,49	1,49	1,48	1,47	1,45	1,42	1,48
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,98	0,96	0,99	0,99	0,98	0,98	0,99	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,97	0,95	0,93	0,97
Katehin	1,81	1,77	1,82	1,83	1,80	1,81	1,82	1,84	1,83	1,81	1,81	1,79	1,78	1,75	1,72	1,79
<i>p</i> -kumarinske kiselina	0,44	0,43	0,44	0,44	0,43	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,43	0,43	0,42	0,42	0,43
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,18	1,15	1,18	1,19	1,17	1,17	1,18	1,20	1,19	1,17	1,17	1,17	1,16	1,14	1,12	1,17
Ferulic acid	1,70	1,66	1,71	1,72	1,69	1,69	1,71	1,73	1,71	1,70	1,70	1,68	1,67	1,64	1,61	1,68
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	1,62	1,59	1,63	1,65	1,62	1,62	1,64	1,65	1,64	1,62	1,62	1,61	1,60	1,57	1,54	1,61
Apigenin	1,02	0,03	0,08	0,03	0,10	0,02	0,30	1,04	0,12	1,02	0,05	0,25	0,15	0,03	0,97	1,01
Luteolin	0,84	0,82	0,84	0,85	0,83	0,83	0,84	0,85	0,84	0,83	0,83	0,83	0,82	0,81	0,79	0,83
Eriodiktiol	0,11	0,03	0,14	0,11	0,22	0,05	0,23	0,09	0,09	0,12	0,11	0,11	0,08	0,05	0,30	0,04
Galna kiselina	1,21	1,19	1,22	1,23	1,21	1,21	1,22	1,24	1,23	1,21	1,21	1,20	1,20	1,18	1,16	1,21
Naringin	1,81	7,48	2,33	8,33	7,42	11,37	5,13	5,64	12,48	6,29	2,90	9,13	5,14	0,22	5,70	3,15

* uzorak dostupan samo u 2019. godini.

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	List 2018															
Broj sorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Tip sorte	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A	A
TPC	67,49	81,48	64,79	88,62	80,11	75,73	74,33	64,11	64,12	74,83	78,15	73,30	82,82	61,33	61,46	17,72
RSA	7,97	11,85	10,54	7,56	9,63	11,77	7,77	6,40	9,17	8,41	10,79	7,47	12,48	6,51	6,10	5,19
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	69,97	87,97	77,77	46,30	63,93	102,49	69,72	101,33	74,58	79,63	60,49	71,43	178,55	116,43	105,90	23,52
Caffeic acid	1,62	2,55	3,19	1,59	2,38	3,08	1,87	2,37	1,87	1,68	1,46	1,98	3,95	1,03	1,41	0,30
Floretin	81,67	38,85	61,83	243,70	273,32	285,53	58,16	416,08	392,33	235,46	213,48	400,51	179,21	208,41	360,40	85,56
Florizin	199,54	204,38	210,17	250,09	248,42	193,46	209,69	220,43	224,70	217,87	218,77	248,26	230,83	229,96	247,17	165,42
Kvercetin	19,81	30,47	31,69	33,66	22,10	32,09	12,46	44,51	37,22	23,08	29,96	24,94	26,66	16,44	27,33	19,73
Rutin	54,80	127,08	82,18	107,59	82,98	115,36	64,08	81,14	90,62	70,31	67,29	67,40	155,58	62,05	146,33	58,48
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	305,18	369,76	371,53	374,11	354,41	334,67	319,32	383,49	331,67	320,93	295,91	317,13	386,58	327,65	338,94	197,56
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	177,11	254,60	216,40	246,63	216,21	254,79	194,56	247,87	312,50	294,45	197,15	123,18	222,76	158,18	202,10	105,73
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	6,48	6,60	6,42	6,25	6,61	6,07	6,66	6,71	6,68	6,22	6,39	6,38	6,63	6,46	6,54	6,25
Kamferol	1,61	3,30	2,71	2,06	2,50	3,34	1,69	3,91	4,12	2,63	3,01	0,95	2,09	1,66	3,64	1,99
Naringenin	13,97	5,87	9,83	43,66	45,19	51,53	9,75	74,58	70,05	41,03	37,02	71,53	31,94	37,36	63,96	13,91
Protocatehuinska kiselina	6,98	4,24	3,46	3,30	3,61	6,08	6,40	5,00	4,94	5,27	6,41	8,48	7,73	5,99	4,64	3,16
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,84	1,16	0,89	0,37	0,47	1,77	2,20	0,71	0,68	1,05	0,13	1,18	2,13	1,71	2,01	0,41
Katehin	2,78	2,83	2,76	2,68	2,83	2,61	2,86	2,88	2,87	2,67	2,74	2,74	2,84	2,77	2,81	2,68
<i>p</i> -kumarinske kiselina	1,27	1,94	1,52	2,66	2,05	1,90	1,90	1,80	1,52	1,54	1,40	2,12	2,70	1,47	1,71	0,61
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,81	1,84	1,79	1,74	1,84	1,69	1,86	1,87	1,86	1,73	1,78	1,78	1,85	1,80	1,82	1,74
Ferulic acid	2,61	2,66	2,59	2,52	2,66	2,44	2,68	2,70	2,69	2,50	2,57	2,57	2,67	2,60	2,63	2,52
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	2,49	2,54	2,47	2,41	2,54	2,34	2,56	2,58	2,57	2,40	2,46	2,46	2,55	2,49	2,52	2,41
Apigenin	0,14	0,09	0,14	0,19	0,20	0,29	0,10	0,44	0,39	0,19	0,27	0,26	0,14	0,18	0,24	0,10
Luteolin	2,92	2,28	2,22	1,44	2,44	4,17	2,82	5,32	4,45	3,25	6,42	4,14	1,72	1,46	3,95	0,89
Eriodiktiol	2,31	2,35	2,29	2,23	2,36	2,17	2,37	2,39	2,38	2,22	2,28	2,28	2,36	2,30	2,33	2,23
Galna kiselina	0,96	0,56	0,33	0,17	0,37	0,80	0,93	0,47	0,46	0,56	0,80	1,18	0,94	0,61	0,33	0,22
Naringin	1,45	1,47	1,44	1,40	1,48	1,36	1,49	1,50	1,49	1,39	1,43	1,43	1,48	1,44	1,46	1,40

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo	List																
Godina	2018																
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC	17,72	71,47	76,08	80,27	74,85	74,78	78,97	47,51	79,92	80,48	62,65	65,22	74,37	56,85	87,86	73,03	
RSA	5,19	9,29	8,40	8,70	8,59	10,13	8,49	5,06	11,51	8,98	6,62	8,15	8,08	6,52	12,69	6,38	
5-<i>O</i>-kofeoilkiniska kiselina	23,52	105,99	168,18	175,81	56,20	122,64	157,90	94,25	44,75	145,69	132,38	80,78	184,12	159,70	104,65	143,92	
Caffeic acid	0,30	1,81	4,85	3,40	4,21	2,33	3,25	0,75	3,57	4,49	2,36	2,17	2,85	2,47	2,55	1,64	
Floretin	85,56	148,19	178,15	228,82	655,07	238,57	202,48	240,48	320,92	209,66	215,30	287,57	199,46	213,93	266,58	186,21	
Florizin	165,42	232,89	218,39	222,56	211,29	232,89	222,65	224,53	226,29	225,23	257,46	245,26	227,80	222,09	243,40	224,66	
Kvercetin	19,73	25,78	31,86	33,00	34,44	28,91	22,12	5,68	27,64	31,55	20,08	24,60	23,82	17,97	30,60	39,96	
Rutin	58,48	77,08	141,80	172,23	72,02	75,62	145,62	31,68	54,40	158,64	95,33	132,07	162,45	37,69	83,44	138,70	
Kvuercetin-3-<i>O</i>-glukozid	197,56	355,79	365,05	393,66	283,18	352,27	361,37	229,37	294,31	368,24	307,67	332,53	393,51	270,42	342,72	325,62	
Kvuercetin-3-<i>O</i>-rhamnozid	105,73	173,48	225,15	241,02	180,33	162,53	234,54	89,10	212,36	254,42	137,11	184,13	240,26	120,73	232,45	179,48	
Isorhamnetin-3-<i>O</i>-glukozid	6,25	6,68	6,18	6,31	6,10	6,49	6,24	6,69	6,39	6,47	6,62	6,71	6,44	6,45	6,22	6,05	
Kamferol	1,99	1,74	2,16	2,13	3,58	1,29	1,71	0,90	2,25	2,82	1,58	2,16	1,85	1,42	2,63	2,50	
Naringenin	13,91	25,56	31,47	39,20	117,72	41,83	34,78	42,53	56,49	35,74	37,19	50,88	35,01	36,76	46,61	31,99	
Protocatehuinska kiselina	3,16	6,19	8,91	7,18	8,47	4,50	10,58	6,12	9,81	8,49	12,97	5,43	8,17	6,02	3,65	4,91	
<i>p</i>-Hydroxybenzoeva kiselina	0,41	1,20	2,97	2,07	2,67	1,48	3,73	1,45	1,40	2,42	2,04	2,08	2,59	1,11	1,93	1,25	
Katehin	2,68	2,86	2,65	2,71	2,62	2,78	2,68	2,87	2,74	2,77	2,84	2,88	2,76	2,77	2,67	2,60	
<i>p</i>-kumarinske kiselina	0,61	1,46	2,75	2,97	3,51	3,85	2,80	1,72	4,47	4,76	2,54	2,08	2,48	1,97	2,17	1,75	
Isoramnetin-3-<i>O</i>-rutinozid	1,74	1,86	1,72	1,76	1,70	1,81	1,74	1,87	1,78	1,80	1,85	1,87	1,80	1,80	1,74	1,69	
Ferulic acid	2,52	2,69	2,49	2,54	2,45	2,61	2,51	2,69	2,57	2,60	2,67	2,70	2,59	2,60	2,50	2,44	
Kaempferol-7-<i>O</i>-glukozid	2,41	2,57	2,38	2,43	2,35	2,50	2,40	2,58	2,46	2,49	2,55	2,58	2,48	2,49	2,40	2,33	
Apigenin	0,10	0,14	0,16	0,17	0,39	0,19	0,17	0,24	0,23	0,16	0,22	0,22	0,19	0,19	0,21	0,21	
Luteolin	0,89	2,17	2,55	2,30	6,65	2,40	2,40	1,78	3,96	3,23	2,16	2,75	1,98	2,04	2,30	3,07	
Eriodiktiol	2,23	2,38	2,20	2,25	2,18	2,31	2,23	2,39	2,28	2,31	2,36	2,39	2,30	2,30	2,22	2,16	
Galna kiselina	0,22	0,53	1,41	0,77	1,28	0,49	2,23	0,93	1,20	1,05	1,88	0,44	1,00	0,79	0,35	0,37	
Naringin	1,40	1,49	1,38	1,41	1,36	1,45	1,39	1,49	1,43	1,44	1,48	1,50	1,44	1,44	1,39	1,35	

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo	List														
Godina	2019														
Broj sorte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tip sorte	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	A	A	A	A
TPC ³	99,11	104,32	92,19	104,61	97,69	93,21	88,89	80,14	104,32	97,56	87,28	91,59	83,93	88,64	73,83
RSA ⁴	9,26	13,62	14,04	11,10	8,28	13,68	9,68	10,15	11,02	12,59	12,00	9,24	9,32	8,89	7,64
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	112,33	72,55	97,00	70,45	59,14	78,24	89,20	103,18	72,44	75,41	43,34	132,30	200,04	242,98	116,82
Caffeic acid	1,88	2,16	2,06	2,24	0,67	3,96	2,80	2,91	1,34	2,72	0,92	0,70	1,39	0,63	0,08
Floretin	188,52	51,72	126,03	90,88	140,59	497,00	105,71	597,85	220,90	122,93	161,32	269,55	135,03	213,52	242,57
Florizin	253,11	228,54	231,57	235,20	251,79	230,63	242,11	238,54	228,33	234,58	240,02	268,79	269,32	252,44	241,14
Kvercetin	17,68	26,59	26,10	18,59	19,26	33,32	12,98	27,70	21,80	19,54	17,88	15,32	17,04	9,99	10,68
Rutin	92,10	159,94	115,69	122,18	81,83	144,17	138,99	97,31	98,87	80,60	86,36	84,34	125,94	60,74	216,52
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	354,14	396,65	383,94	358,79	315,92	382,91	366,63	392,95	321,76	342,39	326,39	289,45	334,62	279,36	346,06
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	173,90	243,92	200,04	207,81	200,54	274,48	191,40	253,26	283,70	325,70	190,68	104,11	218,95	116,53	203,14
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	6,11	6,62	6,05	6,10	6,34	6,25	6,59	6,43	6,51	6,65	6,71	6,15	6,61	6,47	6,14
Kamferol	1,29	2,28	1,54	1,14	1,49	2,55	1,34	2,31	1,71	1,57	2,34	0,78	1,74	1,00	1,55
Naringenin	33,90	8,85	21,88	16,31	25,82	88,31	18,78	103,31	37,78	22,24	29,53	46,42	24,67	37,93	43,59
Protocatehuinska kiselina	3,58	2,54	1,66	1,93	1,82	2,99	2,94	2,19	2,25	2,23	2,95	4,67	5,25	4,00	1,92
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,77	0,36	0,61	0,11	0,09	1,38	0,24	0,90	0,27	0,07	0,14	2,63	0,96	1,39	0,27
Katehin	2,62	2,84	2,60	2,62	2,72	2,68	2,83	2,76	2,79	2,85	2,88	2,64	2,84	2,78	2,64
<i>p</i> -kumarinske kiselina	1,51	0,67	1,14	1,89	1,87	2,16	0,56	0,76	0,59	0,49	1,07	0,39	2,14	1,62	0,20
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,70	1,85	1,69	1,70	1,77	1,74	1,84	1,79	1,81	1,85	1,87	1,71	1,84	1,80	1,71
Ferulic acid	2,46	2,66	2,44	2,45	2,55	2,51	2,65	2,59	2,62	2,67	2,70	2,47	2,66	2,60	2,47
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	2,35	2,55	2,33	2,35	2,44	2,41	2,54	2,48	2,51	2,56	2,58	2,37	2,54	2,49	2,37
Apigenin	0,12	0,10	0,10	0,08	0,08	0,38	0,10	0,35	0,18	0,13	0,20	0,13	0,07	0,14	0,14
Luteolin	2,14	1,96	1,68	1,90	1,87	4,05	2,46	3,55	3,08	3,61	6,34	2,09	0,87	1,42	1,16
Eriodiktiol	2,18	2,36	2,16	2,18	2,26	2,23	2,35	2,29	2,32	2,37	2,39	2,19	2,36	2,31	2,19
Galna kiselina	0,25	0,12	0,09	0,21	0,21	0,29	0,20	0,18	0,07	0,17	0,33	0,55	0,50	0,55	0,26
Naringin	1,37	1,48	1,35	1,36	1,42	1,40	1,47	1,44	1,45	1,49	1,50	1,37	1,48	1,45	1,37

Prilog 4. Nastavak tabele.

Tkivo Godina	List 2019															
Broj sorte	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Tip sorte	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
TPC ³	82,71	100,83	97,17	114,02	87,64	94,29	75,30	97,00	94,84	90,64	93,30	90,62	83,16	82,25	121,22	83,39
RSA ⁴	7,12	8,61	7,90	8,15	10,31	9,36	5,23	11,15	8,31	7,54	9,41	7,82	8,02	8,29	13,97	7,71
5- <i>O</i> -kofeoilkiniska kiselina	189,53	224,23	210,63	79,55	55,35	223,15	106,94	78,22	190,50	136,59	121,52	229,52	116,12	242,99	209,62	160,25
Caffeic acid	0,92	1,93	1,34	3,10	1,19	2,20	0,56	1,53	1,77	0,72	0,79	1,90	0,56	2,07	1,51	0,66
Floretin	126,41	163,90	256,99	544,91	293,43	199,88	128,12	274,40	185,14	297,98	268,46	161,32	261,81	282,64	184,23	149,25
Florizin	240,02	266,35	264,01	272,20	251,33	252,47	262,87	247,11	248,61	265,01	280,90	264,56	233,19	253,84	290,45	269,54
Kvercetin	7,25	19,52	10,60	18,80	14,26	15,26	3,85	10,76	12,66	14,35	13,87	13,06	19,12	12,59	15,35	5,80
Rutin	62,92	127,96	64,86	139,53	174,71	208,55	60,76	153,82	198,98	116,67	164,08	129,63	109,16	42,79	153,06	136,41
Kvuercetin-3- <i>O</i> -glukozid	286,96	351,21	311,45	307,52	354,91	390,78	247,85	340,41	365,74	286,16	320,22	358,97	351,30	260,74	378,47	310,27
Kvuercetin-3- <i>O</i> -rhamnozid	131,37	226,48	138,41	196,13	198,34	231,58	101,46	214,89	234,91	158,03	182,02	210,69	226,34	135,41	215,72	160,56
Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukozid	6,33	6,52	6,41	6,72	6,30	6,53	6,56	6,29	6,34	6,34	6,46	6,62	6,22	6,26	7,07	6,70
Kamferol	1,04	1,61	0,89	1,27	0,75	1,32	0,94	1,44	1,17	1,67	2,12	1,68	2,28	1,66	1,58	1,40
Naringenin	22,62	29,44	46,52	98,54	51,25	34,15	22,56	48,41	32,64	53,14	48,59	28,57	46,33	49,35	33,64	25,81
Protocatehuinska kiselina	3,59	5,09	2,46	4,96	5,34	4,41	3,01	3,97	3,82	6,84	2,80	5,26	1,62	4,44	3,78	3,28
<i>p</i> -Hydroxybenzoeva kiselina	0,51	0,68	0,96	2,50	1,36	1,13	2,35	2,33	1,35	1,99	2,08	0,94	0,59	1,11	1,48	1,70
Katehin	2,71	2,80	2,75	2,88	2,70	2,80	2,82	2,70	2,72	2,72	2,77	2,84	2,67	2,69	3,03	2,88
<i>p</i> -kumarinske kiselina	1,26	1,96	1,65	4,27	1,36	0,93	0,39	2,36	2,89	2,07	1,67	2,57	1,43	2,00	2,16	1,86
Isoramnetin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,76	1,82	1,79	1,87	1,76	1,82	1,83	1,75	1,77	1,77	1,80	1,85	1,73	1,75	1,97	1,87
Ferulic acid	2,55	2,62	2,58	2,70	2,53	2,63	2,64	2,53	2,55	2,55	2,60	2,66	2,50	2,52	2,84	2,70
Kaempferol-7- <i>O</i> -glukozid	2,44	2,51	2,47	2,59	2,42	2,52	2,53	2,42	2,44	2,44	2,49	2,55	2,40	2,41	2,72	2,58
Apigenin	0,08	0,10	0,13	0,23	0,15	0,11	0,12	0,14	0,14	0,17	0,14	0,08	0,16	0,15	0,15	0,11
Luteolin	1,28	0,86	1,36	4,05	1,82	1,04	1,73	2,15	1,15	1,76	0,46	0,95	1,59	2,01	0,95	1,30
Eriodiktiol	2,26	2,32	2,29	2,39	2,24	2,33	2,34	2,24	2,26	2,26	2,30	2,36	2,22	2,23	2,52	2,39
Galna kiselina	0,41	0,63	0,27	0,63	0,70	0,41	0,28	0,58	0,52	0,81	0,33	0,65	0,04	0,53	0,59	0,27
Naringin	1,41	1,46	1,43	1,50	1,41	1,46	1,47	1,41	1,42	1,42	1,44	1,48	1,39	1,40	1,58	1,50

Prilog 5. Sadržaj ukupnih fenola prema Folin-Čikalteu eseju (TPC) u ekstraktima koji su ispitivani primenom bioautografije.

Redni broj	Sorta	TPC (g/kg GAE)					
		Mezokarp ¹		Pokožica		List	
1.	Revena	M1 ²	0,59	P1	18,68	L1	107,28
2.	Demirka	M2	0,91	P2	15,23	L2	92,33
3.	Jesenji Jablan	M3	1,87	P3	15,58	L3	110,95
4.	Kadumana	M4	2,68	P4	30,90	L4	94,73
5.	Kopaoničanka	M5	1,97	P5	20,26	L5	89,98
6.	Jonagold	M6	0,57	P6	16,30	L6	87,51

1 – Ekstrahovano tkivo.

2 – Oznaka ekstrakta po kojoj se spominje u tekstu.

Biografija

Nikola M. Horvacki rođen je 24.1.1994. u Subotici, gde je završio osnovnu i srednju školu. Osnovne akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Hemijski fakultet upisao je školske 2013/14 godine. Završni rad na osnovnim akademskim studijama pod naslovom „Polifenoli lišća jabuke“ odbranio je u septembru 2017. godine (prosečna ocena tokom OAS: 9,14). Master akademske studije upisao je školske 2017/18. godine pri Katedri za analitičku hemiju, Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet. Master rad pod naslovom „Ispitivanje sadržaja šećera i polifenola lišća jabuke u zavisnosti od ekspozicije svetlosti“ odbranio je u septembru 2018. godine (mentor prof. dr Živoslav Tešić, prosečna ocena tokom MAS: 10,00). Školske 2018/19 godine upisuje doktorske akademske studije pri Katedri za analitičku hemiju, Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet (mentori studija prof. dr Dušanka Milojković-Opsenica i prof. dr Milica Fotirić-Akšić). Od januara 2019. godine radi kao istraživač-pripravnik u Inovacionom centru Hemijskog fakulteta, a u septembru 2021. godine stiče zvanje istraživač-saradnik. Od januara 2023. godine je angažovan kao analitičar u okviru InovaLab – laboratorija za ispitivanje autentičnosti hrane Inovacionog centra Hemijskog fakulteta.

Od školske 2018/19. do 2022/23. godine bio je uključen u izvođenje laboratorijskih vežbi na predmetima Praktikum iz analitičke hemije (OAS studijski programi Hemija, Biohemija i Hemija životne sredine) i Klasične metode analitičke hemije (Fakultet za fizičku hemiju).

Objavljeni radovi u sklopu disertacije

Nikola Horvacki je koautor 20 bibliografskih jedinica (1 rad u istaknutom međunarodnom časopisu izizetnih vrednosti - **M21a**, 4 rada u istaknutim međunarodnim časopisima - **M22** i 15 saopštenja sa međunarodnih i nacionalnih skupova). Od pomenutih, deo ove disertacije čine:

Radovi istaknutim međunarodnim časopisima izizetnih vrednosti (M21a):

- 1.1. **N. M. Horvacki**, D. D. Milinčić, M. D. Jović, A. M. Dramićanin, M. M. Fotirić Akšić, M. B. Pešić, D. M. Milojković-Opsenica, Bioassay-guided evaluation of antimicrobial properties and profile of bioactive compounds from leaf, peel and mesocarp of four apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) grown in Serbia: Application of HPTLC-EDA and UHPLC Q-ToF MS techniques, Food Chemistry, 2025, 467, 142336. (IF₍₂₀₂₃₎ = 8,5 ; категорија: *Food Science & Technology* 8/141, ISSN 1873-7072)
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142336>

Radovi objavljeni u istaknutim međunarodnim časopisima (M22):

- 2.1. **N. Horvacki**, F. Andrić, Uroš Gašić, D. Đurović, Ž. Tešić, M. Fotirić Akšić, Uroš Gašić, D. Milojković-Opsenica, Phenolic Compounds as Phytochemical Tracers of Varietal Origin of Some Autochthonous Apple Cultivars Grown in Serbia, Molecules, 2022, 27, 7651. (IF₍₂₀₂₃₎ = 4,2 ; категорија: *Chemistry, Multidisciplinary* 66/175, ISSN 1420-3049)
<https://doi.org/10.3390/molecules27217651>

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34):

- 3.1. **N. Horvacki**, U. Gašić, T. Tosti, D. Milojković-Opsenica, M. Fotirić Akšić, Ž. Tešić, Quantification of polyphenols in some autochthonous apple cultivars from Serbia, UNIFOOD Konferencija, Beograd, 24-25. septembar 2021.

Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64):

- 4.1. **N. Horvacki**, M. Jakanovski, D. Milojković-Opsenica, M. Fotirić Akšić, Mogućnost valorizacije pojedinih sorti autohtonih jabuka u Srbiji, Savremene tehnologije i tendencije razvoja poljoprivrede – nacionalni naučni skup, 25. april 2024, Čačak, Srbija, Zbornik apstrakata, strana 15.
<https://cherry.chem.bg.ac.rs/handle/123456789/6882>
- 4.2. **N. M. Horvacki**, M. V. Jakanovski, D. M. Milojković-Opsenica, Comparative assessment of preeminent sugars and organic acids in fruits of several apple cultivars, 9. Konferencija mladih hemičara Srbije, Novi Sad, 4. Novembar 2023., Book of Abstracts P-21.
<https://cherry.chem.bg.ac.rs/handle/123456789/6227>

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Име и презиме: **Никола Хорвацки**

Број индекса: **ДХ01/2018**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме: **Никола Хорвацки**

Број индекса: **ДХ01/2018**

Студијски програм : **Хемија**

Наслов рада: **Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије**

Ментори: **др Душанка Милојковић-Опсеница**

др Милица Фотирић-Акшић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
- 4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима**
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3. *наставак*
Изјава о коришћењу

1. **Ауторство** – Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прераде.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прераде.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.