

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/175

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L1-9479
Naslov projekta	Razvoj kromatografskih metod za določanje mikronutrientov in nekaterih drugih organskih spojin z biološko aktivnostjo
Vodja projekta	11395 Irena Vovk
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4.725
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	01.2007 - 12.2009
Nosilna raziskovalna organizacija	104 Kemijski inštitut
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	1655 BIA Separations d.o.o. Podjetje za separacijske tehnologije d.o.o.
Družbeno-ekonomski cilj	06. Industrijska proizvodnja in tehnologija

2. Sofinancerji¹

1.	Naziv	BIA Separations d.o.o.
	Naslov	Teslova 30, 1000 Ljubljana
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta²

V okviru projekta smo razvijali kromatografske metode za določanje naravnih in sintetskih organskih spojin z biološko aktivnostjo. Večinoma smo se glede na naše znanje, izkušnje ter podatke o biološki aktivnosti omejili predvsem na spojine iz naslednjih velikih skupin: karotenoidi, polifenoli, triterpenoidi, fitosteroli, za katere velja, da so koristne za človeški organizem in so večinoma sestavni del naše vsakodnevne prehrane. Predmet naših raziskav so bili tudi naftokinoni in encimi. Uporabnost razvitih metod smo preverili na različnih vrstah vzorcev

(sadje, zelenjava, prehranski izdelki, zdravilne rastline, prehranska dopolnila, industrijski odpadki rastlinskega izvora, ipd.). Zaradi kompleksne problematike, smo uporabljali različne pristope in tehnike: HPLC z UV/VIS ali MS detektorjem; TLC z denzitometrijo in analizo slik (UV, VIS, fluorescenca) in GC s FID ali MS detektorjem. Pri pripravi testnih raztopin smo med drugim uporabljali SPE tehniko ("solid -phase extraction"). Pri razvoju metod smo uporabili tudi najnovejše dosežke na področju kromatografskih materialov (monolitne nosilce) in jih primerjali s predhodnimi, ki smo jih sami uporabili ali pa smo podatke našli v literaturi.

Z raziskavo smo potrdili našo hipotezo, da kombinacija kromatografskih tehnik (HPLC, TLC in GC) z različnimi spektroskopskimi tehnikami (NMR, MS itd) omogoča določitev strukture sorodnih, vendar še neznanih spojin prisotnih v testnih raztopinah ob znanih analitih, za katere je možno nabaviti standarde in razviti metodo za kvantitativno določanje. Proučevali smo tudi pravila kombiniranja molekul v nove spojine, predvideli možne strukture ter skušali potrditi prisotnost pričakovanih spojin v realnih vzorcih.

Triterpenoidi in fitosteroli:

Razvili smo nove kromatografske metode na osnovi tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC-UV in HPLC-MS) in tankoplastne kromatografije za določanje biološko aktivnih naravnih izomernih triterpenolov α -amirina, β -amirina in lupeola v površinskih voskih zeljnih listov. S temi metodami smo določili vsebnost teh spojin v površinskih voskih zeljnih listov različnih sort zelja, ki se razlikujejo v odpornosti proti insektom. To nam je v sodelovanju z raziskovalci z Biotehniške fakultete (Oddelek za agronomijo) omogočilo sistematične raziskave razlik med dvajsetimi različno občutljivimi sortami zelja na molekularnem nivoju. Članek je bil leta **2007 objavljen v J. Chromatogr. A**. Nadaljevali smo z razvijanjem kromatografskih metod (HPLC-UV, LC-MS in TLC) metod za identifikacijo in določanje biološko aktivnih triterpenoidov in fitosterolov v različnih vzorcih rastlinskega izvora. Študirali smo kromatografsko ločbo desetih triterpenoidov (med njimi je bilo več strukturnih izomerov) in dveh fitosterolov. Komericalno nedostopen triterpenoid δ -amirin smo sami z novim kromatografskim postopkom izolirali iz paradižnika. Novi HPLC-UV in HPLC-UV-MS-(MS) metodi omogočata ločbo izomerov lupeola, α -amirina, β -amirina in δ -amirina, ločbo lupenona in cikloartenolacetata ter sterolov stigmasterola in β -sitosterola. S tema metodama smo v ekstraktu s površine ploda paradižnika potrdili prisotnost lupeola, α -amirina, β -amirina, δ -amirina, stigmasterola in β -sitosterola. Na področju TLC metod smo primerjali vpliv stacionarne faze (normalne in reverzne faze) in topil za razvijanje na ločbo triterpenoidov in sorodnih spojin in dokazali velik potencial reverzne faze C18. Razvili smo TLC metodo, ki na reverzni fazi C18 omogoča ločbo lupeola, α -amirina in β -amirina, cikloartenola, lupeolacetata in cikloartenolacetata brez predhodne derivatizacije, o čemer v literaturi še ni podatkov. Preverili smo tudi uporabnost te metode za presejalne analize triterpenoidov v rastlinskih ekstraktih iz hrastovega lubja, s površine ploda paradižnika, s površin listov zelja, rožmarina in žajblja, ki smo jih analizirali tudi s HPLC-UV-MS metodo. Rezultate tega dela smo predstavili na mednarodnih znanstvenih simpozijih s področja kromatografije (1 predavanje, 2x poster) in v članku, ki je bil leta 2009 objavljen v J. Chromatogr. A. Poleg tega smo z razvito HPLC-UV metodo določili vsebnost izomernih triterpenolov α -amirina, β -amirina in lupeola v površinskih voskih zeljnih listov dvajsetih sort zelja, ki smo jih dobili v okviru sodelovanja z raziskovalci z Biotehniške fakultete (Oddelek za agronomijo). Rezultate tega dela smo v obliki predavanj in posterjev predstavili na več simpozijih in v članku, ki je bil leta **2008 objavljen v reviji Acta phytopathol. entomol. Hung.**

Karotenoidi:

Razvili smo analizo metodo na osnovi tekočinske kromatografije visoke ločljivosti, ki nam omogoča določanje izomer likopena. Z uporabo te metode smo naredili študijo prehranskih dopolnil, ki vsebujejo likopen in so dostopna na slovenskem tržišču. Proučili smo obliko, v kateri je likopen prisoten (cis ali trans izomeri, sintetski ali naravni likopen) in ustreznost specifikacije na posameznem izdelku z dejansko vsebnostjo. **Članek je v pripravi.**

Razvili smo HPLC-VIS metodo za določanje all-*trans*-luteina v različnih vrstah prehranskih dopolnil. Metodo smo uporabili za določanje all-*trans*-luteina v 15 različnih prehranskih dopolnilih (tablete, kapsule). Rezultati so potrdili potrebnost določanja luteina v prehranskih dopolnilih: 4 vzorci sploh niso vsebovali luteina, 3 vzorci so imeli okrog 140% in samo 6 vzorcev je vsebovalo med 85 in 115% od deklarirane vsebnosti luteina. Dve formulaciji sta vsebovali 51% od deklarirane vsebnosti luteina v obliki luteinskih estrov. Deklaracija se je očitno nanašala na vsebnost luteinskih estrov, ne pa luteina, saj del molekul estrov, ki pripada ostankom višjih maščobnih kislin, prispeva približno polovico molarne mase luteinskih estrov. V vseh vzorcih so bile detektirane tudi *cis* izomere luteina in malo all-*trans*-zeaksantina. Delo je delno potekalo v

okviru sodelovanja s skupino s Fakultete za farmacijo z Univerze v Beogradu (bilateralni projekt). Rezultate smo predstavili na mednarodnem kromatografskem simpoziju. **Članek je poslan v J. AOAC. Int..**

Naftokinoni:

Za določanje biološko aktivnih šikoninskih derivatov smo razvili novi HPLC metodi z VIS in MS detekcijo in prvi v svetu ločili in identificirali devet šikoninskih derivatov (tudi pozicijske in geometrijske izomere) iz korenin zdravilne rastline *Echium italicum* L. iz družine srhkolistnic, ki smo jih dobili od kolegov s Tobačnega inštituta iz Prilepa (bilateralni projekt). Rezultate smo predstavili z dvema posterjema na mednarodnih simpozijih s področja kromatografije. Članek je bil poslan v objavo novembra 2008 in je zdaj že objavljen v J. Chromatogr. A. S tem inštitutom smo z razvojem metod za analizo in pridobivanje karotenoida luteina sodelovali tudi pri raziskavah pogojev za vzgojo rastlin za industrijsko pridobivanje luteina in rezultate predstavili na dveh simpozijih.

Polifenoli (proantocijanidini, flavan-3-oli, katehini):

Na osnovi tankoplastne kromatografije z denzitometrijo smo razvili in validirali analizno metodo za kvantitativno določanje (-)-epikatehina in procianidina B2 v čokoladi. Za ta namen smo razvili in optimizirali nov detekcijski reagent, s katerim se v primerjavi z običajno uporabljanimi detekcijskimi reagenti (vanilinom in anisaldehydom) za desetkrat zniža meja detekcije analitov. Do sedaj se je za TLC detekcijo katehinov največkrat uporabljal aromatski aldehyd vanilin. Največja pomankljivost vanilinskega reagenta je hitro razbarvanje kromatografskih lis. Zato smo namesto vanilina uporabili 4-dimetilaminocimetov aldehyd (DMACA). Reagent s tem aldehydom, daje stabilnejše kromatografske lise, potrebno je tudi manj aldehyda ter kisline za pripravo tega reagenta. Pri optimizaciji smo uporabljali okolju prijazno metodo za določanje katehinov, kjer ločba poteka na celulozni TLC plošči, ki jo razvijemo v vodi. Članek je bil leta **2009 objavljen v J. Chromatogr. A**. Preverili smo uporabnost te TLC metode za hitre presejalne analize za določanje proantocijanidinov v ekstraktih cimeta, zelenega čaja grozdnih pečk, semenskih ovojnic (=testa) plodov arašidov in hrastovega lubja. S to metodo smo v realnih vzorcih s Carinske uprave Republike Slovenije (Generalni carinski urad, Ljubljana) potrdili prisotnost ekstrakta zelenega čaja. Z njo smo navdušili tudi mlade udeležence showa »Pomen analize živil«, ki je potekal v okviru 15. slovenskega festivala znanosti septembra 2009 v Ljubljani.

Optimizirali smo postopke ekstrakcije (-)-epikatehina in procianidina B2 iz čokolade, pri čemer smo raziskovali vpliv mikrovalov, ultrazvoka in disperzije matriksa na trdni fazi na ekstraktibilnost omenjenih spojin. Razvili smo HPLC-UV metodo za določanje vsebnosti (-)-epikatehina, procianidina B2, kofeina in teobromina v čokoladi in določili vsebnost naštetih spojin v različnih vzorcih čokolade, kakavove mase in kakava slovenskih (Gorenjka d.d., Benedikt d.o.o., Syncerus d.o.o.) in hrvaških proizvajalcev (Kraš in Zvečevo). Pri tem smo delno sodelovali z raziskovalci s Fakultete za kemijsko inženirstvo in tehnologijo Univerze v Zagrebu (bilateralni projekt). Rezultate smo predstavili s petimi posterji na več simpozijih (v Helsinkih je bil en nagrajen). En članek je že v tisku v reviji **J. Planar Chromatogr., eden pa je v pripravi.**

Aplikacije za monolitne kolone:

Razvili smo postopek ekstrakcije in izolacije dveh encimov pektin metilesteraze (PME) in poligalakturonaze (PG) iz paradižnika, ki je bistveno hitrejši od tistih, ki so objavljeni v literaturi. Za izolacijo so bile ključnega pomena kratke monolitne kolone (CIM® diski) podjetja BIA Separations d.o.o. Izolirali smo eno od oblik PG in eno od oblik PME, ki za svoje delovanje ne potrebuje natrijevega klorida in ima potencial za uporabo v prehrambeni industriji. Encima sta dovolj čista za pripravo monoklonskih protiteles za kasnejše pridobivanje s pomočjo afinitetne kromatografije, kar bi lahko bila nova aplikacija za monolitne kolone. Rezultate smo leta 2007 objavili v članku v **J. Chromatogr. A**.

Razvijali smo tudi analizne metode za hitro določanje bioloških aktivnosti različnih biomolekul z uporabo monolitnih kolon. Značilnost teh kolon je, da so optimirane glede strukture ter velikosti in porazdelitve velikosti por, s čimer lahko dosegamo zelo učinkovita ločevanja biološko aktivnih makromolekul. Na ta način lahko izvajamo učinkovite in zelo hitre analize ("almost real time"), ki so še posebno pomembne z vidika PAT (Process Analytics Technology) tehnologije.

Za potrebe hitrega razvoja HPLC analitskih metod in kasneje tudi samega izvajanja hitrih HPLC analiznih metod smo razvili nove analitske HPLC kolone, ki temeljijo na poroznem polimernem nosilcu – monolitu. Zaradi svojih specifičnih kromatografskih lastnosti, ki so posledica optimirane polimerne strukture monolitnega nosilca, je omogočeno delo pri povišanih volumskih pretokih (reda velikosti 10 do 30 kolonskih

volumnov/minuto), kar močno poveča storilnost laboratorijev pri analizah velikega števila vzorcev. V prvi stopnji so bili razviti monoliti in kolone za testiranje večjih biomolekul, pri čemer smo **rezultate predstavili na dveh kongresih ter v enem preglednem članku**. V nadaljevanju dela pa se usmerjamo v optimizacijo strukture in geometrije kolone, kar naj bi omogočilo tudi izvedbo analitike manjših molekul z uporabo sklopljenih kromatografskih tehnik.

Tako smo v zaključnem letu projekta študirali vpliv polimerizacijskih in modifikacijskih pogojev na kromatografske lastnosti monolitnih analitskih kolon. Ob tem smo spreminjali tudi samo geometrijo monolita - premer in dolžino - z namenom priprave kolone, ki bi jo lahko uporabili za učinkovito analitiko biološko pomembnih molekul. Nekaj rezultatov smo predstavili v obliki posterja na dveh kongresih v tujini. Pridobili smo tudi nekaj osnovnih podatkov o možnosti uporabe monolitnih analitskih kolon za ločevanje testne proteinske mešanice in naknadne detekcije z masnim spektrometrom, kar nam bo služilo kot osnova za nadaljnji razvoj in optimizacijo kolon tudi na tem področju.

TLC-MS:

Na osnovi dolgoletnega sodelovanja med najpomembnejšim proizvajalcem opreme za tankoplastno kromatografijo, smo konec leta lahko med prvimi v svetovnem merilu testirali TLC-MS vmesnik. Njegovo učinkovitost smo preverili na triterpenoidih, proantocianidinih in karotenoidih in ugotovili, da se z direktnim prenosom ločenih spojin v MS detektor odpirajo nove možnosti tudi v analitiki organskih nutrientov v rastlinskih materialih (sadju, zelenjavi, ekstraktih, odpadkih, itd.) in drugih vzorcih (prehranskih dopolnilih).

4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev³

Z raziskovanjem smo potrdili našo hipotezo, da kombinacija kromatografskih tehnik (HPLC, TLC in GC) z različnimi spektroskopskimi tehnikami (NMR, MS itd) omogoča določitev strukture sorodnih, vendar še neznanih spojin prisotnih v testnih raztopinah ob znanih analitih, za katere je možno nabaviti standarde in razviti metodo za kvantitativno določanje. V okviru projekta smo razvijali kromatografske metode za določanje naravnih in sintetskih organskih spojin z biološko aktivnostjo. Glede na naše znanje, izkušnje ter podatke o biološki aktivnosti smo se omejili predvsem na spojine iz naslednjih velikih skupin: karotenoidi, polifenoli, triterpenoidi, in fitosteroli, za katere velja, da so koristne za človeški organizem in so večinoma sestavni del naše vsakodnevne prehrane. Predmet naših raziskav so bili tudi naravni naftokinoni in nekateri encimi. Uporabnost razvitih metod smo preverili na različnih vrstah vzorcev (sadje, zelenjava, prehranski izdelki, zdravilne rastline, prehranska dopolnila, industrijski odpadki rastlinskega izvora, ipd.). Zaradi kompleksne problematike smo uporabljali različne pristope in tehnike: HPLC z UV/VIS ali MS detektorjem; TLC z denzitometrijo in analizo slik (UV, VIS, fluorescenca) in GC s FID ali MS detektorjem. Pri pripravi testnih raztopin smo med drugim uporabljali SPE tehniko ("solid - phase extraction"). Pri razvoju metod smo uporabili tudi najnovejše dosežke na področju kromatografskih materialov in materiale primerjali s predhodnimi, ki smo jih bili sami uporabljali, ali pa smo podatke našli v literaturi. Razvite analizne metode smo uporabili za reševanje nekaterih problemov, ki so se pojavili v slovenski industriji, pa tudi javni upravi (n. pr. identifikacija komponent zelenega čaja v vzorcu sladkorja za Generalni carinski urad, Ljubljana).

Na osnovi dolgoletnega sodelovanja med najpomembnejšim proizvajalcem opreme za tankoplastno kromatografijo smo konec leta lahko med prvimi v svetovnem merilu testirali TLC-MS vmesnik. Njegovo učinkovitost smo preverili na triterpenoidih, proantocianidinih in karotenoidih in ugotovili, da se z direktnim prenosom na tankem sloju ločenih spojin v MS detektor odpirajo nove možnosti tudi v analitiki organskih nutrientov v rastlinskih materialih (sadju, zelenjavi, ekstraktih, odpadkih, itd.) in drugih vzorcih (prehranskih dopolnilih).

V okviru projekta so bile planirane nove aplikacije na CIM kolonah (aplikacije s področja prehranske tehnologije), s katerimi bi lahko tržili monolitne kolone ne le na biofarmacevtskem, temveč tudi na prehrabeno tehnološkem področju. Vsaj dve aplikaciji sta v zaključni fazi priprave in računamo, da ju bomo lahko uradno izdali v letu

2010. Prav tako je v pripravi tudi publikacija o uporabi monolitnih analitskih kolon za hitro separacijo biološko pomembnih molekul.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta⁴

Ni bilo sprememb.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Izolacija encimov pektin metilesteraze in poligalakturonaze iz paradižnika z uporabo kratkih monolitnih kolon
		ANG	Isolation of tomato pectin methylesterase and polygalacturonase on short monolithic columns
	Opis	SLO	Razvili smo nov postopek ekstrakcije in izolacije dveh encimov pektin metilesteraze (PME) in poligalakturonaze (PG) iz paradižnika. Za izolacijo so bile ključnega pomena kratke monolitne kolone (CIM® diski) podjetja BIA Separations d.o.o. Izolirali smo eno od oblik PG in eno od oblik PME, ki za svoje delovanje ne potrebuje natrijevega klorida in ima potencial za uporabo v prehrambeni industriji. Št. citatov: 11
		ANG	We developed new extraction, isolation procedure for the isolation of the enzymes pectin methylesterase (PME) and polygalacturonase (PG) from fresh tomato fruit. One of the main forms of tomato PME that is applicable to the food industry and one form of PG were isolated using short monolithic columns (CIM disks, Bia Separations). Times cited: 11
	Objavljeno v		VOVK, I., SIMONOVSKA, B.. Isolation of tomato pectin methylesterase and polygalacturonase on monolithic columns. J. Chromatogr. A, 2007, 1144, 90-96. JCR IF (2007): 3.641
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		3561754
2.	Naslov	SLO	Nove HPLC-UV in LC-MS metode za določanje triterpenoidov v površinskih voskih zeljnih listov
		ANG	New HPLC-UV and LC-MS methods for determination of triterpenoids in epicuticular wax of cabbage
	Opis	SLO	Prvi na svetu smo dokazali lupeol, ki je eden izmed treh glavnih triterpenoidov v voskih s površin zeljnih listov. Identifikacija teh izomernih spojin temelji na novih analiznih metodah na osnovi komplementarnih tehnik: tankoplastne kromatografije na silikagelu in tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC) na reverzni fazi z različnimi detekcijami (UV, APCI-MS-MS). Metoda je uporabna za določanje teh spojin v rastlinskih ekstraktih.
		ANG	Lupeol, together with α -amyirin and β -amyirin in smaller quantities, has been found for the first time in the epicuticular wax of white cabbage leaf surface extract. The combination of developed complementary chromatographic techniques, TLC on silica gel and HPLC on reversed-phase, with several detection techniques including APCI-MS-MS, was crucial for identification of these isomeric and can be applied to the analysis of other plant extracts.
	Objavljeno v		MARTELANC, M., VOVK, I., SIMONOVSKA, B.. Determination of three major triterpenoids in epicuticular wax of cabbage (<i>Brassica oleracea</i> L.) by high-performance liquid chromatography with UV and mass spectrometric detection. J. Chromatogr. A, 2007, 1164, 145-152. JCR IF (2007): 3.641
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		3751962
3.	Naslov	SLO	Nova inovativna HPLC metoda za ločbo šikonina in njegovih derivatov
		ANG	A new cutting edge HPLC method for the separation of shikonin and its derivatives
	Razvili smo prvo HPLC metodo, ki omogoča istočasno ločbo in identifikacijo		

	Opis	SLO	devetih, strukturno izjemno podobnih šikoninskih derivatov (celo pozicijski in geometrijski izomeri): šikonin, acetilšikonin, propionilšikonin, isobutirilšikonin, tigloilšikonin, 3,3-dimetilakrilšikonin, angelilšikonin, 2-metil-n-butirilšikonin in izovalerilšikonin. Te biološko aktivne spojine so bile prvič identificirane v rastlini <i>Echium italicum</i> L. s pomočjo novo razvite HPLC metode, NMR in MS spektrov.
		ANG	The development of a new isocratic HPLC method enables simultaneous separation and identification of nine structurally highly resembling shikonin derivatives (even positional and geometric isomers) for the first time: shikonin, acetylshikonin, propionylshikonin, isobutyrylshikonin, tigloylshikonin, 3,3-dimethylacrylshikonin, angelylshikonin, 2-methyl-n-butyrylshikonin and isovalerylshikonin. These biologically active compounds were identified for the first time in <i>Echium italicum</i> L. by this newly developed HPLC method, NMR and MS spectra.
	Objavljeno v		ALBREHT, A., VOVK, I., SIMONOVSKA, B., SRBINOSKA, M.. Identification of shikonin and its ester derivatives from the roots of <i>Echium italicum</i> L. J Chromatogr. A, 2009, 1216, 3156-3162. JCR IF (2008): 3.756
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		4134682
4.	Naslov	SLO	Nov optimiziran TLC detekcijski reagent za identifikacijo in kvantifikacijo katehinov v različnem rastlinskem materialu
		ANG	A new optimised TLC detection reagent for identification and quantification catechins in different plant materials
	Opis	SLO	Katehini so pomembne biološko aktivne spojine v rastlinskem svetu. Uživanje hrane (zeleni čaj, rdeče grozdje, kakav itd.) bogate s katehini naj bi preprečevalo razvoj kroničnih bolezni. Do sedaj se je za TLC detekcijo katehinov največkrat uporabljal aromatski aldehyd vanilin. Največja pomankljivost vanilinskega reagenta je hitro razbarvanje kromatografskih lis. Zato smo namesto vanilina uporabili 4-dimetilaminocimetov aldehyd. Reagent s tem aldehydom, daje stabilnejše kromatografske lise, potrebno je tudi manj aldehyda ter kisline za pripravo tega reagenta.
		ANG	Catechins are important bioactive compounds in the plant kingdom. Consumption of food (green tea, red grapes, cocoa etc.) rich with catechins is associated by prevention of chronic diseases. Until now, for TLC detection of catechins aromatic aldehyde vanillin has mainly been used. The main drawback of vanillin reagent is rapid discoloration of chromatographic bands. Therefore, instead of vanillin we used 4-dimethylaminocinnamaldehyde. The reagent containing this aldehyde gives more stable bands also less aldehyde and acid are needed for the preparation of this reagent.
	Objavljeno v		GLAVNIK, V., SIMONOVSKA, B., VOVK, I.. Densitometric determination of (+)-catechin and (–)-epicatechin by 4-dimethylaminocinnamaldehyde reagent. J Chromatogr. A, 2009, 1216, 4485-4491, JCR IF (2008): 3.756
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS.SI-ID		4134938
	Naslov	SLO	Metakrilatne monolitne kolone, ki omogočajo hitro in učinkovito analizo biomolekul in nanodelcev
		ANG	Methacrylate-based short monolithic columns: enabling tools for rapid and efficient analyses of biomolecules and nanoparticles
	Opis	SLO	Prvič smo predstavili osnovne strukturne in kromatografske lastnosti analitskih monolitnih kolon.
		ANG	The basic structural and chromatographic properties of short monolithic analytical columns were presented for the first time.
	Objavljeno v		BARUT, M., PODGORNIK, A., URBAS, L., GABOR, B., BRNE, P., VIDIČ, J., PLEVČAK, S., ŠTRANCAR, A.. Methacrylate-based short monolithic columns : enabling tools for rapid and efficient analyses of biomolecules and nanoparticles. J. sep. sci., 2008, 31, 1867-1880, JCR IF (2008): 2.746
	Tipologija		1.02 Pregledni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		3469176

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁶

--	--

Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Postopek izolacije encimov pektin metilesteraze in poligalakturonaze iz paradižnika z uporabo kratkih monolitnih kolon
		ANG	Procedure for isolation of tomato pectin methylesterase and polygalacturonase on short monolithic columns
	Opis	SLO	Razvili smo nov postopek ekstrakcije in izolacije dveh encimov pektin metilesteraze (PME) in poligalakturonaze (PG) iz paradižnika, za kar so bile ključnega pomena kratke monolitne kolone (CIM® diski) podjetja BIA Separations d.o.o. Izolirali smo eno od oblik PG in eno od oblik PME, ki za svoje delovanje ne potrebuje natrijevega klorida in ima potencial za uporabo v prehrabeni industriji.
		ANG	We developed new extraction, isolation procedure for the isolation of the enzymes pectin methylesterase (PME) and polygalacturonase (PG) from fresh tomato fruit. One of the main forms of tomato PME that is applicable to the food industry and one form of PG were isolated using short monolithic columns (CIM disks, Bia Separations).
	Šifra		F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v		VOVK, I., SIMONOVSKA, B.. Isolation of tomato pectin methylesterase and polygalacturonase on monolithic columns. J. Chromatogr. A, 2007, 1144, 90-96. [COBISS.SI-ID 3561754] JCR IF (2007): 3.641
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		3561754
2.	Naslov	SLO	Nov pristop k analitiki triterpenoidov v rastlinskih materialih
		ANG	New approach in analysis of triterpenoids in plant materials
	Opis	SLO	Z novim pristopom, ki temelji na uporabi komplementarnih tehnik (TLC in HPLC-UV-MS) in uporabi normalne in reverzne faze smo prvi ločili in identificirali dvanajst biološko aktivnih spojin, deset triterpenoidov (α -amirin, β -amirin, δ -amirin, lupeol, lupenon, lupeol acetat, cikloartenol, cikloartenol acetat, ursolna kislina in oleanolna kislina) in dva sterola (stigmasterol in β -sitosterol) in prvi ločili štiri izomerne triterpenole (α -amirin, β -amirin, cikloartenol in lupeol) s TLC brez predhodne derivatizacije in metodo preverili na različnih rastlinskih materialih.
		ANG	An innovative approach based on the complementary techniques (TLC in HPLC-UV-MS) using normal and reversed phase enabled separation and identification of twelve biologically active compounds, ten triterpenoids (α -amyrin, β -amyrin, δ -amyrin, lupeol, lupenon, lupeol acetate, cycloartenol, cycloartenol acetate, ursolic acid and oleanolic acid) and two sterols (stigmasterol and β -sitosterol) for the first time. The separation of four isomeric triterpenols (α -amyrin, β -amyrin, cycloartenol and lupeol) without pre-chromatographic derivatization was achieved by TLC for the first time as well.
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		VOVK, Irena, MARTELANC, Mitja, SIMONOVSKA, Breda. Complementarity of TLC and HPLC in investigation of triterpenoids in plant extracts. V: International symposium for high performance thin-layer chromatography : Helsinki - Stockholm - Helsinki, 11th - 13th June 2008, M/S Silja Symphony. [Helsinki]: [s. n.], 2008, [1] str. [COBISS.SI-ID 4011290]
	Tipologija		1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
	COBISS.SI-ID		4011290
3.	Naslov	SLO	Dokumentarna oddaja: Resnice in neresnice o vitaminih in mineralih
		ANG	Documentary transmission »Truth and untruth about vitamins and minerals«
	Opis	SLO	Sodelovali smo pri snemanju dokumentarne oddaje »Resnice in neresnice o vitaminih in mineralih«, ki jo je posnela Televizija Slovenija (I. program : dokumentarna oddaja. Ljubljana, 5. oktober 2009). V delu oddaje, ki je bila posneta v Laboratoriju za prehrabeno kemijo na Kemijskem inštitutu, je bil predstavljen naš prispevek o likopenu in vitaminu C v živilih in prehranskih dopolnilih.
		ANG	We participated in the documentary transmission »Truth and untruth about vitamins and minerals« presented on the 1. programme of TV Slovenia on the 5th of October 2009. The group from the Laboratory for Food Chemistry

		(National Institute of Chemistry) made a contribution about the carotenoid lycopene and vitamin C in foods and food supplements.
Šifra	F.35	Drugo
Objavljeno v	ANDERLUH, Marko, SIMČIČ, Marjan, OBREZA, Aleš, GAŠPERLIN, Mirjana, IHAN, Alojz, ŠELIH, Vid Simon, OGOREVC, Božidar, SIMONOVSKA, Breda, PUKLAVEC, Mateja, VOVK, Irena, ČERNELIČ, Katarina. Resnice in neresnice o vitaminih in mineralih : Televizija Slovenija : I. program : dokumentarna oddaja. Ljubljana, 5. oktober 2009. [COBISS.SI-ID 2656881]	
Tipologija	3.11	Radijski ali TV dogodek
COBISS.SI-ID	2656881	
4.	Naslov	SLO Mentorstvo diplomantom in mladim raziskovalcem
		ANG Tutoring for BSc. and PhD. students
	Opis	SLO Studentki sta izvedli eksperimentalni del in pripravili diplomski deli s področja dela na tem projektu.
		ANG In the frame of this research project two undergraduate students from University of Ljubljana [Faculty of Chemistry and Chemical Technology (Darja Groznik, co-supervisor dr. Breda Simonovska) and Faculty of Education (Katja Zavrl, co-supervisor dr. Irena Vovk)] did experimental work and prepare diploma thesis. The researchers were also actively involved in the education process by supervising involved young researchers (Mitja Martelanc, Vesna Glavnik, Alen Albreht, Peter Berne).
	Šifra	D.10 Pedagoško delo
	Objavljeno v	ZAVRL, Katja. Določanje triterpenoidov s površin zeljnih listov : diplomsko delo. Ljubljana: [K. Zavrl], 2007. 71 f., ilustr., graf. prikazi; COBISS.SI-ID 7094857]
		GROZNIK, Darja. Določevanje likopena v prehranskem dopolnilu s tekočinsko kromatografijo : diplomsko delo. Ljubljana: [D. Groznik], 2007. XIII, 58 f., tabele, graf. prikazi. [COBISS.SI-ID 28770821]
	Tipologija	4.00 Sekundarno avtorstvo
	COBISS.SI-ID 7094857	
5.	Naslov	SLO HPLC metoda za določanje all-trans-luteina v prehranskih dopolnilih
		ANG HPLC method for determination of all-trans-lutein in food supplements
	Opis	SLO Razvili smo HPLC metodo za določanje all-trans-luteina v prehranskih dopolnilih in jo uporabili za določitev all-trans-luteina v 15 različnih prehranskih dopolnilih (tablete, kapsule). Rezultati so potrdili, kako potrebno je določanje luteina v prehranskih dopolnilih: 4 vzorci sploh niso vsebovali luteina, 3 vzorci so imeli okrog 140% in samo 6 vzorcev je vsebovalo med 85 in 115% od deklarirane vsebnosti. Dve formulaciji sta vsebovali 51% od deklarirane vrednosti luteina v obliki luteinskih estrov. V vseh vzorcih smo detektirali tudi cis izomere luteina in malo all-trans-zeaksantina.
		ANG An HPLC method developed for determination of all-trans-lutein in food supplements was used for the analysis lutein in 15 different food supplements (tablets and capsules). The results proved the necessity of the determination of lutein in food supplements: 4 samples contained no lutein at all, 3 samples contained about 140 % and only 6 samples were in the 85-115% range of the declared content, 2 samples contained about 51% of the declared value of lutein in the form of lutein esters. Some cis isomers of lutein and small amounts of all-trans-zeaxanthin were also detected in all samples.
	Šifra	F.02 Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
	Objavljeno v	SIMONOVSKA, Breda, VOVK, Irena, AGBABA, Danica, POPOVIČ, Gordana V. Determination of lutein in food supplements. V: 27th International Symposium on Chromatography [also] ISC 2008, Münster, Germany, September 21-25, 2008. Final programme [and book of abstracts]. [S.l.: s.n.], 2008, 1 str.
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
	COBISS.SI-ID 4030234	

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

MEDNARODNA NAGRADA:

Na 15th International Symposium on Separation Sciences" (2.-4.9.2009, Siófok, Madžarska):
1. Mlada raziskovalka Vesna Glavnik: nagrada za najboljši poster »"Comparison of TLC and HPLC Methods for Determination of (-)-Epicatechin and Procyanidin B2 in Chocolate". Nagrada je enoletno brezplačno prejetanje revije "Journal of Planar Chromatography – Modern TLC".

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Z raziskavami smo prispevali nova znanstvena spoznanja v svetovno zakladnico znanj o analitiki izbranih organskih mikronutrientov in sorodnih spojin in tudi k znanju o spektroskopskih (MS, NMR) in drugih lastnostih teh spojin iz skupin triterpenoidov, fitosterolov, karotenoidov, proantocianidinov in naftokinonov. Poleg tega smo prvi v svetu identificirali devet šikoninskih derivatov (tudi pozicijske in geometrijske izomere) v koreninah rastline *Echium italicum* L. iz družine srbkolistnic. Prvi smo identificirali tudi triterpenol lupeol v voskih s površin listov zelja (*Brassica oleracea* L.). Razvili smo več postopkov za izolacijo naslednjih spojin iz paradižnika: encimov PME, PG in triterpenola δ -amirina. Razvili smo več analizičnih metod za določanje triterpenoidov, šikoninskih derivatov, likopena, luteina in proantocianidinov. Za detekcijo proantocianidinov smo uvedli nov optimiziran detekcijski reagent za potapljanje, ki je bolj specifičen, daje bolj stabilne kromatografske lise in nižje meje detekcije. Vse naštetje je bilo objavljeno v izvirnih znanstvenih člankih v mednarodnih revijah z IF ali pa predstavljeno na mednarodnih simpozijih.

ANG

Our investigations contributed new scientific knowledge to the world treasury of knowledge about analytics of selected organic micronutrients and related compounds and also about their spectroscopic (MS, NMR) and other features of compounds from the groups of triterpenoids, phytosterols, carotenoids, proanthocyanidins and naphthoquinones. Additionally, ten compounds were identified for the first time: nine shikonin derivatives present in the medicinal plant *Echium italicum* L. and triterpenol lupeol present in the epicuticular wax of white cabbage *Brassica oleracea* L.. We developed several procedures for the isolation of the following compounds from tomato fruits: enzymes pectin methylesterase and polygalacturonase and triterpenol δ -amyrin. Several analytical methods for determination of triterpenoids, shikonin derivatives, lycopene, lutein and proanthocyanidins were developed. We introduced a new optimized dipping detection reagent with 4-dimethylaminocinnamaldehyde, which is more specific and gives more stable chromatographic bands and lower limits of detection for proanthocyanidins. All described achievements were published in scientific papers international journals with IF or presented at the international symposia.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Rezultati raziskav na področju analitike organskih mikronutrientov in drugih sorodnih spojin nam povečujejo možnosti za povezovanje z drugimi raziskovalnimi institucijami (interdisciplinarni projekti, evropski projekti) in z gospodarskimi družbami v Sloveniji in v drugih državah. Razvite analize metode so uporabne tudi za izvedbo rutinskih laboratorijskih analiz v živilski industriji (kontrola vhodnih surovin in končnih izdelkov), agronomiji (izbor sort), farmacevtski industriji in na drugih sorodnih področjih ter za potrebe regulatornih organov. Pridobljeno znanje o lastnostih izbranih mikronutrientov (ekstraktibilnost, stabilnost v ekstraktih in v čisti obliki, itd.) je lahko osnova za nove izdelke na področju funkcionalnih živil in prehranskih dopolnil. Razvoj aplikacij na monolitnih kromatografskih materialih podjetja BIA Separations in poročanja o tem v znanstvenih publikacijah stimulirajo razvoj novih kromatografskih materialov in prispevajo k promociji tega podjetja. Uporaba monolitnih kolon pri izvajanju specialnih aplikacij stimulira razvoj in optimizacijo samega monolitnega nosilca (z vidika strukture in kemijske modifikacije monolita) kot tudi z vidika celotne analitske kolone (geometrija). Na ta način se s pomočjo usmerjenih aplikativnih raziskav računa na razvoj novih kolon namenjenih analitiki ciljnih molekul v določenih tržnih nišah. Osvojitve določene tržne niše pa v prihodnosti lahko pomeni dodatne vires prihodkov in nadaljnjo rast slovenskega podjetja. Projekt je pomemben tudi z vidika vzgoje mladih kadrov, saj je vanj vključenih več

mladih raziskovalcev. Poleg tega bodo nekatere razvite metode bodo lahko v pomoč tudi državnim agencijam, ki bodo v prihodnosti zagotovo izvajale večji nadzor nad prehranskimi dopolnili.

ANG

The results of investigations in the field of analytics of organic micronutrients and related compounds have further increased our possibilities of networking with other research institutions (interdisciplinary projects, European projects) and also with companies (especially SMEs) in Slovenia and in other countries. The developed methods can be used for routine analysis in the laboratories for food processing industries (e.g. control of raw materials and final products), agriculture (sort selection), pharmacy and other related fields, as well as for the needs of the regulatory organs. The acquired knowledge about the properties of the selected micronutrients (extractability, stability in the extracts and in pure form, etc.) and the composition of natural extracts could be used as a basis for the new products in the field of functional food and food supplements. Development of new applications on monolithic chromatographic materials produced by the company BIA Separations and reporting about them in scientific journals stimulates the development of new chromatographic materials and contributes to the promotion of the company. The use of monolithic columns for the specific applications triggers further research and optimization of monolithic columns (from the point of view of the basic monolith structure and surface chemistry as well as from the point of view of the column geometry). In this way, the oriented application research may result in the development of novel columns, with which the target niche market can be addressed. By successfully addressing the niche market it would be possible to increase the revenues of the company thus enabling further growth and development of a high-tech Slovene company. The project is also important in terms of education, since several young researchers are involved. Additionally, some of the developed methods will help the Slovenian agencies to perform better control of the food supplements available on the Slovenian market.

10. Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen

	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	

	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Delno
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Delno
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

V okviru aplikativnega projekta smo si zastavili več ciljev, katerim smo med samim potekom projekta nadzorovano sledili, zato je bila večina ciljev dosežena. Med glavnimi cilji so bili razvoj novih analitskih kromatografskih metod (HPLC, TLC), s katerimi bi lahko učinkovito določali organske spojine z biološko aktivnostjo. Ker te spojine nastopajo v kompleksnih naravnih mešanicah, smo si kot cilj zastavili tudi razvoj novih metod ekstrakcije. Z novo razvitimi metodami smo želeli določiti koncentracije biološko aktivnih snovi v kompleksnih zmesih, preveriti njihovo stabilnost ter hkrati razviti postopke izolacije le-teh na kromatografskih nosilcih nove generacije – CIM monolitnih kolonah, ki jih razvija in trži podjetje BIA Separations. Vse cilje smo med potekom projekta v celoti tudi dosegli. Doseženi rezultati projekta so že ali bodo v kratkem uporabljeni v praksi – kot uporaba novih metod v našem laboratoriju ter v nekaterih drugih laboratorijih, predstavitev teh metod v znanstvenih publikacijah in na znanstvenih srečanjih, kar povečuje ugled Slovenije v svetu kot inovativnega okolja. Znanje smo prenašali tudi na mlajše kolege v okviru do in podiplomskega izobraževanja. Razvita preparativna metoda izolacije aktivnih encimov pa tudi daje kratkoročne in srednjeročne možnosti vstopa podjetja sofinancerja projekta na novo tržno nišo in s tem povečanja prodaje svojih inovativnih monolitnih kolon.

11. Samo za aplikativne projekte!**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visoko-šolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☒	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☒	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☒	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☒	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☒	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☐	☒	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☒	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☒	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☒	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☒	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☒	☐	

G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih					
G.02.11.	Nov investicijski zagon					
G.02.12.	Drugo:					
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti					
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti					
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij					
G.03.04.	Drugo:					
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja					
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja					
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave					
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti					
G.04.05.	Razvoj civilne družbe					
G.04.06.	Drugo:					
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete					
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj					
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura					
G.07.02.	Prometna infrastruktura					
G.07.03.	Energetska infrastruktura					
G.07.04.	Drugo:					
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

Razvoj novih metod in tehnik, ki so plod lastnega znanja in dela, je najboljši način vzgajanja novih generacij raziskovalcev. Z razvojem novih metod in postopkov smo to znanje uspešno prenesli na podiplomske študente, ki so se v času izvajanja projekta izobraževali v naši raziskovalni enoti. Z objavljanjem v znanstveni literaturi in predstavitivijo na kongresih smo pridobljeno znanje predstavili v še širšem okolju. Z novo-razvitimi metodami in tehnikami postavljamo standarde in nudimo načine, kako dejansko preveriti specifikacije prehranskih dopolnil, ki so največkrat napačne in zavajajoče. S tem ponujamo možnost kontrole takih izdelkov na tržišču, odstranjevanje neprimernih izdelkov in na ta način izboljšujemo kvaliteto življenja uporabnikom takih izdelkov.

Z razvojem novih postopkov izolacije aktivnih encimov, ki temeljijo na kromatografiji nove generacije – monolitni kromatografiji – odpiramo nove tržne niše za podjetje sofinacerja. S tem se le-to lahko pojavi na trgu kot ponudnik učinkovite tehnologije v prehrabeni industriji in na ta način poveča prodajo svojih izdelkov in storitev. S tem prvič dokaže svojo tehnološko usposobljenost in inovativnost, ob povečani prodaji pa tudi večja število zaposlenih z odpiranjem novih delovnih mest – tako razvojnih kot tudi proizvodnih.

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki¹¹

1.	Sofinancer BIA Separations d.o.o.		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		52.222,00 EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		25,00 %
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.	VOVK, I., SIMONOVSKA, B.. Isolation of tomato pectin methylesterase and polygalacturonase on monolithic columns. J. Chromatogr. A, 2007, 1144, 90-96. [COBISS.SI-ID 3561754] JCR IF (2007): 3.641	A.01
	2.	BARUT, M., PODGORNIK, A., URBAS, L., GABOR, B., BRNE, P., VIDIČ, J., PLEVČAK, S., ŠTRANCAR, A.. Methacrylate-based short monolithic columns : J. sep. sci., 2008, 31, 1867-1880, JCR IF (2008): 2.746	A.01
	3.	Razvoj novih postopkov in metod	F.01
Komentar		1. Razvit je bil nov postopek ekstrakcije in izolacije dveh encimov pektin metilesteraze (PME) in poligalakturonaze (PG) iz paradižnika. Za izolacijo so bile ključnega pomena kratke monolitne kolone (CIM® diski) podjetja BIA Separations d.o.o. Izolirani sta bili ena od oblik PG in ena od oblik PME, ki za svoje delovanje ne potrebuje natrijevega klorida in ima potencial za uporabo v prehrabeni industriji. Zanimanje za ta postopek izolacije na CIM diskih je izkazalo več raziskovalnih skupin in podjetje iz Avstralije. 2. Razvite so bile monolitne analitske kolone, ki služijo za učinkovito in hitro kromatografsko analitiko različnih biomolekul. Novorazvite kolone omogočajo izvedbo HPLC analitike v zelo kratkem času, zato podajajo hitro informacijo o poteku čiščenja določene učinkovine (in-procesna ali končna kontrola). Iz tega vidika so ključnega pomena za postavitev t.i. procesne analitske tehnologije (PAT). 3. Razvoj novih postopkov izolacije aktivnih encimov iz prehrabnih vzorcev - možnost prenosa znanj in tehnologije zunanjim partnerjem ali strankam. Razvoj novih HPLC analitskih metod - uporaba novih metod za določanje bioloških mikronutrientov.	
		Podjetje BIA Separations že dobrih deset let razvija in trži svoj program monolitnih kolon za hitro in učinkovito čiščenje in izolacijo različnih biomolekul. Kot prvo podjetje v svetovnem merilu smo razvili monolitno tehnologijo do take stopnje, da se lahko uporablja v pilotnih oziroma industrijskih procesih. Na tem področju sodelujemo s kar nekaj raziskovalnimi in tehnološkimi centri v tujini. Tudi sam prodajni program je zelo izvozno usmerjen in trenutno podjetje več kot 90% svojega prometa s prodajo monolitne tehnologije dosega na tujih tržiščih. Pri tem sodelovanju gre predvsem za razvoj procesov čiščenja velikih biomolekul, kot npr. velikih proteinov (imunoglobulini M), plazmidne DNA in virusnih delcev. Ta segment predstavlja tudi glavno oziroma najpomembnejšo poslovno strateško odločitev delovanja podjetja. Podjetje se vsa leta trudi in usmerja tudi v različna sodelovanja z raznimi centri znanja v Sloveniji, predvsem s podjetjem Lek (Biofarmacevtika) z Nacionalnim inštitutom za biologijo (NIB), Inštitutom Jožef Stefan (IJS) ter Kemijskim inštitutom (KI). Prav v okviru sodelovanja s KI in konkretno v skupnem aplikativnem projektu L1-9479 'Razvoj kromatografskih metod za določanje mikronutrientov in nekaterih drugih organskih spojin z biološko aktivnostjo' smo želeli poseči na nas relativno novo področje - področje razvoja kolon in metod za analitiko proteinov in manjših molekul z uporabo kromatografskih sklopljenih tehnik. V	

		okviru projekta je raziskovalna skupina na KI z uporabo CIM monolitnih kolon razvila proces kromatografskega čiščenja dveh encimov iz paradižnika. Gre za zelo zanimivo in pomembno aplikacijo, ki sega z biofarmacevtskega področja na prehrabeno področje ter s tem širi tržni prostor, na katerem lahko podjetje s svojimi izdelki dosega določeno prodajo in profitabilnost. S predstavitvijo doseženih rezultatov na kongresih in znanstvenih publikacijah se je zavedanje o možnosti uporabe CIM produktov za izolacijo aktivnih encimov iz prehrabnih izdelkov razširilo med ciljno populacijo ter že generiralo zanimanje potencialnih strank za postavitev podobnih procesov na CIM kolonah. S tega vidika je bilo sofinanciranje projekta za podjetje BIA Separations ustrezno in smiselno. V zadnjem delu projekta je raziskovalna skupina na KI začela s testiranjem in razvijanjem analitskih metod z uporabo novorazvitih analitskih monolitnih kolon. Gre predvsem za možnost izvedbe metod, kjer so sklopljene kromatografske in MS tehnike. Za podjetje BIA Separations je to področje zelo zanimivo, saj posega na tržišče z zelo visoko stopnjo rasti, hkrati pa nudi več možnosti tudi v sodelovanju z ameriškim partnerjem, podjetjem Agilent Technologies, ki je eno vodilnih podjetij v svetovnem merilu pri nujenju tovrstnih rešitev. Uspešno razvite aplikacije na tem področju omogočajo podjetju razširitev sodelovanja z ameriškim podjetjem, kar bo vodilo do povečane prodaje, povečanja števila delovnih mest (razvojnih in proizvodnih) ter k večji razpoznavnosti.	
2.	Sofinancer		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
	Komentar		
	Ocena		
3.	Sofinancer		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		

	Komentar		
	Ocena		

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

Irena Vovk	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

20.4.2010

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2010-1/175

¹ Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Samo v primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote. Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

PRIMER (v slovenskem jeziku):

Naslov: Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s kathepsinom X;

Opis: Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

Objavljeno v: OBERMAJER, N., PREMŽL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates $\beta 2$ - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

Tipologija: 1.01 - Izvirni znanstveni članek

COBISS.SI-ID: 1920113 [Nazaj](#)

⁶ Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Sifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja. [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2010 v1.00a

98-C1-17-1C-81-56-F3-F9-8E-0F-79-5A-B1-53-7D-CA-9B-A0-69-B9