

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ



ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске тезе

ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci sa 166. sjednice održane 30. juna 2015. godine, broj 19/3.1678/15, a na osnovu člana 149. Zakona o visokom obrazovanju imenovana je Komisija za ocjenu podobnosti teme za izradu doktorske teze pod naslovom

„Kvalitativno i kvantitativno određivanje melatonina i mogućih funkcija u prisustvu teških metala u biljnim organima *Melissa officinalis L.* i *Valeriana officinalis L.*”.

i uslova kandidata mr Elvise Hodžić za njenu izradu, u sljedećem sastavu:

1. Dr Živko Saničanin, redovni profesor, uža naučna oblast Biohemija i molekularna biohemija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **predsjednik**,
2. Dr Semira Galijašević, vanredni profesor, uža naučna oblast Opšta hemija, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu i vanredni profesor, uža naučna oblast Medicinska hemija i biohemija, Sarajevo School of Science and technology, Medical School, **mentor, član**,
3. Dr Milica Balaban, docent, uža naučna oblast Organska hemija, Prirodno-matematički fakultet u Banjoj Luci, **član**.

Састав Комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звање, назив уже научне области за коју је изабран у звање, назив универзитета и факултета у којем је члан комисије стално запослен.

1. БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ, НАУЧНА И СТРУЧНА ДЈЕЛАТНОСТ
КАНДИДАТА

Mr Elvisa Hodžić, rođ. Civić, rođena je 31. januara 1984. godine u Bihaću, Bosna i Hercegovina. Osnovnu i srednju školu završila je u Cazinu, gdje je i stalno nastanjena. Maturirala je 2002. godine odličnim uspjehom. Biotehnički fakultet u Bihaću, smjer Prehrambena tehnologija, upisala je školske 2002/2003. godine, a diplomski rad odbranila 09. jula 2007. godine. Iste godine je upisala postdiplomski studij na Prirodno-matematičkom fakultetu u Sarajevu. Magistarski rad pod nazivom „*Mehanističke i kompjuterske studije reaktivnosti laktoperoksidaznog sistema*“ je odbranila 03. jula 2012.

godine. Od 2008. do 2012. godine bila je zaposlena kao asistent na Biotehničkom fakultetu Univerziteta u Bijaču, a 2012. godine je izabrana u zvanje višeg asistenta za oblast *Analitička hemija*. Govori engleski i njemački jezik. Udata je i majka jedne kćerke.

Učestvovala je kao saradnik u izradi četiri naučno-istraživačka projekta:

1. Razvoj QSPR modela za predviđanje rastvorljivosti, pKa i apsorpcije lijekova i srodnih komponenti, Federalno ministarstvo obrazovanja i nauke BiH, 2009 - 2010.
2. Inhibicija laktoperoksidaznog sistema: reakcioni mehanizam i struktura aktivnog metalnog centra enzima, Federalno ministarstvo obrazovanja i nauke BiH, 2011 – 2012.
3. Kompjutersko dizajniranje novih antikancerskih lijekova - inhibitora protein kinaza, Federalno ministarstvo obrazovanja i nauke BiH, 2012–2013.
4. Uspostavljanje kapaciteta selekcije otpada, Federalno ministarstvo okoliša i turizma. Podrška dizanja svijesti u okolišu u Federaciji BiH, Program 3. 2013.

Bibliografija:

Naučni radovi objavljeni u zbornicima apstrakata:

1. H. Makić, Jelana Škundrić-Penavin, B. Banjanin, **E. Civić**, «Improved quantum mechanical model for determination heat of formation for the amines» *1st European Chemistry Congress*, 27-31. August 2006, Budapest, Hungary.
2. **E. Hodžić**, S. Galijašević, H. Makić, Molecular modeling as a method of testing melatonin - lactoperoxidase interaction, *Scientific and Professional Conference. 14th Ružička Days 13th - 15th „TODAY SCIENCE – TOMORROW INDUSTRY“*, September 2012, Vukovar, Croatia.

Naučni radovi objavljeni u zbornicima radova:

1. H. Makić, M. Veladžić, S. Jahić, **E. Hodžić**, A. Koričić, E. Bolić, M. Bektašević, Prediction methodology of malt level using artificial neural networks, *22nd International Scientific-Expert Conference on Agriculture and Food Industry*, Sarajevo 2011.
2. **Hodžić, E.**, Makić, H., Rekanović, S., Bektašević, M. Teorijsko istraživanje oksidacije melatonina sa taurinom. 10. simpozijum sa međunarodnim učešćem "Savremene tehnologije i privredni razvoj". Leskovac, Srbija, septembar 2013.
3. Makić, H., **Hodžić, E.**, Bektašević, M., Rekanović, S. Analiza prirodnih radionuklida na području nacionalnog parka „Una“. 9th International Scientific Conference on Production Engineering. Development and modernization of production. RIM. Budva, Crna Gora, 2013.
4. Galijašević, S., **Hodžić, E.** Validity of HOMO/LUMO approach Calculations “DFT study of Chemical Reactivity of Melatonin and Its Metabolites: N¹acetyl-N²formyl-5-metoxy Kynuramine and N¹-Acetyl-5-Metoxynuramine. International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy, Istanbul, Turkey, September 15-20, 2013.

Naučni radovi objavljeni u časopisima:

1. S. Erić, M. Kalinić, A. Popović, H. Makić, **E. Civić**, M. Bektašević, The importance of the accuracy of the experimental data for the prediction of

- solubility, *Journal of the Serbian Chemical Society*, **75** (4) (2010) 483-495.
2. S. Galijašević, **E. Hodžić**, Theoretical Studies of Structures and Thermodynamic Parameters of Melatonin and its Metabolites: N1-Acetyl-N2-formyl-5-metoxykynuramine and N1-Acetyl-5-metoxykynuramine, *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* **39** (2012) 39-43.
 3. **E. Hodžić**, H. Makić, S. Rekanović, M. Bektašević, Teorijsko istraživanje oksidacije melatonina sa taurinom, *Savremene tehnologije*, **2** (2013) 32-37.
 4. S. Galijašević, **E. Hodžić**, Melatonin mediates classic lactoperoxidases catalytic mechanism, *International Journal of Pharmacy*, **4** (2014) 1-6.

Stručni radovi objavljeni u zbornicima radova:

1. Makić H., Muhamedagić F., Muhamedagić M., Hodžić S., **Hodžić E.** Traffic noise mapping of the narrow central urban area of Bihac. The first international Congress of Ecologists "Ecological spectrum" 2012. Banja Luka.
2. S. Dedić, H. Makić, **E. Hodžić**, A. Džaferović, A. Bećiraj, Jonska hromatografija u analizi vode - prednosti i nedostaci, *Stručni skup – Zaštita voda*, Neum, novembar 2012.
3. H. Makić, M. Bektašević, **E. Hodžić**, S. Rekanović, R. Šahinović, Značaj monitoringa radionuklida u cilju zaštite životne sredine, *Stručni skup - Zaštita voda*, Lukavac, decembra 2012.
4. Makić, H., **Hodžić, E.**, Bektašević, M., Rekanović, S. Praćenje stanja radioaktivnosti u nacionalnom parku Una analizom nekih bioindikatorskih vrsta. 3. Naučno-stručni simpozij sa međunarodnim učešćem „Okolišni potencijali, održivi razvoj i proizvodnja hrane“. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Tuzli 14-15. novembar 2013.
5. H. Makić, M. Veladžić, M. Bektašević, **E. Civić**, S. Kozlica, Teoretsko predviđanje entalpije nastajanja radikala, *VIII Savjetovanje hemičara i tehnologa Republike Srpske*, Banja Luka, 2008.
6. H. Makić, M. Veladžić, E. Pehlić, M. Bektašević, **E. Civić**, Dž. Mešanović, S. Latić, Teorijsko predviđanje standardne Gibbsove energije organskih molekula, *IX Savjetovanje hemičara i tehnologa Republike Srpske*, Banja Luka, 2010.
7. H. Makić, J. Penavin-Škundrić, M. Veladžić, M. Bektašević, **E. Civić**, S. Jahić, Teorijsko predviđanje standardne entropije organskih molekula, *IX Savjetovanje hemičara i tehnologa Republike Srpske*, Banja Luka, 2010.

Stručni rad objavljen u časopisu:

1. H. Makić, **E. Hodžić**, M. Bektašević, A. Bećiraj, S. Rekanović, A. Šahinović. Monitoring of radioactivity in national park Una by analysis of some bioindicator species. *Technologica acta*, **7** (2014) 19-25.

- a) Навести неопходне биографске податке: школовање, успех у току школовања, кретање у служби, резултати научно-истраживачког или стручног рада, јавна признања, друштвене активности и познавање страних језика;
- б) У прилогу биографије доставити списак објављених научних радова.

2. ЗНАЧАЈ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

a) Značaj istraživanja

Melatonin je neurohormon koji učestvuje u nekoliko fizioloških procesa u biljkama, gdje djeluje kao cirkadijarni regulator, regulator rasta i zaštitnik ćelija. Višestruka uloga melatonina u živom svijetu, kao i njegove moguće i još neotkrivene uloge u biljnom svijetu, razlog su predloženog istraživanja, koje ima za cilj da detektuje odnosno identifikuje, kvantifikuje i dodatno razjasni ulogu melatonina.

Cilj istraživanja je identifikovati melatonin u različitim dijelovima predloženih biljaka, u zavisnosti od uslova rasta, te utvrditi moguće interakcije melatonina sa odabranim teškim metalima, sa kojima melatonin gradi odgovarajuće komplekse.

b) Pregled istraživanja

Melatonin je po hemijskom sastavu *N*-acetil-5-metoksitriptamin hormon, sa brojnim fiziološkim ulogama kao što su kontrola raspoloženja, sna i tjelesne temperature, kao i ulogu u fiziologiji mrežnice i sezonskoj reprodukciji. Melatonin je, takođe, uključen i u brojne ćelijske aktivnosti djelovanja, gdje kao antioksidans djeluje protiv slobodnih radikala (Tan et al, 2010; Reiter et al, 2001).

U hemijskom smislu, melatonin (*N*-acetil-5-metoksitriptamin) je indolna komponenta dobijena iz serotonina (5-hidroksitriptamin). Oba biogena amina se sintetišu polazeći od aminokiseline triptofana u metabolitičkim reakcijama zastupljenim kod sisara. Smatra se da je melatonin pet puta aktivniji od glutationa prema hidroksilnim slobodnim radikalima (Arnao, 2014). Za antioksidativu aktivnost melatonina najvažnije su dvije metoksi-grupe na položaju 5 indolnog prstena i bočna acetil-grupa, pri čemu melatonin donira elektron hidroksilnom radikalu uz nastanak indolil-kation-radikala, koji neutralizuje superoksid-radikal. Zaštitno djelovanje melatonina protiv oksidativnog stresa uzrokovanog metalima prikazano je u istraživanjima *in vivo* i *in vitro*. Osim kod sisara melatonin je prisutan i u nekim mikroorganizmima i biljkama.

Podaci iz literature pokazuju da se regulacioni mehanizam melatonina kod sisara i biljaka razlikuje. Kod sisara, izloženost svjetlu uniformno smanjuje produkciju melatonina, dok kod nekih biljaka izloženost svjetlu naglo povećava koncentraciju melatonina.

U biljnim vrstama auksin, indolil-3-sirćetna kiselina, ima neke sličnosti sa melatoninom, jer oba indolna jedinjenja imaju zajednički biosintetski put preko triptofana (Arnao, 2014). Prvi dokaz o prisustvu melatonina u biljkama pojavio se 1995. godine (Dubbels et al., 1995; Hattori et al., 1995), a u narednim godinama melatonin je otkriven u korijenu, listovima, plodovima, cvijetu i sjemenu velikog broja biljnih vrsta (povrće, žitarice, voće, ljekovito bilje) (Paredes et al., 2009; Reiter et al., 2007). U novije vrijeme se vrši ciljana genetska modifikacija nekih vrsta biljaka za proizvodnju veće količine melatonina (Park et al., 2013 a, b). Pretpostavlja se da fitomelatonin može poslužiti kao regulator fotoperiodičnog i cirkadijurnog ritma (Kolar, Machácková, 2005), isto kao i univerzalni antioksidans upravo zbog svoje široke rasprostranjenosti u gljivicama, algama, bakterijama, životinjama i biljkama (Galano et al., 2011; Tan et al., 2012). Činjenica da je melatonin dokazano jak antioksidans u životinjskim ćelijama navela je istraživače na zaključak da ova molekula djeluje slično i u biljnom svijetu (Van Tassel, O'Neill, 2001). Istraživanja su pokazala da melatonin igra važnu ulogu u mnogim funkcijama biljaka uključujući regulaciju mitoze, odgađanju indukcije cvijeta, zatim u regeneraciji i rastu korijena, te u zaštiti od stresa uzrokovanog hladnoćom, salinitetom i toksičnim jonima bakra.

Prvi pravi izazov u kvantifikaciji fitomelatonina je pravilna ekstrakcija iz biljnog ekstrakta. Jedan od problema u pouzdanom mjerenju fitomelatonina, koji spominju brojni autori jesu poteškoće u ekstrakciji (Cao et al., 2006).

Melatonin se obično ekstrahuje iz materijala tretiranog tečnim azotom različitim

organskim rastvaračima, najčešće metanolom, hloroformom ili etil-acetatom. Zbog njegove amfifilnosti preporučuje se metoda direktne ekstrakcije (bez homogenizacije svježeg tkiva).

Podaci o sadržaju melatonina u samoniklim biljakama još uvijek su siromašni zbog velike raznovrsnosti biljaka. Sadržaj fitomelatonina se kreće od 6 pg/g u izbojcima *Ipomoea nil L.* do 34 µg/g u korijenu *Glycyrrhiza uralensis Fisch* (razlika reda veličine čak od 10⁶). Ovakve velike razlike u sadržaju fitomelatonina također su opisane i kod kineskog ljekovitog bilja, u dijelu velike studije o 108 biljaka, gdje se nivo fitomelatonina kreće u rasponu od 12 ng/g u *Gardenia jasminoides Ellis* do 2,3 g/g u *Viola Filipika Cav.* (Chen et al. 2003).

Istraživanja melatonina uglavnom se izvode u sklopu istraživanja antioksidansa prisutnih u biljkama i biljnoj hrani. Razvoj novih metoda određivanja antioksidativnog djelovanja primjenjivih na različite vrste biljne hrane omogućava utvrđivanje prisustva metabolita koji imaju antioksidativna svojstva, kao što su između ostalih organske kiseline, fenolne kiseline, flavonoidi (flavanoli, flavanoni i antocijanini), tokoferoli i karotinoidi. Jedna od najzanimljivijih grupa ovih jedinjenja su indolna jedinjenja, koja se sintetišu uglavnom iz aminokiseline triptofana. Indolna jedinjenja su veoma raznolika i brojna u mnogim biljkama, a u nekim slučajevima se smatraju i ljekovitim. Najrasprostranjenije indolno jedinjenje od posebnog značaja je indolil-3-sirćetna kiselina (tzv. IAA), koja u biljkama, pored ostalih fizioloških funkcija, djeluje kao promotor rasta.

U istraživanju antioksidativnih svojstava različitih indolnih jedinjenja je otkriveno da melatonin ima visok antioksidativni kapacitet u poređenju sa uobičajenim antioksidansima, kao što su askorbinska kiselina ili troloks (sintetički analog vitamina E). Nađeno je da melatonin ima dvostruko veću antioksidativnu aktivnost od askorbinske kiseline ili troloksa, te približno dvostruko veću aktivnost od drugih indolnih jedinjenja, kao što su indolil-3-sirćetna kiselina, indol-3-metanol, indol-3-propionska kiselina, indol-3-buterna kiselina i triptofan (Cano et al. 2003).

Uopšteno, biološka aktivnost jedinjenja najviše zavisi od njihove molekulske strukture. Ako se poredi molekulska struktura melatonina i indolil-3-sirćetne kiseline, može se zaključiti da je u oba molekula prisutan indolni prsten, pri čemu se supstituent na prstenu razlikuje.

U literaturi je navedeno da melatonin–indolamin, koga luči epifiza, vrši antioksidativnu aktivnost i pokazuje antiestrogena svojstva. Ove dvije karakteristike djelovanja melatonina čine ovaj molekul potencijalnim zaštitnim sredstvom od oštećenja nastalih djelovanjem različitih toksičnih sredstava, uključujući teške metale kao što je kadmijum. Istraživanja su nedavno pokazala da melatonin: (a) suzbija estrogeno djelovanje kadmija u mliječnim žlijezdama i uterusu miševa; (b) inhibira Cd-induciranu proliferaciju MCF-7 ljudskih ćelija raka dojke, te (c) smanjuje Cd-induciranu ekspresiju hTERT u MCF-7 ćelija (Martinez-Campa et al. 2008). Takođe, u istraživanja zaštitne uloge melatonina protiv kadmijuma je pokazano da je melatonin malo, ali ne značajno, smanjio indukovanu lipidnu peroksidaciju. Na osnovu dobijene peroksidacije lipida je zaključeno da povećanje količine melatonina smanjuje toksičnost kadmijuma, barem što se tiče dobivene peroksidacije lipida (Karbownik et al. 2001).

Osim toga, smatra se da melatonin aktivira više različitih antioksidativnih enzima, uključujući glutation reduktaze, glutation peroksidaze i superoksid dismutaze, omogućavajući brzo uklanjanje vodonik-peroksida iz kortikalnih ćelija mozga štakora i povećava proizvodnju enzima koji su uključeni u sintezu glutationa, te sprječava smanjenje fluidnosti membrane uzrokovane peroksidacijom lipida, i tako, učestvuje u aktivnosti protiv slobodnih radikala (Garcia et al. 1997).

Takođe, istraživanja su pokazala da je antioksidativna aktivnost melatonina zaštitni faktor

prema karcinogenezi, neurodegeneraciji i starenju (Melchiorri et al. 1995), iako su sveobuhvatna istraživanja u ovoj oblasti nova i nepotpuna.

Predložena literatura:

1. M. B. Arnao, Phytomelatonin: Discovery, Content, and Role in Plants. *Advances in Botany*. Article ID 815769. (2014) 11 pages.
2. M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz, Chemical stress by diferent agents affects the melatonin content of barley roots. *Journal of Pineal Research*, **46**, 3, (2009) 295–299.
3. M. B. Arnao, J. Hernandez-Ruiz, Melatonin promotes adventitious- and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research*, **42**, (2007) 147–152.
4. Q. Chen, W. B. Qi, R.J. Reiter, W. Wei, B. –M. Wang, 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Physiology*, **166**, (2009) 324–328.
5. R. Dubbels, R. J. Reiter, E. Klenke, A. Goebel, E. Schnakenberg, C. Ehlers, H. W. Schiwara, W. Schloot, Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Pineal Res.* **18**, (1995) 28–31.
6. J. Hernandez-Ruiz, M. B. Arnao, Distribution of melatonin in diferent zones of lupin and barley plants at diferent ages in the presence and absence of light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, (2008) 10567–10573.
7. J. Hernandez-Ruiz, A. Cano, M. B. Arnao, Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues. *Planta*, **220**, (2004) 140–144.
8. S. Murch, P. Saxena, Melatonin: A Potential Regulator of Plant Growth and Development? In vitro cellular and developmental biology - Plant: *Journal of the Tissue Culture Association*, **38**, (2002) 531-536.
9. S. J. Murch, P. K. Saxena, A melatonin-rich germplasm line of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of Pineal Research*, **41**, (2006) 284–287.
10. S. D. Paredes, A. Korkmaz, L. C. Manchester, D. X. Tan, R. J. Reiter, Phytomelatonin: a review. *J. Exp. Bot.* **60**, (2009) 57–69.
11. M. M. Posmyk, K. M. Janas, Melatonin in plants. *Acta Physiol. Plant.* **31**, (2009) 1–11.
12. D. X. Tan, R. Hardeland, L. C. Manchester, A. Korkmaz, S. Ma, S. Rosales-Corral, R. J. Reiter, Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *J. Exp. Bot.* **63**, (2012) 577–597.
13. D. –X. Tan, R. Hardeland, L. C. Manchester, et al. The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and itness. *Biological Reviews*, **85**, (2010) 607–623.
14. N. Zhang, B. Zhao, H. J. Zhang, et al. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, **54**, (2013) 15–23.

c) Radna hipoteza sa ciljem istraživanja

Zaštitno djelovanje melatonina dokazano je u životinjskom svijetu, što ukazuje na njegovo moguće slično djelovanje i u biljnom svijetu. Ovaj neurohormon je identificiran u brojnim biljkama, uključujući i jestive sorte, ali njegova uloga još uvijek nije dobro

razjašnjena.

U okviru ovog rada biće provedeno istraživanje distribuciji melatonina unutar biljke, za koju se očekuju velike varijacije tokom sezone uzgoja. Cilj istraživanja je određivanje sadržaju i potencijalne uloge melatonina u biljkama *Melissa officinalis L.* i *Valeriana officinalis L.* S obzirom da je utvrđeno da razvoj korijena, mitozna i formiranje mitotičkog vretena zavisi od koncentracije melatonina u biljkama, smatra se da melatonin može poslužiti kao potencijalni regulator biljnog rasta i razvoja (Murch i Saxena 2002).

Takođe, poznato je da je melatonin hormon koji pomaže u regulisanju ciklusa spavanja i budnosti. Klinički je dokazano da nedostatak melatonina dovodi do poremećaja sna.

Uticaj svjetlosti na ciklus melatonina u biljkama nije dovoljno istražen. Postoje rijetki podaci o povećanoj proizvodnji melatonina u prisustvu svjetlosti, te zaključci o melatoninu kao fotoprotetktivnoj molekuli u biljkama. Na osnovu toga može se pretpostaviti da će koncentracija melatonina značajno varirati tokom 24 sata u zavisnosti od količine svjetlosti, ali i od vrste ispitivane biljke.

Jedan od ciljeva ovog istraživanja je moguća primjena melatonina kao zaštitnog sredstva protiv abiotskog stresa. Dokazano je da tretiranje hemijskim agensima, kao što su vodonik-peroksid, natrijum-hlorid i cink-sulfat, stimuliše endogeni nivo melatonina u korijenu ječma u zavisnosti od vremena izlaganja i koncentracije primjenjenog agensa, što igra značajnu ulogu u antioksidativnoj odbrani protiv hemijski indukovanoog stresa. Uzimajući u obzir sve navedeno, biće ispitana interakcija melatonina sa pojedinim teškim metalima, te će se istražiti moguća odbrambena svojstva melatonina, kao i moguće inhibitorno djelovanje teških metala na aktivnost melatonina u regulaciji rasta biljke. Očekuje se da melatonin može, pored antioksidativne uloge, stvarati komplekse sa metalima i na taj način imati zaštitnu ulogu.

d) Materijal i metode rada

Biljke su odabrane na osnovu iskustava o njihovoj djelotvornosti u liječenju neuroloških poremećaja i dokazanog prisustva indolamin neurohormona. Sjeme odoljena (*Valeriana officinalis L.*) i matičnjaka (*Melissa officinalis L.*) biće nabavljeno od Semenarne Ljubljana. Sjeme će biti sterilisano rastvorom hlorovodonične kiseline, isprano tri puta destilovanom vodom, te osušeno na sobnoj temperaturi. Isklijale biljčice, sa potpuno razvijenim kotiledonima, sadiće sena na pripremljeno i u jesen obrađeno zemljište, prema preporuci Stepanovića i saradnika (2001). Sadnja se vršiti ručno na rastojanju od 30 cm i međurednom rastojanju od 30 cm. Gajiće se u prirodnim uslovima fotoperioda. Matičnjak će se gnojiti stajnjakom neposredno prije prvog okopavanja i nakon prve žetve, a odoljen azotnim đubrivom odmah poslije nicanja.

Istraživanje će se provesti na području opštine Cazin, a parcelice će sadržavati

1. sjeme netretirano melatoninom - kontrola;
2. sjeme netretirano melatoninom, ali tretirano jonima kadmijuma;
3. sjeme netretirano melatoninom, ali tretirano jonima cinka;
4. sjeme tretirano melatoninom;
5. sjeme tretirano melatoninom i jonima kadmijuma i
6. sjeme tretirano melatoninom i jonima cinka.

U stadijumu pred cvjetanje biljke uzorci korijena, lista i nadzemnog dijela biljke uzeti 2 sata nakon noćnog perioda, analiziraće se na sadržaj melatonina. Uzorci lista će se uzeti iz zadnjeg potpuno razvijenog lista stabljike, a uzorci korijena će se najprije dobro oprati vodom i osušiti papirom kako bi se uklonila površinska voda, te usitniti za daljnju analizu. Pratiće se uticaj melatonina na neke morfološke karakteristike biljaka (rast biljke,

razvijenost korijena...). Takođe, određiće se i sadržaj kadmijuma i cinka u navedenim biljnim dijelovima kako bi se ustanovila njihova distribucija u biljci, kao i njihov uticaj na sadržaj melatonina.

- Hemikalije i reagensi: Melatonin, hloroform, etil-acetat, voda, acetonitril, metanol, etanol, dimetilformamid (DMF), cink(II)sulfat, kadmijum(II)sulfat, hrom(III)hlorid, te ostale neophodne hemikalije i soli nabaviće se od firme *Sigma Aldrich* i *Sinex Banja Luka*.

- Metode rada: Prije samog gajenja biljaka izvršiće se analiza zemljišta u cilju utvrđivanja fizičko-hemijskih osobina zemljišta i sadržaja odgovarajućih teških metala. Kvalitativno i kvantitativno određivanje melatonina u pojedinim dijelovima ispitivanih biljaka izvodiće će se metodom tečno-maseno-masene hromatografije, LC/MS/MS tehnikom elektron-spej jonizacije (ESI) na uređaju sa Bruker Amazon SL MS/MS detektorom, koja se na osnovu literaturnih podataka pokazala kao najpouzdanija. Dobiveni podaci će se analizirati Compass Data Analysis softverom. Ekstrakcija melatonina će se vršiti procesom direktne ekstrakcije uzorka, uz prigušeno svjetlo. 1 g uzorka, usitnjenog na manje dijelove (3-5 mm) staviće se u test-bočice u kojima se nalazi etil-acetat (3 mL). Takvi uzorci biće ostavljeni preko noći (15 h) na 4 °C u mraku uz miješanje, nakon čega se centrifugiraju na 6000 obrtaja/min tokom 20 minuta. Supernatant će se prenijeti u drugu bočicu, a preostali biljni materijal isprati sa 0,5 mL etil-acetata, a zatim će rastvarač biti ukonjen do suha u vakuum sušnici. Ostatak će se rastvoriti u metanolu (0,5 mL), filtrirati i analizirati LC/MS/MS tehnikom. Svi ekstrakti će se čuvati u tamnim bocama, zaštićeni od svjetlosti. Isti postupak biće primjenjen i na standardnim rastvorima melatonina različitih koncentracija (0,01, 0,1 i 1 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) kako bi se procijenio stepen analitičkog odgovora melatonina. U istu svrhu primijeniće se i ultrazvučni tretman, koji omogućava veću efikasnost procesa ekstrakcije, a primijenjivaće se nakon ekstrakcije preko noći, a prije udaljavanja rastvarača.

Sadržaj kadmijuma i cinka će se određivati metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije, pri čemu će uzorci biti tretirani nitratnom kiselinom. Svi dobiveni podaci za obe biljne vrste biće statistički analizirani (ANOVA) matematičko-statističkim metodama korištenjem statističkih programa XLSTAT 2010 i PAST 2013. Rezultati će biti prikazani tabelarno i grafički.

e) Naučni doprinos istraživanja

U okviru doktorske disertacije pod naslovom „Kvalitativno i kvantitativno određivanje melatonina i mogućih funkcija u prisustvu teških metala u biljnim organima *Melissa officinalis* L. i *Valeriana officinalis* L.” planirano je izvođenje veoma aktuelnog i značajnog istraživanja neurohormona u biljnom svijetu trenutno najsavremenijim metodama analitičke hemije. Rezultati istraživanja će dati prikaz sadržaja melatonina u odabranim biljnim vrstama, kao i njegovu interakciju sa pojedinim teškim metalima. Mogućnost primjene melatonina u fitoremedijacijske svrhe je još jedan od mogućih rezultata ove doktorske disertacije. Takođe, biće ispitano i moguće nastajanje odgovarajućih kompleksa melatonina sa jonima kadmijuma i cinka.

- a) Значај истраживања;
- б) Преглед истраживања;
- в) Радна хипотеза са циљем истраживања;
- г) Материјал и метод рада;
- д) Научни допринос истраживања.

3. ОЦЈЕНА И ПРИЈЕДЛОГ

Kandidatkinja mr Elvise Hodžić je u toku izrade magistarskog rada savladala osnovne metode planiranja i izvođenja eksperimenata, analize podataka, kao i izvođenja zaključaka na osnovu novih podataka, analize naučne literature i pisanja naučnog rada. Pored ovoga, tema magistarskog rada je uključivala interakcije melatonina sa hemom, pa je kandidatkinja imala priliku da se detaljno upozna sa naučnom literaturom iz ove oblasti, fizičkim i hemijskim osobinama, te reaktivnošću melatonina. Specifičnost i svojstva melatonina, dobro poznavanje aktuelne literature u ovoj oblasti i dosadašnja istraživanja kandidatkinje daju značajnu osnovu neophodnu za izvođenje eksperimentalnog dijela, kao i dalji rad na disertaciji. Pored ovoga, kandidatkinja je objavila kao autor ili koautor 8 naučnih radova u časopisima i zbornicima radova, od kojih je znatan broj iz oblasti reaktivnosti melatonina ili srodnih oblasti. Predložene metode istraživanja su upravo one koje mogu dati odgovor na pitanja koja se odnose na fiziologiju melatonina u prisustvu teških metala. Instrumentalna LC/MS/MS metoda je zahtjevna s obzirom na detekciju prisustva melatonina zbog mogućeg nastajanja proizvoda njegovog katabolizma, ali je trenutno jedina prihvatljiva metoda koja za kvalitativno i kvantitativno određivanje kako samog melatonina, tako i proizvoda njegove degradacije.

Na osnovu svega izloženog Komisija smatra da predloženo istraživanje **zadovoljava sve uslove** koji se očekuju od doktorske teze i smatra da kandidatkinja **mr Elvise Hodžić, diplomirani inženjer prehrambene tehnologije, magistar hemijskih nauka, ispunjava sve Zakonom predviđene uslove** za prijavu i izradu doktorskog rada pod nazivom: **„Kvalitativno i kvantitativno određivanje melatonina i mogućih funkcija u prisustvu teških metala u biljnim organima *Melissa officinalis L.* i *Valeriana officinalis L.*”**. Komisija smatra da izradom ove doktorske disertacije postoje realni uslovi da se očekivani ciljevi ostvare i da se dođe do originalnih naučnih rezultata.

U Banjoj Luci i Sarajevu,
novembra 2015. godine

POTPIS ČLANOVA KOMISIJE:

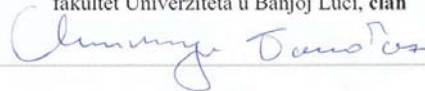
1. Dr Živko Saničanin, redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **predsjednik**



2. Dr Semira Galijašević, vanredni profesor, Sarajevo School of Science and technology, Medical School, **mentor, član**



3. Dr Milica Balaban, docent, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **član**



ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извјештај.