

Предмет: Извештај Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Николе Хорвацког**, мастер хемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 9. маја 2025. године, изабрани смо за чланове Комисије за преглед и оцену докторске дисертације (одлука бр. 238/7) кандидата **Николе Хорвацког**, мастер хемичара, студента докторских студија Универзитета у Београду – Хемијског факултета, под насловом:

„Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије”

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на својој седници одржаној 27. маја 2021. године на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број 61206-2108/2-21). Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно-научном већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Николе Хорвацког написана је на 132 стране А4 формата (фонт Times New Roman, величина 12 pt, проред 1, маргине 2 cm) и садржи 178 литературних навода. Текст дисертације садржи 19 слика и 24 табеле у тексту дисертације и 5 табела у прилогу. Дисертација се састоји од следећих поглавља: 1. Увод (1 страна), 2. Општи део (14 страна), 3. Експериментални део (11 страна), 4. Резултати и дискусија (52 стране), 5. Закључак (2 стране), 6. Литература (12 страна), 7. Прилог (40 страна). Поред наведеног, дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Страну са информацијама о менторима и члановима Комисије, Сажетак на српском језику (1 страна) и енглеском језику (1 страна), Листу скраћеница (1 страна), Садржај (2 стране), Биографију кандидата (1 страна), Списак радова и саопштења проистеклих из дисертације (1 страна), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истоветности о штампаној и електронској верзији (1 страна), Изјаву о коришћењу (2 стране).

У **УВОДУ** се наводи важност и заступљеност јабуке као воћне културе у различитим климатским условима, постојање велике разноликости генотипова јабуке и значај очувања и проучавања генетске разноликости јабуке, првенствено кроз испитивање старих и аутохтоних сорти. Констатовано је да аутохтоне сорте имају бољу прилагођеност локалним еколошким условима и да испољавају већу отпорност према дејству патогена. Такође, указује се на значај познавања фитохемијског састава ради унапређења програма узгоја јабуке, као и да су слична испитивања аутохтоних сорти јабуке обављана и у другим европским државама, док аутохтоне сорте јабуке у Србији нису детаљно испитиване. Наведено је да дисертација има за циљ систематску карактеризацију аутохтоних сорти јабуке у Србији и њихово поређење са конвенционалним резистентним сортама.

У **ОПШТЕМ ДЕЛУ** представљен је преглед литературних података, који је подељен у четири целине. У првој целини, Порекло и агроекологија јабуке, дат је кратак опис јабуке као биљне врсте, образложен значај јабуке у економском смислу и дат преглед њене распрострањености и обима гајења. Наглашен је значај аутохтоних сорти и наведене могуће потребе и изазови који одређују даљи ток селекције јабуке и развој сорти. У другој целини, Хемијски састав јабуке, описане су класе хемијских једињења чије присуство је наведено у литератури са нагласком на класе које су предмет испитивања дисертације (шећери, полиоли, органске киселине кратког низа, полифенолна једињења). У трећој целини, Методе анализе фитохемијског састава, описана је теоријска основа примењених спектрофотометријских метода анализа, емисионе технике анализе (индукованокуплована плазма), као и примењених хроматографских метода анализе (високоефикасна танкослојна хроматографија, висоефикасна анјонизмењивачка и ултраефикасна течна хроматографија спрегнута са масеном спектрометријом). У четвртој целини су укратко описани теоријски принципи примењених статистичких метода обраде добијених података.

У поглављу **ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО** наведени су материјал, реагенси и хемикалије које су коришћене за реализацију експерименталног рада. Дат је и опис узорака и начин припреме екстракта. Узорци су подељени у три категорије према типу сорте: аутохтоне, стандардне и резистентне сорте. Испитивани узорци су подељени у зависности од врсте ткива: мезокарп, покожица и лист, и напоменуто је да је узорковање обављено током три узастопне године. Приказани су експериментални поступци којима су извршене анализе у оквиру докторске дисертације. Наведене су статистичке методе и методе обраде података.

У поглављу **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА** приказани су резултати ове дисертације. У оквиру прве целине дат је преглед резултата испитивања садржаја сахара у 30 узорака мезокарпа јабуке, прикупљених током три узастопне године, као и њихова дискусија у контексту са резултатима описаним у истраживањима других аутора. Применом анализе главних компоненти уочена је груба подела сорти на групу коју чине аутохтоне сорте и групу коју чине стандардне и резистентне сорте. У оквиру ових група долази до појаве две подгрупе. Ове две подгрупе су окарактерисане истим једињењима код аутохтоних и осталих типова сорти. Применом мултиваријантне анализе варијанси испитан је утицај типа сорте и године узорковања на садржај квантификованих једињења. У другој целини приказани су резултати испитивања сахара и карбоксилних киселина кратког

низа у узорцима листа јабуке. Употребљене су исте експерименталне и статистичке методе као и код мезокарпа. У трећој целини дискутовани су резултати одређивања елемената. При датим условима гајења и уз примењене експерименталне методе садржај елемената није показао изражен допринос у раздвајању сорти према типу. У четвртој целини приказани су резултати квантификације појединачних полифенолних једињења у узорцима мезокарпа, покожице и листа јабуке, прикупљених током две године. Помоћу мултиваријантне анализе варијанси установљено је да тип сорте утиче на садржај укупних полифенола по Фолин-Чокалтеу есеју, садржају флоретина, флоризина и 5-О-кофеилкининске киселине. Анализа главних компоненти показује јасно раздвајање по годинама узорковања и показује расподелу дуж оса у зависности од типа сорте. У петој целини описана су биоаутографска испитивања и размотрена је антимикуробна активност екстракта одабраних сорти према сојевима *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Erwinia amylovora*. Израженију антимикуробну активност су показали екстракти листа и покожице у односу на мезокарп. Анализа главних компоненти је показала раздвајање група у зависности од испитиваног ткива и формирање група приликом испитивања различитих сојева (при разматрању резултата од истог ткива на нивоу сета података). У последњим целинама испитиван је полифенолни профил одабраних узорака мезокарпа (укупно 24 узорка, 20 аутохтоних сорти, 2 стандардних и 2 резистентних сорти) као и полифенолни профили покожице и листа. Полифенолни профили покожице и листа су испитани у контексту супстанци присутних у зонама антимикуробне активности при биоаутографским испитивањима. Екстракти су фракционисани пре одређивања полифенолног профила, како би фракције могле да се повежу са антимикуробним зонама којима одговарају фракције, као и са једињењима чије је присуство у њима утврђено.

У **ЗАКЉУЧКУ** су сумирани најзначајнији резултати који су проистекли из ове докторске дисертације.

У поглављу **ЛИТЕРАТУРА** налази се списак научних радова и других извора коришћених и цитираних у оквиру ове докторске дисертације, наведених према редоследу појављивања у тексту.

У **Прилогу** су дати експериментални подаци добијени у оквиру проучавања описаних у поглављу Резултати и дискусија.

Б. Кратак опис остварених резултата

У оквиру ове докторске дисертације одређиван је фитохемисјки профил аутохтоних и одомаћених сорти јабуке (*Malus domestica* Borkh.) са територије Републике Србије. Такође, ради поређења, урађена је и анализа одређеног броја алохтоних сорти – комерцијалних и резистентних сорти јабука. Уз анализу резултата одређивања хемијских параметара извршена је и оптимизација услова примењених аналитичких метода. Техникама заснованим на течној хроматографији квантификовано је укупно 11 шећера, 3 полиола, и 9 карбоксилних киселина кратког низа. Применом система ултраефикасне течне хроматографије (*Ultra-Performance Liquid Chromatography*, UPLC) у комбинацији са хибридним масеним спектрометром високе резолуције, идентификовано је 36 полифенола (фенолних киселина и флавоноида, и њихових деривата) у узорцима мезокарпа, док је 68 полифенолно једињење идентификовано у узорцима покожице и листа (фенолне киселине и флавоноиди, и њихови деривати), као и три деривата тритерпеноида (деривати олеанске и

урсолинске киселине). Упореджена је антимикробна активност различитих ткива одабраних сорти, а екстракти покожице и листа су фракционисани ради даље анализе и корелисања антимикробне активности одговарајуће фракције и њеног профила. Биолошка активност испитиваних фракција је условљена присуством полифенолних једињења чије присуство је доказано масеном спектрометријом. Изражену антимикробну активност су показале и фракције код којих је на основу поређења са стандардом и дериватизацијом са анисалдехид-сумпорна киселина реагенсом установљено присуство тритерпена (урсолинске, корсолне и олеанске киселине). На овај начин је примењен приступ карактеризације супстанци са антимикробном активношћу који је, према нама познатим подацима, ретко описан у литератури.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Комерцијана производња јабуке је ограничена на веома мали број сорти у поређењу са сортама које су створене и развијене ¹. Интензивни програми селекције имају за циљ добијање сорти које су отпорне на болести и које дају плодове пожељних морфолошких и сензорских својстава. Пораст свести потрошача о предностима фитохемијски богатих производа и потребе појединаца за специфичним дијететским режимом, оправдавају испитивање старих (аутохтоних) сорти ². Нове сорте које су развијане протеклих деценија нису неминовно богате супстанцама за које се сматра да доприносе очувању здравља човека (нпр. танини и други полифеноли доприносе опором укусу, који је непожељан) ³. Аутохтоне сорте јабуке су, по правилу, прилагођене локалним условима гајења и уобичајено их карактерише већа генетска, фенотипска и сензорна разноликост у поређењу са новим сортама. Поред тога, може се очекивати и боља отпорност аутохтоних сорти према патогеним организмима ⁴. У Србији је мали број аутохтоних сорти јабуке (Будимка, Кожара, Колачара и Шуматовка) био предмет фитохемијских испитивања при чему је тежиште било на одређивању садржаја полифенола и елемената ⁵. У овој дисертацији је испитан већи број узорака у односу на поменуте литературне изворе. Испитиван је фитохемијски профил техникама заснованим на течној хроматографији. и напредним спектроскопским техникама. Испитиван је и укупан садржај полифенола, као и антиоксидативна активност. Добијене вредности су упоредиве са литературним подацима за сахариде и карбоксилне киселине ^{6,7}, полифеноле, антиоксидативну активност ^{3,8,9} и садржај елемената ^{5,10}. У већини досадашњих радова у којима су одређивани шећери тежиште је било на садржају сахарозе, фруктозе и глукозе, понекад и сорбитола. У оквиру ове дисертације испитан је већи број сахарида, који се јављају у траговима и имају значај као секундарни метаболити. Применом анализе главних компоненти испитано је груписање сорти узорака у зависности од сличних особина, а применом мултиваријантне анализе варијанси додатно је размотрена повезаност утицаја сорте са једињењима која су испитивана. Испитивана је антимикробна активност екстракта аутохтоних сорти, што до сада није описано за испитиване сорте јабуке. Посебно је испитан полифенолни профил фракција које су коресподентне биолошки активним зонама. На овај начин је примењен сложен приступ анализи који није чест у литератури и даје додатни допринос испитивањима антимикробних својстава проучаваних екстракта.

Литература

- (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) 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>.
- (4) 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>.
- (5) 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>.
- (6) 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>.
- (7) 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>.
- (8) Milosevic, T.; Milošević, N.; Miletic, 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>.
- (9) 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>.
- (10) 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>.

Г. Научни радови и саопштења који чине део дисертације

Из резултата ове докторске дисертације до сада су проистекла два научна рада у међународним часописима са SCI листе и три саопштења на научним конференцијама: један рад објављен у међународном часопису изузетних вредности (M21a), један рад у истакнутом часопису (M22), једно саопштење на међународном скупу штампано у изводу (M34), као и два саопштења на научним скуповима националног значаја штампаних у изводу (M64).

Радови у истакнутом међународном часопису изузетних вредности (M21a)

1. **N. M. Horvacki**, D. D. Milinčić, M. D. Jović, A. M. Dramićanin, M. M. Fotirić Akšić, M. B. Pešić, D. M. Milojković-Opšenica, 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,) <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142336>

Рад објављен у истакнутом међународном часопису (M22)

1. **N. Horvacki**, F. Andrić, Uroš Gašić, D. Đurović, Ž. Tešić, M. Fotirić Akšić, Uroš Gašić, D. Milojković-Opšenica, 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) <https://doi.org/10.3390/molecules27217651>

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

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.

Саопштења на националним научним скуповима штампана у изводу (M64)

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>

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>

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије”, аутора Николе Хорвацког, мастер хемичара, констатујемо да утврђено подударане текста износи 2% и то за сваки од 50 извора појединачно износи мање од 1%. Утврђене подударности могу се описати као: последица цитата, личних имена, афилијација, назива једињења и скраћеница, назива коришћених материјала и метода и њиховог начина извођења, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата истраживања докторанда, која су проистекла из дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ђ. Закључак

Прегледом поднетог рукописа, Комисија је закључила да докторска дисертација под насловом:

„Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије” кандидата Николе Хорвацког, мастер хемичара, представља научно вредан допринос у области фитохемијске карактеризације аутохтоних сорти. Предмет испитивања је био значајан број аутохтононих сорти јабуке (укупно 19), које су упоређиване са стандардним (5 сорти) и резистентним сортама (6 сорти). Кандидат је успешно извршио постављене задатке који се односе на анализу профила и садржаја сахара, карбоксилних киселина кратког низа, елемената и полифенолних супстанци, одређивање антиоксидативне активности и антимикробне активности екстракта мезокарпа, покожице и плода јабуке, применом савремених хроматографских и спектроскопских метода у комбинацији са мултиваријантном статистичком анализом.

Резултати који су проистекли из поднете докторске дисертације су објављени у оквиру једног рада у међународном часопису изузетних вредности (M21a), једног рада у међународном истакнутом часопису (M22), једног саопштења са међународног скупа штампаног у изводу (M34), као и два саопштења на научним скуповима националног значаја штампаних у изводу (M64).

Резултати објављени у оквиру ове докторске дисертације представљају значајан и оригиналан научни допринос фитохемијској карактеризацији аутохтоних сорти гајених култура, као и допринос развоју и оптимизацији аналитичких процедура које се могу применити на анализу и карактеризацију других природних производа.

На основу свега наведеног, Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације и предлаже Наставно–научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета, да поднету докторску дисертацију Николе Хорвацког под насловом **„Фитохемијска карактеризација аутохтоних сорти јабуке из Србије”**, прихвати и одобри њену одбрану за стицање академског звања доктора хемијских наука.

У Београду 20. 6. 2025.

Комисија:

др Маја Натић, редовни професор

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Филип Андрић, ванредни професор

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Дејан Ђуровић, редовни професор

Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет