

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

Projeto: - 4 - 11 - 2008

2. Šifra projekta:

V4-0325

Šifra zadeve:

63113-361/2008

3. Naslov projekta:

Raziskovanje kontaminacije krme s fumonizini

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Raziskovanje kontaminacije krme s fumonizini

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Investigation of the contamination of feed by fumonisins

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

krma, fumonizini

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

feed, fumonisins

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani (Veterinarska fakulteta)

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

/

6. Sofinancer/sofinancerji:

MKGP

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

07811

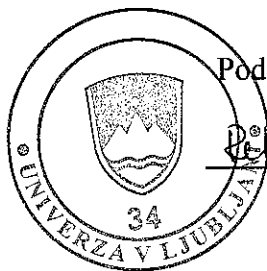
Dr. Gabrijela Tavčar Kalcher

Datum: 29.10.2008

Podpis vodje projekta:

Dr. Gabrijela Tavčar Kalcher

G. Tavčar Kalcher



Podpis in žig izvajalca:

Rektorica: Prof. dr. Andreja Kocijančič

Po pooblastilu
dekan

prof. dr. Milan Pogačnik

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- ☒ a) v celoti
☐ b) delno
☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

/

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- ☐ a) da
☒ b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

/

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

Uvedli in validirali smo metodo, ki jo razvija Referenčni laboratorij Unije (CRL) za mikotoksine (European Commission, Directorate General, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, CRL for Mycotoxins) in je predvidena za standardno metodo. Fumonizina B1 in B2 smo ekstrahirali iz vzorca z mešanico metanola in fosfatnega pufra. Ekstrakt smo očistili na imounoafinitetni koloni. Fumonizin B1 in B2 smo določili z metodo tekočinske kromatografije s fluorescenčno detekcijo po derivatizaciji z o-ftaldialdehidom (OPA) in 2-merkaptetanolom. Kot mobilno fazo smo uporabili mešanico metanola in raztopine natrijevega dihidrogen fosfata; pH mešanice smo uravnali na 3,35 z ortofosforno kislino. Pretok mobilne faze je bil 0,4 ml/min, temperatura kolone 35°C, injekcijski volumen vzorca 5 mikrolitrov, injekcijski volumen derivatizacijskega reagenta 10 mikrolitrov, valovni dolžine ekscitacije in emisije pa 335 nm oz. 440 nm.

Za validacijo smo uporabili tri krme, naravno kontaminirane s fumonizini (koncentracija fumonizina B1 0,05 mg/kg, 0,5 mg/kg in 1,3 mg/kg ter koncentracija fumonizina B2 0,02 mg/kg, 0,2 mg/kg in 0,4 mg/kg) ter krmo, ki ni vsebovala fumonizinov in smo ji dodajali fumonizina B1 in B2 v koncentraciji 0,3 mg/kg. Parametri, dobljeni pri validaciji, so naslednji: umeritveni krivulji za oba fumonizina sta v območju od 0,02 mg/kg do 2 mg/kg, kjer smo ju testirali, linearni ($r = 1,000$). Meja zaznavnosti je za oba fumonizina 0,02 mg/kg, meja vrednotenja pa 0,05 mg/kg. Povprečni izkoristek metode je pri fumonizinu B1 51,1 %, pri fumonizinu B2 pa 53,8 %. Merilna negotovost rezultata za fumonizin B1, določena na koncentracijskih nivojih 0,3 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,5 mg/kg in 1,3 mg/kg, je 0,08 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,32 mg/kg in 0,39 mg/kg. Merilna negotovost rezultata za fumonizin B2, določena na koncentracijskih nivojih 0,3 mg/kg, 0,2 mg/kg in 0,4 mg/kg je 0,07 mg/kg, 0,11 mg/kg in 0,25 mg/kg. Prikazani rezultati kažejo, da je postopek, ki smo ga uvedli, primeren za določanje fumonizinov B1 in B2 v krmah in krmnih mešanicah.

Z opisano metodo smo skupaj analizirali 40 vzorcev različnih žit, ki smo jih odvzeli iz najpomembnejših kmetijskih področij Slovenije. Med njimi je bilo 26 vzorcev koruze, 5 vzorcev ječmena, 5 vzorcev pšenice, 3 vzorci ovsa in 1 vzorec krmnega graha. V skladu z našimi pričakovanji smo fumonizine ugotovili samo v vzorcih koruze. Fumonizin B1 smo ugotovili v 18 (42,9 %) vzorcih, fumonizin B2 pa v 13 (31 %) vzorcih. Vsebnosti fumonizina B1 so se gibale med 0,01 in 4,9 mg/kg, vsebnosti fumonizina B2 pa med 0,01 in 1,6 mg/kg vzorca. Rezultati opravljenih preiskav kažejo, da je kontaminacija koruze s fumonizini v Sloveniji pogosta in, da tudi njihova koncentracija lahko presega najvišje orientacijske vsebnosti teh mikotoksinov, določene s priporočilom Evropske komisije (UL EU št. L 229, z dne 23.08.2006). Prekoračene priporočene vsebnosti smo ugotovili predvsem pri analizi močno kontaminiranih vzorcev koruze s plesnimi iz rodu *Fusarium*.

Kasneje smo metodo še optimizirali, predvsem z namenom, da zvišamo izkoristek metode. Spremenili smo ekstrakcijsko topilo, mobilno fazo tekočinske kromatografije in način derivatizacije. Namesto mešanice metanola in fosfatnega pufra smo za ekstrakcijo

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

uporabili mešanico acetontrila, metanola in vode. Izvedli smo gradientno kromatografijo z 0,1 % raztopino mravljične kisline v vodi in 0,1 % raztopino mravljične kisline v acetonitrilu, namesto predkolonske derivatizacije pa smo uporabili pokolonsko derivatizacijo z o-ftaldialdehidom in N-acetil-L-cisteinom. Metodo smo ponovno validirali. Povprečni izkoristek fumonizina B1 tako spremenjene metode je 95 %, povprečni izkoristek fumonizina B2 pa 85 %. S spremenjeno metodo smo analizirali vzorce krme in potrdili, da je metoda primerna za določanje fumonizinov B1 in B2 v krmi.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- ☐ a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- ☒ b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- ☒ c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- ☐ d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- ☒ e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- ☒ a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- ☐ b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- ☐ c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- ☐ d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- ☐ e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- ☒ f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- ☐ g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- ☐ h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- ☐ i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Z uvedbo in validacijo metode za določanje fumonizinov B1 in B2 je omogočeno izvajanje uradne kontrole, kontrole kvalitete poljedelskih proizvodov in pomoč živinorejcem pri pripravi neoporečne krme ter zbiranje podatkov o onesnaženosti krme s fumonizini v Sloveniji.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Dolgoročni rezultati projekta so nadzor nad neželenimi snovmi v krmi in zmanjšanje onesnaženosti krme s škodljivimi substancami.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- ☒ a) v domačih znanstvenih krogih;
- ☒ b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- ☒ c) pri domačih uporabnikih;
- ☒ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Velik interes za analize, omogočene z vpeljnim postopkom so že pokazale mešalnice krme, poljedelci in živinorejci.

3.7. Število diplomantov, magistrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

/

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

/

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

/

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

Sodelovanje v medlaboratorijski primerjavi, ki jo organizira Referenčni laboratorij Unije za mikotoksine (EC DG JRC IRMM, Geel, Belgija) za validacijo metode, ki je v postopku, da postane uradna metoda Unije za določanje fumonizinov žitaricah, otroški hrani in krmi (2008).

Breda JAKOVAC STRAJN Anton VENGUŠT, Gabrijela TAVČAR KALCHER, Igor UJČIČ, Uroš PESTEVŠEK, Katarina PAVŠIČ VRTAČ: Mikrobiološke in mikotoksikološke preiskave žitaric v Sloveniji. 17. posvetovanje o prehrani domačih živali, "Zadravčevi- Erjavčevi dnevi". Radenci, 13. – 14. november 2008.

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani: <http://www.izum.si/>

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.