

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2014/31



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L4-3641
Naslov projekta	Biotehnološki procesi obdelave lignoceluloznih materialov
Vodja projekta	5248 Franc Pohleven
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	7477
Cenovni razred	D
Trajanje projekta	05.2010 - 04.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	106 Institut "Jožef Stefan" 795 Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo 2316 Javni zavod Republike Slovenije za varstvo kulturne dediščine 2849 INŠTITUT ZA LESARSTVO IN TRAJNOSTNI RAZVOJ, raziskovanje, razvoj, svetovanje in izobraževanje d.o.o.
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	4 BIOTEHNIKA 4.01 Gozdarstvo, lesarstvo in papirništvo 4.01.02 Lesarstvo
Družbeno-ekonomski cilj	13.02 Tehnološke vede - RiR financiran iz drugih virov (ne iz SUF)
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	2 Tehniške in tehnološke vede 2.11 Druge tehniške in tehnološke vede

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V obdobju, ko podnebne spremembe povzročajo vedno bolj neželjene posledice v okolju, življenju ljudi, vplivajo pa tudi že na lokalno in svetovno ekonomijo, postaja trajnostni razvoj vse bolj upoštevana paradigma. Ker so zaradi svojega nastanka (fotosinteza olesenelih rastlin in enoletnic) trajnostni material iz obnovljivih virov, lignocelulozni kompoziti postajajo izredno pomembni in perspektivni. Zaradi možnosti spremembe in celo razgradnje pod vplivom različnih biotskih in abiotskih dejavnikov pa je pred

množično uporabo potrebno njihove pomanjkljivosti odpraviti s postopki, ki niso okolju škodljivi in/ali energetsko zahtevni.

Zato smo v projektu razvili okolju prijazne procese biotehnoško/encimske modifikacije lesa (z uporabo lakaze) - premrežitve in kovalentne vezave funkcionalnih molekul (kemijsko drugačni, netoksični fenoli in naravne učinkovine) na površine lignoceluloznih materialov. S tem smo dosegli ciljne (multi)funkcionalne površinske lastnosti (omakanje, hidrofobnost, protimikrobna aktivnost). Da bi izkoristili glavni prednosti encimov (substratna specifičnost in prostorska selektivnost), smo se v projektu osredotočili na izboljšanje razumevanja kemijske in morfološke strukture lignina na površinah lignoceluloznih materialov; izboljšali smo razumevanje in možnosti vodenja encimske aktivacije in modifikacije lignina v lignoceluloznih materialih; izboljšali smo razumevanje in vodenje encimske aktivacije in polimerizacije kemijsko različnih fenolnih monomerov na aktivirani lignin; ter pridobili nove bakterijske lakaze kot možne (v nekaterih procesnih parametrih boljše) alternative obstoječim glivnim lakazam.

S standardnimi in nestandardnimi metodami, ki so v uporabi v znanosti in tehnologiji vlaken in lesa, smo proučevali delovanje in učinkovitost novorazvitih postopkov za biotehnoško funkcionalizacijo lignoceluloznih materialov. Za molekularno karakterizacijo strukture lignoceluloznih površin, aktivacije lignina in fenolnih monomerov ter modifikacije in polimerizacije z lakazo smo optimizirali in uporabili več spektroskopskih tehnik, kot so fluorescenčna konfokalna mikroskopija (FCM), fluorescenčna mikrospektroskopija (FMS), elektronska paramagnetna resonanca z lovilci spinov (EPR ST), Ramanska in FTIR mikrospektroskopija.

Novopridobljeno znanje in metodologije so že in še bodo prispevali k razvoju večih področij znanosti (lesarstvo, tekstilna in tehnična vlakna, polimerna kemija, biofizika polimerov, biotehnologija). Ker inovativni in okolju prijazni materiali in tehnologije lahko pripomorejo k povečanju dodane vrednosti iz njih narejenih izdelkov, smo poskrbeli za razširjanje rezultatov projekta v znanstveni, strokovni in širši družbeni srenji. Želimo namreč, da bi pridobljeno znanje podjetja izrabila za izdelavo in prodajo takih materialov, kar bi prispevalo k trajnostnemu razvoju lokalne, regionalne in evropske tekstilne in lesne industrije.

ANG

Climate change causes ever more undesirable consequences for the environment, livelihood of people, and economy, therefore the sustainable development is becoming an increasingly valid paradigm. Because of their origin (photosynthesis in plants) as renewable natural materials, lignocellulose-based composites are becoming extremely important and highly perspective. Since they can be altered and even degraded under the influence of different biotic and abiotic factors, these undesirable characteristics have to be ameliorated by environment-friendly and low-energy demanding treatments before these materials can become broadly used.

Therefore this project developed the use of enzymes (laccase) to covalently attach functional molecules of interest to lignin subunits on the lignocellulosic surfaces (enzymatic/laccase graft-polymerisation of different phenolic molecules). The defined lignocellulose material surface properties were achieved (mainly hydrophobicity and resistance against weathering and pests). To better exploit enzymes' main advantage (substrate specificity and regional selectivity), the project focused on better understanding of lignin surface structure (chemical and morphological) present in lignocellulosic materials; better understanding and the ability to steer enzymatic activation and modification of lignin in lignocellulosic materials were gained; consequently, better understanding and steering of enzymatic activation led to graft polymerization of chemically different phenolic monomers onto activated lignin; and novel bacterial laccases as an (under some process parameters better) alternative to commercially

available fungal laccase were obtained.

Standard and non-standard methods, used in the fibre and wood science and technology, were used to assess the newly developed processes for biotechnological functionalisation of lignocellulosic materials. Several analytical methods (fluorescence confocal microscopy (FCM), fluorescence microspectroscopy (FMS), electron paramagnetic resonance spin trapping (EPR ST), FTIR and Raman spectroscopy) were optimised and used for molecular identification of lignocellulose surface structure, and laccase-utilised lignin and phenolic monomers activation, modification and polymerization.

The acquired knowledge and developed methodologies already have and will continue to contribute to the development of several scientific fields (wood science, fibre science, chemistry and biophysics of polymers, and biotechnology). Since innovative and environment-friendly materials and technologies can bring about an increase in the added value of the products made from them, a special effort was made to disseminate the results within the scientific, professional and broader public communities. The aim of this effort was that the enterprises would use this knowledge to produce this kind of materials and thusly ensure the sustainable development of local, regional, and European textile and wood processing industry.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

Osnovni namen projekta je bil preučiti, razviti in optimirati biotehnološki lakazno-kataliziran postopek funkcionalizacije lignoceluloznih substratov z izbranimi fenolnimi monomeri, z namenom izboljšanja obstoječih in/ali kreiranja novih funkcionalnih lastnosti lignoceluloznih površin ter posledično povečati obseg njihove namembnosti. Predvidevali smo, da bomo preko ustrezne lakazno-katalizirane površinske aktivacije integriranega lignina uspešno kemijsko funkcionalizirali lignocelulozno vlakno z izbranimi in različno substituiranimi fenolnimi molekulami. V ta namen smo:

- Z bazičnimi raziskavami opredelili mehanizem kinetike in termodinamike delovanja (t.j. radikalske/elektronske aktivnosti in oksidacijsko-redukcijske sposobnosti) ter definirali mehanizem delovanja dveh različnih lakaz, komercialno dostopne glivne (Tv5) in izolirane bakterijske (Bs7, UL-BF) lakaze z različnima molekulskima masama in pogojih (pH, T) optimalne aktivnosti, na izbranih netoksičnih fenolnih substratih z različno kemijsko strukturo (t.j. položaju hidroksilne skupine na aromatskem obroču fenolne molekule ter prisotnostjo in položajem metoksi skupin; 2,6-dimetoksifenol (DMF), gvajakol (GUA), galična kislina (GA) in kafeična kislina (CA)) ter strukturno različnih ligninih, predhodno izoliranih iz izbranih lignoceluloznih vlaken (juta, kokos, sisal). Rezultati so potrdili dvakrat višjo katalitično učinkovitost (V_{max}/K_M) Bs7 lakaze pri nevtralnih pogojih (pH 7) na DMP in GUA substratih v primerjavi z glivno lakazo Tv5, s poudarkom na DMP, kjer so vrednosti najvišje. Posledično smo potrdili najvišjo katalitična učinkovitost Bs7 lakaze na ligninu izoliranem iz jutinih vlaken s strukturno prevladujočimi siringilnimi monomeri, molekularno najbližje DMP, ki se je izkazala tudi v povečanju povprečne velikosti ligninskih delcev (ζ -size, kapilarna elektroforeza) in zmanjšanju celokupnega površinskega naboja kot posledica njihove polimerizacije.

- Z bazičnimi raziskavami opredelili oksidacijsko-sposobnost bakterijske lakaze (Bs7) pri aktivaciji (in posledično modifikaciji) površine lignina v kokosovih in jutinih vlaken, ki so je izkazala predvsem v zmanjšanju celokupnega površinskega naboja (ζ -potencial) vlaken po obdelavi, kar nakazuje na spremembe površine ligninskih struktur, nastale zaradi oksidacije in razgradnje lignina oz. njegove ponovne, vendar drugačne, vezave v vlaknu.

- Z aplikativnimi raziskavami opredelili funkcionalne lastnosti lignoceluloznih vlaknih (jete in kokosa) po lakazni obdelavi z izbranimi fenolnimi spojinami pri optimalnih pogojih: v primeru obeh vlaken smo določili močno obarvanje v primeru

funkcionalizacije z DMF in GUA, ki se je izražalo tudi v visoki UV obstojnosti (**AATCC Test Method 169-2009**) ter povečani radikalski inhibiciji (metoda razbarvanja ABTS⁺ kationa), ki je bila bolj izrazita pri jutinih vlaknih. Medtem, ko so neobdelana jutina vlakna izkazala visoko protimikrobno zaščito (>90% inhibicije) na *S. aureus* (G+), se je stopnja inhibicije v primeru *E. Coli* (G-) povečala nad 60% šele po obdelavi z DMF in GUA. Nasprotno neobdelana kokosova vlakna niso pokazala pričakovanega protimikrobnega učinka, kljub visokemu deležu lignina, se je protimikroben učinek (>60% inhibicije) na *E. Coli* (G-) pokazal po obdelavi z GA in GUA ter na *S. aureus* (G+) po obdelavi z DMP in GUA. Zaradi omejitev pri določanju ognjevarnih lastnosti vlaken smo s termogravimetrično (TGA) analizo posredno nakazali na izboljšano temperaturno obstojnost obeh tipov vlaken, izraženo preko premika temperaturnega maksimuma razgradnje hemiceluloze (od ~276 °C na do ~305 °C (DMP)) in celuloze (od ~340 °C na do ~357-378 (GA, GUA).

Z molekularnimi metodami smo preiskovali zbirko izolatov *Bacillus subtilis*, ki je na voljo pri partnerju BF. S pomočjo verjetnostnih modelov genov za lakaze (ang. *Profile Hidden-Markov models*) smo v genomih petih sevov *Bacillus subtilis*, ki so sedaj v fazi sekvenciranja, našli zelene gene ter jih uporabili za pripravo novih začetnih oligonukleotidov za pomnoževanje kratkih fragmentov ali celotnih genov. To je omogočilo nadaljnji razvoj metod, ki temeljijo na verižni reakciji s polimerazo. Kot prvi smo tako priredili gelsko elektroforezo v gradientu denaturanta (ang. *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*, DGGE) za raziskovanje genov za lakaze v bakterijah rodu *Bacillus* in s to metodo pokazali, da je raznolikost genov tudi med ozko sorodnimi vrstami velika. Na podlagi GC vsebnosti smo tako identificirali 4 skupine genov; ob analizi DNA zaporedij se je izkazalo, da se razlike med nukleotidnimi zapisi za različne gene po večini zabrišejo na aminokislinskem nivoju. Dve lakazi iz različnih skupin smo izrazili, vendar so encimski testi pH in temperaturnega optimuma pokazali, da med njima ni razlik.

Verjetnostni modeli lakaznih genov (profile HMM) so dobro bioinformatično orodje, kar smo pokazali z obsežno študijo bakterijskih genomov, ki so dostopni v javnih bazah podatkov (Ausec in sod., 2011). Identificirali smo preko 1200 potencialnih genov za lakaze in pokazali, da imajo nekatere bakterije več takih genov (do deset različnih genov) in da so ti prisotni tudi v nekaterih ekstremofilnih bakterijah, ki živijo v pogojih visoke slanosti in pri visokih pH vrednostih. Z bioinformatičnimi metodami smo pokazali, da ti organizmi izločajo domnevne encimske produkte v okolje, zato pričakujemo, da bodo lakaze iz teh organizmov robustne in zelo primerne za biotehnoško uporabo. Ta baza je služi kot odlična podlaga za biorudarjenje novih encimov.

Razvili smo set oligonukleotidnih začetnikov, s katerimi smo iz seva *Bacillus subtilis* PS209 pomnožili DNA kodirajoče zaporedje za lakazo. Pomnožek smo klonirali v plazmid pHistag, ki doda proteinu histidinski označevalec na N-terminalnem koncu. Plazmid smo namnožili v sevu *E. coli* DH5 α , heterologna ekspresija lakaze je potekala v sevu *E. coli* BL21 (DE3)*pLysS*, produkt smo izolirali z afinitetno NiNTA kromatografijo. Lakazo LacPS209 smo tako očistili do zelene stopnje čistosti in jo posredovali partnerjem za nadaljne eksperimente.

Do konca projekta smo izolirali smo še alkalifilno lakazo iz bakterije rodu *Thioalkalivibrio* sp, ki lahko oksidira nekatere fenolne spojine pri pH nad 9. Njena specifična aktivnost pa je relativno nizka v primerjavi z lakazo iz *B. subtilis*, zato z eksperimenti funkcionalizacije lignoceluloznih materialov s to lakazo nismo nadaljevali.

Prisotnost lignina v lesu smo potrdili z valenčnim nihanjem aromatskih obročev (FTIR). S primerjavo absorpcijskih trakov v spektrih nihajne spektroskopije smo določili razliko med iglavci in listavci. Primerjali smo prisotnost in intenziteto trakov, ki predstavljajo nihanje v gvajacilnih in siringilnih enotah lignina. Z Ramansko mikroskopijo smo okarakterizirali

vibracijske trakove listavcev in iglavcev in sicer za ligninski in celulozni del molekul na radialni in tangencialni površini lesa. Ugotovili smo, da lahko razlikujemo med ligninskimi podenotami, ki so prisotne v obeh tipih lesa. V teh podenotah smo ugotovili prisotnost funkcionalnih skupin (aril-OH, aril-O-Me, alifatskih OH), ki so pomembne za nadaljnje raziskave z lakazo katalizirane vezave izbranih fenolnih substratov na funkcionalne skupine lignina.

Lakaze smo uporabili za aktivacijo in modifikacijo površin lesa in učinkovin (QAC, tebukonazol, dodecilamin, oksidirana polipropilenska voska ter propolis), ki smo jih želeli nanje vezati, ter ustvarili bazo okarakteriziranih spektrov FTIR - ATR (Attenuated Total Reflectance) z lakazo obdelanih površin smrekovine in jo uporabili kot orodje za hitro in učinkovito karakterizacijo teh procesov. Uspeli smo zaznati in identificirati delovanje lakaze (spremembe v intenziteti karakterističnih trakov lesa in učinkovin v spektrih FTIR). Metodo smo zato lahko uporabili za primerjavo uspešnosti vezave učinkovin na površino lesa (pred in po izpiranju z vodo in/ali organskimi topili). Vzporedno s temi meritvami smo tudi z Ramansko mikroskopijo uspešno okarakterizirali glavne vibracijske trakove voskov in QAC na površinah lesa. Ugotovili smo tudi, da s to tehniko, zaradi izrazite autofluorescence propolisa, nismo mogli spremljati spremembe površin, obdelanih s kombinacijami propolisa in lakaz.

Pri funkcionalizaciji površin lesa s sintetičnimi in naravnimi učinkovinami smo določili vrstni red in trajanje posameznih korakov (aktivacija površine lesa, aktivacija učinkovine, inkubacije, sušenje, ...), saj ti določajo uspešnost z lakazo katalizirane vezave omenjenih učinkovin na površino smrekovine. To uspešnost smo preverjali s primerjavo spektrov FTIR nefunkcionalizirane površine lesa, ter površin lesa po funkcionalizaciji tako pred kot po rigoroznem izpiranju (SIST EN 84). Površine smo okarakterizirali tudi z merjenjem kontaktnega kota omakanja (hidrofobnost). Izkazalo se je, da smo z lakazno funkcionalizacijo površine smrekovine z naravno učinkovino propolis to učinkovino nanjo učinkovito vezali ter bistveno povečali njeno hidrofobnost (pomemben pokazatelj povečanja odpornosti lesa in s tem spektra uporabnosti). V zaključni fazi projekta smo z izbranimi učinkovinami poskušali funkcionalizirati tudi površine bukovine, vendar se je izkazalo, da funkcionalizacija ni bila tako uspešna kot pri smrekovini.

Preizkušali smo tudi možnost funkcionalizacije lesne površine (smreke) z nanodelci preko koordinacijske vezave na fenole, a nismo mogli dokazati povečanja odpornosti površini proti abraziji. Protimikrobnosti take površine, ki bi izvirala iz fotovzbujenih nanodelcev, pa tudi nismo mogli potrditi, ker je bila uporabljena lesna površina že sama po sebi velik vir radikalov, katerih izvora nismo mogli identificirati.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev²

V skladu z zastavljenimi raziskovalnimi načrti lahko ugotovimo, da smo:

- uspešno identificirali robne pogoje za kontrolo pri EPR spinskem lovljenju (koncentracija Fe in drugih redoks prehodnih kovin, kisika, topnost kisika v vodi);
- izvedli poskuse z dinamičnim slikanjem kratkoživih radikalov in 1D slikanje v raztopinah;
- izboljšali razumevanje kemijske in morfološke strukture lignina, prisotnega v izbranih lignoceluloznih vlaknih (juta, kokos in sisal) na osnovi okarakteriziranja njihove kemijske strukture s ATR-FTIR in XPS spektroskopijo, reaktivnosti površine s potenciometrično titracijo (analiza površinsko dostopnih fenolnih hidroksilnih in karboksilnih skupin) in analizo ζ -potenciala (določanje celokupnega površinskega naboja) v odvisnosti od pH medija;
- s pomočjo sklopa analitičnih metod in tehnik (kapilarna elektroforeza, ciklična voltometrija, UV-Vis spektroskopija, poraba kisika – EPR SL) opredelili kinetiko

- in način radikalske aktivacije/oksidacije izoliranega lignina in izbranih različno substituiranih fenolnih monomerov (2,6-dimetoksifenol, galična kislina, gvajakol) z oksidazo (glivno lakazo) ter okarakterizirali novo-nastale strukture (t.j. oligomere/polimere); na ta način smo izboljšati razumevanje in vodenje encimske aktivacije in modifikacije kompleksnih polifenolnih struktur (lignina) in enostavnih fenolnih molekul (DMF, GA, GUA);
- z obsežno bioinformatiko študijo vseh objavljenih bakterijskih genomov identificirali 1240 novih kandidatnih genov za bakterijske lakaze različnih tipov ter pridobili novo bakterijsko lakazo in opredelili njen oksidacijsko-redukcijski potencial in optimum aktivnosti na vseh izbranih substratih ter jo primerjali z komercialno glivno lakazo; s tem smo izboljšati razumevanje delovanja lakaz različnega izvora;
 - s sklopom analiznih tehnik (FTIR-ATR, CIELAB, TGA) opredelili učinkovitost obeh lakaznih encimov pri funkcionalizaciji lignoceluloznih vlaken (juta, kokos) s izbranimi fenolnimi monomeri in optimalnih pogojev delovanja lakaz;
 - opredelili vpliv funkcionalizacije lignoceluloznih vlaken, v odvisnosti od strukture in dostopnosti lignina ter fenolnih monomerov, na spremembo funkcionalnih lastnosti vlaken; t.j. hidrofobnost, protimikrobna zaščita, ...;
 - s spektroskopijo FTIR in z Ramansko mikroskopijo uspešno ovrednotili sestavo in strukturo ligninskih monomerov v izoliranih ligninskih strukturah, na z lakazo aktiviranih površinah lesa ter interakcije teh površin z različnimi učinkovinami
 - vpeljali uporabo kemometrične statistične metode za obdelavo eksperimentalnih podatkov z namenom ustvariti pregleden sistem za primerjavo delovanja encimov;
 - določili parametre funkcionalizacije površin lesa z lakazo in sintetičnimi ter naravnimi učinkovinami (propolis) ter izbrali metodologijo ugotavljanja uspešnosti vezav teh učinkovin na les - signifikantno izboljšali hidrofobnost površine lesa
 - preizkusili možnost funkcionalizacije lesne površine z nanodelci za doseganje večje trdnosti površine in protimikrobnosti

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

Decembra 2010 je pri naročniku sofinancerju TOM tovarna opreme d.d. prišlo do uvedbe stečajnega postopka ter s tem do razveljavitve Pogodbe št. 280-2010-8 o sofinanciranju in sodelovanju pri izvajanju projekta »Biotehnološki procesi obdelave lignoceluloznih materialov« z dne 30. 04. 2010. Za nemoteno nadaljevanje projekta smo se dogovorili, da delež financiranja projekta, ki ga je nosil TOM tovarna opreme d.d., prevzame ILTRA d.o.o.

V letu 2012 smo se je katastrofalno finančno stanje slovenske lesno-predelovalne panoge, katere podjetja so bila sofinancerji tega projekta še zaostriilo. Zaradi uvedbe prisilne poravnave v podjetju Lesna TIP Otiški Vrh in likvidacije podjetja Javor Pivka d.d. nam je Agencija odobrila zmanjšanje deleža sofinanciranja, z ostalimi podjetji pa smo pri raziskavah poskušali ohraniti sodelovanje, vendar nam večina, zaradi likvidnostnih težav, niso bila zmožna tekoče nakazovati sofinancerskih sredstev.

S podjetji smo bili v neprestanem stiku in iskali možnosti, da se sofinanciranje korektno izvede do konca projekta. V času pogajanj smo čimbolj nemoteno delo na projektu zagotavljali z izkoriščanjem notranjih rezerv vseh projektnih partnerjev, še posebej Inštituta za lesarstvo in trajnostni razvoj d.o.o.

Po izteku projekta, na koncu leta 2013 pa je bil stečajni postopek uveden še za podjetje SVEA d.d. Zagorje ob Savi, zato so v stečajni masi ostala vezana še dodatna, precejšnja sofinancerska sredstva. Zaradi tako signifikantnega izpada finančne realizacije, poleg

tega, da so ta propadla podjetja, oziroma podjetja v velikih težavah tudi solastniki ILTRA (štirje od devetih večjih solastnikov), je tudi ta Inštitut pričel s postopki, ki ga bodo v kratkem pripeljali v likvidacijo.

Kljub vsem nepremostljivim finančnim težavam pa smo z velikim odrekanjem, tudi z veliko količino neplačanega dela uspešno opravili vse s projektom zadane glavne naloge.

Pri Točki 12 v tem obrazcu smo zato navedli le sofinancerje, ki so v času oddaje poročila še ekonomsko aktivni. Zato smo morali v ustrezni rubriki pri vsakem navesti NEPRAVILEN odstotek sofinanciranja projekta (DRUGAČE OBRAZEC NE DOVOLI ODDAJE), vsota sofinanciranja pa je PRAVILNA. Na začetku projekta je bilo dogovorjeno, da vsako od sofinancerskih podjetij sofinancira enak delež projekta. Podjetja, ki so v času do oddaje poročila propadla, oziroma bila prisiljena začeti razne postopke, predvidene v zakonodaji za primer insolventnosti, niso navedena. Prav tako ni naveden znesek ali njihov odstotek sofinanciranja, ki so ga prispevala do začetka teh postopkov.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek		
1.	COBISS ID	3993720
		Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Bioinformatična analiza razkriva veliko raznolikost bakterijskih genov za lakazam podobne encime
	ANG	Bioinformatic analysis reveals high diversity of bacterial genes for laccase-like enzymes
Opis	SLO	Članek objavljen v priznani reviji PLOS one prvič prinaša vpogled v raznolikost genov, ki kodirajo proteine z značilnostmi bakterijskih lakaz. In sicer smo prvi an svetu iskali te gene v 2200 delnih in dokončanih bakterijskih genomih ter štirih metagenomskih podatkovnih bazah s pomočjo modelov, ki smo jih sami razvili (skriti modeli Markova) za iskanje dvo- in trodomenskih lakaz. Našli smo preko 1200 potencialnih genov za te encime, od katerih je 76 % kodiralo signalni peptid – to pomeni, da se ti encimi v naravi izločajo iz citoplazme, kar je v nasprotju s trenutnim prepričanjem. Poleg tega smo opisali nekaj pokazateljev horizontalnega prenosa the genov med bakterijskimi vrstami. Številnih metagenomskih zaporedij lakaznih genov nismo mogli filogenetsko uvrstiti, kar nakazuje veliko novost the genov. Gene za lakaze smo našli tudi v anaerobnih bakterijah, avtotrofnih in alkalofilnih organizmih, kar odpira nove hipoteze o ekoloških vlogah the encimov. Delo je bilo citirano v Google scholar 19 krat.
	ANG	In this work genes for laccase-like enzymes were searched for in over 2,200 complete and draft bacterial genomes and four metagenomic datasets, using the custom profile Hidden Markov Models for two- and three- domain laccases. For the first time more than 1,200 putative genes for laccase-like enzymes belonging to three and two domain laccases were retrieved from chromosomes and plasmids of diverse bacteria. In 76% of the genes, signal peptides were predicted, indicating that these bacterial laccases may be exported from the cytoplasm, which was in contrast with the current belief and therefore a very novel insight. Moreover, several examples of putatively horizontally transferred bacterial laccase genes were described for the first time. Many metagenomic sequences encoding fragments of laccase-like enzymes could not be phylogenetically assigned, indicating considerable novelty. Laccase-like genes were also found in anaerobic bacteria, autotrophs and alkaliphiles, thus opening new hypotheses regarding their ecological functions. The work has been already cited as indicated in Google Scholar 19 times.
		Public Library of Science; PLoS one; 2011; Vol. 6, no. 10; str. 1-9, e25724;

	Objavljeno v	Impact Factor: 4.092; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.096; A': 1; WoS: CU; Avtorji / Authors: Ausec Luka, Zakrzewski Martha, Goesmann Alexander, Schlüter Andreas, Mandić-Mulec Ines	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	3874680	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Dvo in tro domenske lakaze so prisotne v osuševanih šotnih tleh
		ANG	Two- and three-domain bacterial laccase-like genes are present in drained peat soils
	Opis	SLO	To je pionirsko delo objavljeno v najboljši reviji (1/31 na področju pedologije) o diverziteti bakterijskih lakaz v tleh v katerem smo pokazali, da so bakterijske lakaze široko razširjene in bi lahko bile pomembnejše kot glivne lakaze za razgradno fenolnih spojin. Dizajnirali smo tudi nov par oligonukleotidnih začetnikov s katerim smo prvi na svetu uspeli pomnožiti gene za tro kot tudi dvo domenske lakaze iz tal. To kaže, da je naš pristop uporaben za preučevanje bakterijskih lakaz v okolju kot tudi v bakterijskih sevih.
		ANG	This is a pioneering work published in the top journal (1/31 in soil science= on diversity of bacterial laccases in soil, which demonstrates that laccases are widespread in bacteria and may be more important than fungal laccases. A new primer was constructed to retrieve larger fragments of the putative bacterial laccase genes and both "conventional" 3-domain laccases and the recently described 2-domain small laccases were obtained, demonstrating the potential of the primer for discovering laccase-like sequences in bacterial strains and in environmental samples.
	Objavljeno v	Pergamon Press; Soil biology & biochemistry; 2011; Vol. 43, issue 5; str. 975-983; Impact Factor: 3.504; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.44; A": 1; A': 1; WoS: XE; Avtorji / Authors: Ausec Luka, Elsas Jan D., Mandić-Mulec Ines	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	16657686	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Analiza lignina, izoliranega iz lignoceluloznih vlaken in ugotavljanje optimalne oksidacije z lakazo.
		ANG	The analysis of lignin isolated from lignocellulosic fibres and determination of optimal laccase-catalysed oxidation
	Opis	SLO	V prispevku, predstavljenem na mednarodni konferenci, smo pokazali učinkovitost oksidacije različnih ligninskih substratov in fenolnih monomerov ter njihovo polimerizacijo, ki smo jo sledili s spektroskopijama FTIR in XPS, polielektrolitko titracijo in ciklično voltometrijo.
		ANG	In these study lignins from different lignocellulosic fibres (jute, sisal and coconut) were isolated with combined chemical/bio-chemical procedure in order to achieve the highest purity and structure integrity as possible. Enzymatic activation and modification of isolated lignins were further performed using two different types of laccases, i.e. bacterial and fungal origin. In order to determine the differences in lignin structure before and after an enzymatic treatment different spectroscopic methods as ATR-FTIR, UV-VIS and XPS spectroscopy were used. Additionally, average particle size and surface charge of lignins were evaluated using zetasizer.
	Objavljeno v	12th European workshop on Lignocellulosics and Pulp, August 27-30, 2012, Espoo, Finland. Proceedings : EWLP 2012. Espoo: [s. n.]; Proceedings; 2012; Str. 330-333; Avtorji / Authors: Krajnc Helena, Kovač Janez, Mandić-Mulec Ines, Kokol Vanja	
	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	
4.	COBISS ID	16659734	Vir: COBISS.SI

Naslov	SLO	Ocena z lakazo katalizirane oksidacije lignina izoliranega iz lignoceluloznih vlaken.
	ANG	The evaluation of laccase-catalysed oxidation of lignin isolated from lignocellulosic fibres
Opis	SLO	V prispevku, predstavljenem na mednarodni konferenci, smo pokazali učinkovitost oksidacije različnih ligninskih substratov in fenolnih monomerov ter njihovo polimerizacijo, ki smo jo sledili s spektroskopijama FTIR in XPS, polielektrolitko titracijo in ciklično voltometrijo.
	ANG	In these study lignins from different lignocellulosic fibres (jute, sisal and coconut) were used. Different preparation (wax, ethanol/water solubles and pectic substances removal) procedures were used to achieve the best conditions for lignin analysis. Lignin was isolated using modified soda pulping treatment followed by enzymatic hydrolysis to achieve the highest purity and structure integrity as possible. Enzymatic modification of isolated lignins was further performed using two different types of laccases, i.e. bacterial and fungal origin. Differences in lignin structure before and after the enzymatic treatment were evaluated with spectroscopic methods as ATR-FTIR, UV-VIS and XPS spectroscopy. Additionally, average particle size and surface charge of lignins were evaluated.
Objavljeno v		The Sixth European Conference on Wood Modification, Ljubljana, Slovenia, 17-18 September 2012. JONES, Dennis (ur.), et al. Ljubljana: Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology; Proceedings; 2012; Str. 317-320; Avtorji / Authors: Krajnc Helena, Kovač Janez, Mandič-Mulec Ines, Kokol Vanja
Tipologija		1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
5. COBISS ID	2159753	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Razgradnja lindana in endosulfana z glivami ter glivnimi in bakterijskimi lakazami
	ANG	Degradation of lindane and endosulfan by fungi, fungal and bacterial laccases
Opis	SLO	V delu je dovršen del posvečen delovanju lakaze v prisotnosti fenolnim podobnih substanc. V delu so uporabljene kemijske in fizikalne metode za karakterizacijo katalitskega delovanja lakaz ter za opis kinetike in končnih produktov delovanja teh encimov na različne fenolne substance. Poznavanje metod in pridobljeno znanje o delovanju lakaz sta bili potrebni osnovi za uporabo teh encimov pri funkcionalizaciji lignoceluloznih površin.
	ANG	The article is in large part devoted to the laccase activity in the presence of phenolic-like substances. Several chemical and physical methods for the characterisation of the catalytic activity of laccases, and for the description of the kinetics and final products of the action of these enzymes on various lignocellulosic surfaces were used. The knowledge of the analytical methods and the acquired information on laccase function were an essential base for the utilisation of these enzymes for the functionalisation of lignocellulosic surfaces.
Objavljeno v		Rapid Communications of Oxford; World journal of microbiology & biotechnology; 2013; Vol. 29, no. 12; str. 2239-2247; Impact Factor: 1.262; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.864; WoS: DB; Avtorji / Authors: Ulčnik Ajda, Kralj Cigić Irena, Pohleven Franc
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomski dosežek

1.	COBISS ID	14101526	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Lovljenje reaktivnih kisikovih vrst v lignoceluloznih vlaknih	
		<i>ANG</i> Trapping reactive oxygen species in lignocellulose fibers	
	Opis	<i>SLO</i> V prispevku smo pokazali različno kinetiko nastajanja prostih oksidnih radikalov med lakazno-katalizirano oksidacijo lignoceluloznih vlaken (sisal in kokos) z različno vsebnostjo kemično različnega lignina. Kinetiko nastajanje dolgoživih radikalov smo ovrednotili direktno z EPR, medtem ko smo kinetiko kratkoživih radikalov določili s spinsko EPR metodo, kjer smo uporabili DMP tako za lovljenje kot tudi identifikacijo vrste in količine radikalov, ki so nastali zaradi delovanja lakaze ali kot posledica sekundarnih radikalskih reakcij.	
		<i>ANG</i> We demonstrated different kinetics of free oxygen radical production during laccase-catalyzed oxidation of lignocellulose fibers (sisal, coconut) containing different chemical composition of lignin. EPR technique was used to directly detect kinetics of long - living free radical formation; in addition the spin trapping method was used for detection of short-living radical kinetics. DMP was used for trapping and identification of radical species and their quantities formed during laccase activity and other secondary radical reactions.	
	Šifra	B.06	Drugo
	Objavljeno v	A joint Conference of 14th In Vivo EPR Spectroscopy and Imaging & the 11th International EPR Spin Trapping/Spin Labeling, San Juan, Puerto Rico, May 2-6, 2010. EPR 2010 San Juan : abstracts : a joint Conference of 11th in Vivo EPR Spectroscopy and Imaging & 8th International EPR Spin Trapping, Columbus, Ohio, September, 4-8. [S.l.:s. n.]; EPR 2010 San Juan; 2010; 1 str. (P-30); Avtorji / Authors: Krajnc Helena, Kure Sandra, Štrancar Janez, Kokol Vanja	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
2.	COBISS ID	15421462	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Raziskave delovanja lakaze za usmerjeno funkcionalizacijo lignina	
		<i>ANG</i> Inspecting laccase action for tailoring lignin functionalization	
	Opis	<i>SLO</i> V prispevku, ki je bil objavljen kot prispevek vabljenega predavanja prof. J. Štrancarja, smo pokazali strategijo za nadzorovano spremljanje lakazne oksidacije fenolnih substratov, kafeične in galične kisline kot monomerov in komercialnih ligninov kot kompleksnih polimerov, in njihovo polimerizacijo, kismo jo sledili s HPLC-SEC. Prenos elektronov in stabilnih radikalskih intermediatov smo detektirali z CV in EPR spektroskopijo. Oksidacijo mediatorjev smo določili preko stabilnih vodo-topnih nitroksidnih radikalov, medtem, ko smo generiranje kratko-živih radikalov in njihovo kinetiko redukcije merili s spinskim lovilcem DMPO, sposobnim spremembe kratko-živih radikalov v dolgo-žive radikalske DPMO-adukte.	
		<i>ANG</i> This paper, followed invited lecture of prof. J. Štrancar, presents a strategy for inspecting of laccase oxidation of phenol-type substrates, caffeic and gallic acids as monomers and commercial lignins as complex polymers, and their polymerization traced via HPLC-SEC. The transfer of electrons and stable radical intermediates were detected with CV and EPR spectroscopy. The oxidation of mediators was determined via stable water-soluble nitroxide radicals, and the generation of short-lived radicals as well as their reduction kinetics was measured using DMPO as spin-trap converting short-lived radicals into long-lived radical DPMO-adducts.	
	Šifra	B.05	Gostujoči profesor na inštitutu/univerzi
	Objavljeno v	Exorma; Science & technology of biomasses: advances and challenges; 2011; Str. 286-289; Avtorji / Authors: Štrancar Janez, Božič Mojca, Gorgieva Selestina, Mehle Alma, Kokol Vanja	

	Tipologija	1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci	
3.	COBISS ID	4129656	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Bakterijske lakaze
		ANG	Bacterial laccases
	Opis	SLO	Molekularne študije kažejo, da sta raznolikost in struktura bakterijskih lakaz v različnih okoljih zelo različni, a so lakazni geni znotraj vrst ohranjeni (primer <i>Bacillus subtilis</i>). Pregled 2200 bakterijskih genomov (novi verjetnostni model pHMM) je odkril več kot 1200 domnevnih genov za lakaze, pokazali smo njihovo mobilnost znotraj kraljestva bakterij ter širok razpon njihovih verjetnih fizioloških funkcij. Podatki kažejo visoko variabilnost optimalnih vrednosti pH in temperature za njihovo delovanje, zato bakterijske lakaze predstavljajo pomemben vir za prihodnje biotehnoške inovacije.
		ANG	Molecular studies suggest that diversity and composition of bacterial laccases are highly dependent on the environment, but intra-species diversity was rather limited (e.g. <i>Bacillus subtilis</i> strains). 1,200 putative laccases were identified in 2200 draft and completed genomes (custom models pHMM), uncovering their mobility within bacteria and the broad range of laccases' putative physiological functions. The characterization these laccases indicated great variability in their pH and temperature optima suggesting that bacteria represent an underexplored pool of these interesting biocatalysts.
	Šifra	B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci	
	Objavljeno v	ISME-International Society for Microbial Ecology; ISME 14; 2012; str. PS12, 494B; Avtorji / Authors: Ausec Luka, Črnigoj Miha, Pal Levin, Jerman Vesna, Mandič-Mulec Ines	
	Tipologija	1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci	
4.	COBISS ID	771959	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Razgradnja lindana in endosulfana z lesnimi glivami
		ANG	Degradation of lindane and endosulfan with wood-decay fungi
	Opis	SLO	Delo je doktorska disertacija, v kateri je dovršen del posvečen delovanju lakaze v prisotnosti fenolnih in njim podobnih substanc. V delu so uporabljene kemijske in fizikalne metode za karakterizacijo katalitskega delovanja lakaz ter za opis kinetike in končnih produktov delovanja teh encimov na različne fenolne substance. Poznavanje metod in pridobljeno znanje o delovanju lakaz sta bili potrebni osnovi za uporabo teh encimov pri funkcionalizaciji lignoceluloznih površin.
		ANG	The PhD dissertation is in large part devoted to the laccase activity in the presence of phenolic and phenolic-like substances. Several chemical and physical methods for the characterisation of the catalytic activity of laccases, and for the description of the kinetics and final products of the action of these enzymes on various lignocellulosic surfaces were used. The knowledge of the analytical methods and the acquired information on laccase function were an essential base for the utilisation of these enzymes for the functionalisation of lignocellulosic surfaces.
	Šifra	F.03 Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Objavljeno v	[A. Ulčnik]; 2013; XIV, 122 str.; Avtorji / Authors: Ulčnik Ajda	
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija	
5.	COBISS ID	4370040	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Bakterijske lakaze od gena do encima
		ANG	Bacterial laccases from gene to enzyme : doctoral dissertation

Opis	SLO	Delo je doktorska disertacija, ki predstavlja prvo tovrstno raziskavo v Sloveniji in inovacijo tudi v svetovnem smislu, saj so se prehodne raziskave predvsem usmerjale na področje glivnih lakaz. Bakterijske lakaze so oksidoreduktaze, ki sklapljajo oksidacijo fenolnih in drugih snovi z redukcijo kisika do vode. Zanimive so za uporabo v različnih biotehnoloških aplikacijah, najbolj pa so preučene pri glivah, čeprav jih najdemo v vseh živih bitjih. Pričujoče delo se ukvarja z bakterijskimi lakazami, njih pojavnostjo in raznolikostjo pri bakterijah ter s preučevanjem genov za te encime neposredno v naravi. Izbrano okolje so bila izsuševana šotna tla Ljubljanskega barja, ki zaradi pestre mikrobne zdužbe in naravne prisotnosti fenolnih snovi predstavljajo potencialno zanimiv vir novih genov za lakaze. V njih smo z metodo kloniranja in določanja nukleotidnega zaporedja prepoznali več skupin povsem novih genov za lakazam podobne encime. Z bioinformatičnimi analizami sekvenciranih genomov smo ugotovili prisotnost takih genov v vseh bakterijskih deblih ter zbrali več dokazov o njihovi mobilnosti znotraj bakterijske domene. V zadnjem delu smo gen za lakazo iz bakterije <i>Thioalkalivibrio</i> sp. heterologno izrazili, očistili in osnovno biokemijsko opredelili. Novi encim je alkalifilna lakaza, ki lahko oksidira fenolne snovi v bazičnem pH, kar je zanimiva lastnost za potencialno uporabo v biotehnologiji.
	ANG	The Ph.D. thesis is the first one in Slovenia and also among the first worldwide that addresses diversity and function of bacterial laccases. Laccases are oxidoreductases that couple the oxidation of phenolic and other substrates with reduction of oxygen to water. They have been used in a variety of biotechnological applications and have been mostly studied in fungi in spite of having been found in all domains of life. The present work addresses bacterial laccases, their occurrence and diversity within bacteria and aims to uncover these genes in the natural environment. The drained peat soils of the Ljubljana marsh were chosen for this purpose, since they harbor a diverse bacterial community and are naturally enriched in phenolic compounds. Multiple novel groups of genes were identified in this soil using a cloning and sequencing approach. Moreover, bioinformatics analyses of available bacterial sequenced genomes showed that genes for laccase-like enzymes were present in all bacterial phyla. Evidence of the mobility of these genes within bacterial domain is also presented. In the final part of the thesis, heterologous expression, purification and partial biochemical characterization of one selected laccase gene from <i>Thioalkalivibrio</i> sp. is described. The novel enzyme is an alkaliphilic laccase that could oxidize phenolic compounds in alkaline pH and could thus potentially be useful in future biotechnological applications.
Šifra	F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja
Objavljeno v	[L. Ausec];[Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti]; 2014; X, 76 f., [11] f. pril.; Avtorji / Authors: Ausec Luka	
Tipologija	2.08	Doktorska disertacija

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine^Z

Razvoj novih tehnologij, materialov in izdelkov, katerega osnova so rezultati tega projekta, smo vključili v raziskovalni projekt v okviru ciljnega raziskovalnega programa (CRP) »Možnosti za prestrukturiranje slovenske lesne industrije«. V projektu, v katerem so sodelovali Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Gozdarski inštitut Slovenije, ZAVOD LESARSKI GROZD in INŠTITUT ZA LESARSTVO IN TRAJNOSTNI RAZVOJ, raziskovanje, razvoj, svetovanje in izobraževanje d.o.o., so bili rezultati projekta »Biotehnološki procesi obdelave lignoceluloznih materialov« predstavljeni kot ena od možnih smeri prestrukturiranja slovenske lesne industrije.

Novo analize metode in postopki ter tehnologije obdelave materialov, ki smo jih razvili v okviru

tega projekta, smo vključili tudi v nov raziskovalni projekt v okviru 7 Okvirnega programa NMP4-SL-2012-280519-NanoSelect v okviru katerega sodeluje Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo.

NASLOV: Spreminjanje lesnih površin z vezavo nanodelcev preko radikalov

OPIS: Preizkušali smo možnost funkcionalizacije lesne površine smreke z nanodelci preko koordinacijske vezave metaloksidnih nanocevk na polifenole preko fotoaktivacije nanodelcev z UV svetlobo. Fotaktivacija radikalov tako vezanih nanodelcev lahko povzroči njihovo vezavo, vendar je stabilnost in vpliv na trdnost ter protimikrobnost zaradi prevelike hrapavosti lesa zaenkrat še težko dokazati. Tehnološko bi uspešna funkcionalizacija nanodelcev prek radikalskih reakcij vključno z aktivacijo z lakazami lahko pomenila novo tehnološko prednost industrijskih partnerjev zaradi novih lastnosti lesne površine.

9.Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1.Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

Razvoj in optimizacija instrumentalnih metod, ki smo ju uresničili z delom na projektu »L4-3641 – Biotehnološki procesi obdelave lignoceluloznih materialov« pri optimizaciji postopkov za določevanje strukturnih lastnosti lignoceluloznih materialov ter optimizaciji postopkov encimatske aktivacije in polimerizacije izbranih fenolnih monomerov je prinesel nova spoznanja na področju instrumentalne metodologije in zelo povečal možnost uporabe večjih analitičnih metod (elektronska paramagnetna resonanca z lovci spinov (EPR ST) in 1D slikanje v raztopinah, Ramanska in FTIR mikrospektroskopija, ζ-size, kapilarna elektroforeza, ciklična voltometrija) pri raziskavah lignoceluloznih materialov. Še poseben napredek smo dosegli z uspešno sklopitvijo nekaterih metod (kapilarna elektroforeza, ciklična voltometrija, UV-Vis spektroskopija, poraba kisika – EPR SL ter FTIR-ATR, CIELAB, TGA), kar predstavlja novost v svetovnem merilu. Z različnimi tehnikami molekularne biologije in bioinformacijskimi orodji smo pokazali, da so lakaze zelo razširjene ne le v kraljestvu gliv, kot je bilo to že znano, ampak tudi pri bakterijah (identificirali smo preko 1200 potencialnih genov za lakaze, tudi v nekaterih ekstremofilnih bakterijah), ki je novost, ki odpira povsem novo polje pri raziskavah teh encimov. Funkcionalizacija lesne površine smreke z nanodelci preko koordinacijske vezave metaloksidnih nanocevk na polifenole preko fotoaktivacije nanodelcev z UV svetlobo pa je prvi poskus takega postopka s tako kompleksnimi nanodelci.

Tako smo razvili sistem naprednih analitskih orodij za molekularno karakterizacijo strukture lignoceluloznih površin ter aktivacije fenolnih monomerov in njihove polimerizacije (premreženja) z lakazo, ki bo omogočal vrhunske raziskave na področju znanosti in tehnologije lignoceluloznih materialov. Razširili smo poznavanje kemijske in morfološke sestave lignina na površini lignoceluloznih materialov (lignocelulozna vlakna in les), ki je bila do sedaj le slabo raziskana. Še manj je bilo znanega o vplivih na učinkovitost aktivacije fenolnih monomerov z lakazo. V projektu smo premostili to vrzel v znanju, kar bo omogočilo optimizacijo encimske funkcionalizacije lignoceluloznih materialov. Izvirni izsledki raziskav bodo zato pomembno pripomogli k razvoju znanosti oziroma nekaterih strok (lesarstvo, tekstilna in tehnična vlakna, polimerna kemija, biofizika polimerov, biotehnologija). Nekatera nova spoznanja o sestavi materialov in procesih aktivacije monomernih fenolnih spojin, o relevantnem napredku pri razvoju analiznih metod in o novih možnostih za pridobivanje bakterijskih in ne le glivnih lakaz smo objavili v revijah, ki jih citira SCI, ter na referatih na mednarodnih znanstvenih konferencah. Za slovensko javnost, ki nima dostopa do tujih revij, ter za razvoj slovenskega znanstvenega jezika smo pregledni članek predstavili tudi v slovenski znanstveni in strokovni reviji. S tem smo v okviru sofinanciranega projekta tvorno prispevali k razpravi in izmenjavi mnenj v znanstveni skupnosti, kar je prvi pogoj za uspešen razvoj znanosti.

ANG

The development and/or optimisation of the instrumental methods that was carried out in the implementation of the project "L4-3641 – Biotechnological processing of lignocellulosic materials" on the optimisation of characterization procedures for lignocellulosic materials structure determination, and optimisation of procedures to characterise the enzymatic

activation and polymerization of phenolic monomers, brought about new findings in the field of instrumental methodology and significantly enhanced the ability to use several analytical methods (electron paramagnetic resonance spin trapping (EPR ST) and 1D imaging in solutions, FTIR and Raman spectroscopy, ζ -size, capillary electrophoresis, cyclic voltametry) in science of lignocellulosic materials. Furthermore, the coupling of several analytical methods (capillary electrophoresis, cyclic voltametry, UV-Vis spectroscopy, oxygen consumption measurement – EPR ST, and FTIR-ATR, CIELAB, TGA) in unified analytical arrays presented a novelty on global scale. Various molecular biology techniques and bioinformatics tools utilisation has shown that laccases are not widespread only in the fungal kingdom, but also in bacteria (over 1200 potential genes were identified, also in extremophile bacteria), which is a novelty that opened a completely new field in research of these enzymes. Moreover, a novel functionalization of wood surfaces with UV-photoexcited metaloxide nanoparticles via coordination binding to wood polyphenols was the first attempt of a procedure with such complex nanoparticles.

Therefore, a system of advanced analytical tools for molecular characterization of lignocellulose surface structure, lignin and phenolic monomers activation, modification and polymerization using laccase was developed, raising the possibility to perform research in the field of lignocellulose materials science and technology at the highest level. The thus far non-adequate understanding of chemical and morphological lignin structure on the surface of lignocellulosic materials (e.g. lignocellulosic fibres and wood), was expanded. There was even less understanding on the efficiency of lignin and phenolic monomers activation (oxidation) by laccase(s). The work on the project bridged this knowledge gap, allowing for the optimisation of the enzymatic lignocellulosic materials functionalisation. Therefore, the original findings of the project will considerably contribute to the development of science and/or several scientific fields (wood science, fibre science, chemistry of polymers, biophysics of polymers, and biotechnology). Several new discoveries on materials composition, the processes of activation of monomer phenolic compounds, and relevant advance in the development of analytical methods, and of new possibilities of acquisition of non-fungal laccases were published in SCI-cited journals, and presented on international scientific and professional conferences. In order to reach parts of Slovene audience that does not have the access to this literature, and to develop Slovene scientific language, a review article was featured in national scientific and professional journal. With that, the discussion and exchange of ideas within the scientific community, an unavoidable pre-condition for successful development of science, was fruitfully enhanced by the research conducted in the frame of the co-financed project.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Z uspešnim delom pri projektu »L4-3641 – Biotehnoški procesi obdelave lignoceluloznih materialov« smo pripravili odlično podlago za razvoj nove, okolju prijazne tehnologije za izdelavo novih materialov iz obnovljivih virov z bistveno višjo dodano vrednostjo. To bi ekonomsko še aktivnim sofinancerjem tega projekta – preostalim industrijskim partnerjem projekta (GOZD LJUBLJANA d.d., Brest-pohišstvo d.o.o., Kolpa d.d., Metlika, Riko – Hiše, d.o.o.) omogočilo ohranjanje prednosti pred konkurenčnimi podjetji lesnopredelovalne proizvodne verige. V preostalih podjetjih lesnopredelovalnega in pohišvenega sektorja bo to vzbudilo spoznanje, da je navezava na biotehnologijo in njen napredek za njih najbolj naravna pot do ustvarjanja novih materialov z višjo dodano vrednostjo, kar bi imelo zares velik pomen za celotno panogo. Kot okoljsko primerni in visokokvalitetni izdelki bodo encimsko funkcionalizirani lignocelulozni materiali s svojimi izboljšanimi lastnostmi zanimivi tudi kot vzorčni primer za promocijo komercializacije obnovljivih in za pridobivanje ter predelavo energetsko nezahtevnih virov. Rezultati predlaganega projekta bodo tako pripomogli tudi k ohranjanju okolja in naravne dediščine Slovenije. Povečevanje konkurenčne prednosti partnerskih podjetij bo povečalo potencial za ohranitev delovnih mest in uvajanje novih tehnologij. Uspešna izvedba projekta zato predstavlja potencial za proizvodnjo novih izdelkov z visoko dodano vrednostjo in posledično lahko pripomore k odpiranju novih delovnih mest. Rezultati projekta lahko tako pripomorejo k socialni kohezivnosti, ker pa je pridelava in predelava lesa ter lesnih izdelkov izrazito regionalna dejavnost, tudi k enakomernemu regionalnemu razvoju.

Delo na projektu je potekalo v skladu s tematskimi prioritetami Ministrstva za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo ter raziskovalnimi področji Strateškega raziskovalnega programa (SRA)

evropske "Forestry based technology platform" (FTP) in Slovenske gozdno-lesne tehnološke platforme (SGLTP). Rezultati izvedenih raziskav se zato vklaplajo v strategije razvoja na nacionalni in mednarodni ravni, delo in rezultati projekta pa so pripomogli h krepitvi slovenskega in evropskega raziskovalnega področja (ERA). Razvoj in razširjanje namena analitskih metod, odkritja o možnosti pridobivanja novih (dokazano z dvema novima lakazama) tehnološko zanimivih encimov za funkcionalizacijo ter pridobivanje znanja s področja izdelave, karakterizacije in obdelave biotehnološko funkcionaliziranih lignoceluloznih površin v izvedenem projektu, pomeni ohranjanje stika s svetovno znanstveno srenjo, tako na področju lesarstva, kot tudi na področjih, kjer delujejo drugi raziskovalci projektne skupine.

Predstavitev rezultatov, tudi s sprotnim vključevanjem v pedagoške procese na področju lesarstva in tekstilnih materialov (vključitev snovi v predavanja in vaje, vključevanje diplomantov, ki so pričeli izvajati raziskave s področja programa projekta), je imel projekt pomemben prispevek k prizadevanju k transformaciji in dojetanju lesarstva in tekstilstva iz panog, za kateri je značilna uporaba manj zahtevnih tehnologij, k visokotehnološko usmerjeni dejavnosti, ki prinaša visoko dodano vrednost. Z uspešnim zagovorom disertacij več doktorandov (tudi mladih raziskovalcev), ki so bili vključeni v delo projektne skupine, smo pripomogli k njihovem razvoju v vrhunske znanstvenike in strokovnjake v svetovnem merilu.

ANG

A successful effort of this project provided an excellent foundation for the development of a new, environmentally sound technology for the production of new, renewable materials with a significantly higher added value. That would give the economically still viable industrial partners – remaining beneficiaries (GOZD LJUBLJANA d.d., Brest-pohišstvo d.o.o., Kolpa d.d., Metlika, Riko – Hiše, d.o.o.) a possibility to keep competitive edge over the competition in the forest products-based production chain. That will bring about the revelation within the wood processing and furniture sector that establishing a strong and vibrant connection to biotechnology and its advances is their most natural way to create materials with a higher added value, which would have a very profound impact on the whole sector. As environmentally sound and high-quality products, the enzymatically functionalised lignocellulosic materials, overcoming the shortcomings of the original material, would be a very good promotion opportunity for the commercialisation of renewable and not energy-demanding resources. The outcome of the proposed project will thusly contribute to Slovenia's environment and natural heritage conservation. The increase in competitive advantage of the beneficiaries will increase the potential for job retention and/or growth. The introduction of new technologies and the manufacture of new products, whose possibility of existence was brought about by successful completion of this project, created a potential for new employments with a high added value. The results of the project can therefore contribute to social cohesion and since wood production and manipulation are predominantly regional activities, also to balanced regional development.

The work on the project was conducted in accordance with general priorities of the Ministry of Higher Education, Science and Technology, and in agreement with the Strategic Research Agenda's (SRA) of European "Forest-Based Technology Platform" (FTP) and the Slovene "Forest-Based Technology Platform" (SFTP). The results of performed research are therefore well embedded within development strategies of the national and European research area (ERA), and the conducted work contributed to its strengthening. The development of analytical methods, the discovery of the potential for biomining of new (proven by isolation and characterisation of two new laccases) functionalising enzymes, and the accumulation of knowledge in the production, characterisation, and manipulation of biotechnologically functionalised lignocellulosic surfaces throughout the duration of the project's realisation represent the most favourable means of keeping in touch with the world's scientific community – in wood science, as well as in the fields in which other researchers of the project consortium are active.

With the presentation of the results, including but not limited to the incorporation in the education processes in wood science and technology, and textile materials and design (course lectures and practices, as well as hands on research work of the candidates for bachelor theses), the project has had an important contribution to the shift in the popular image of wood science and technology, and natural fibre science and technology from a field characteristic for utilisation of low-tech technologies to high-tech activity which generates high added value. With successful defence of their theses, several graduate school students (also Young Researchers

Programme members) who were included in the project group begun their gradual development into top-tier scientists and professionals on the international level.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri 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	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen bo v naslednjih 3 letih
	Uporaba rezultatov	Ni uporabljen
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.09 Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10 Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11 Razvoj nove storitve		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12 Izboljšanje obstoječe storitve		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13 Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14 Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15 Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16 Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	Dosežen <input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	V celoti <input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljaljskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26 Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27 Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine		
	Zastavljen cilj	<input checked="" type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text" value="Dosežen"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text" value="Ni uporabljen"/>
F.28 Priprava/organizacija razstave		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29 Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30 Strokovna ocena stanja		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31 Razvoj standardov		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32 Mednarodni patent		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33 Patent v Sloveniji		
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34 Svetovalna dejavnost		

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

11.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01.	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
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	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva					
G.09.	Drugo:					

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer		
1.	Naziv	BREST POHIŠTVO d.o.o. Cerknica	
	Naslov	Cesta 4. maja 18, 1380 Cerknica	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	12.534,55	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	7	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The analysis of lignin isolated from lignocellulosic fibres and determination of optimal laccase-catalysed oxidation. [COBISS.SI-ID 16657686]	B.03
	2.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The evaluation of laccase-catalysed oxidation of lignin isolated from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 16659734]	B.03
	3.	Štrancar J. Spreminjanje lesnih površin z vezavo nanodelcev preko radikalov	F.02
	4.	AUSEC L., ČRNIGOJ M., PAL L., JERMAN V., MANDIĆ-MULEC I. Bacterial laccases: from	B.03

		bioinformatics to function. [COBISS.SI-ID 4129656]	
	5.	KRAJNC, H., KOKOL, V. The comparison of fungal and bacterial laccase ability to oxidise different lignin model compounds and isolated lignins from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 17248790]	B.03
Komentar		<p>Ob zaključku projekta "Biotehnoški procesi obdelave lignoceluloznih materialov" (L4-3641) so raziskovalci pripravili več realnejših vzorcev funkcionaliziranih lignoceluloznih vlaken in površin lesa. Pri tem so uporabili poznavanje reakcij lakaze s temi lignoceluloznimi površinami ter izbranimi modelnimi fenoli in/ali biocidi ter naravnimi substancami (propolis). Raziskali so vlogo koncentracije kisika in dinamiko spreminjanja teh koncentracij na delovanje lakaze ter vpliv tega delovanja na modelne vzorce lignina. Za spremljanje teh lastnosti in procesov so oblikovali ustrezen nabor analiznih tehnik in jih priredili za potrebe projekta.</p> <p>Les, ki mu lahko funkcionalne lastnosti preoblikujemo z uporabo encimov in različnih kombinacij funkcionalnih molekul ter načinov obdelave, bi lahko postal material z višjo dodano vrednostjo. V projektu so raziskovalci izpopolnili razumevanje vodenja teh reakcij ter razvili in karakterizirali več kombinacij lesa in funkcionalizacijskih učinkovin. Zato bomo lahko v podjetju opravili tržno raziskavo in analizirali ekonomsko upravičenost morebitnega razvoja tehnologije za izdelavo takih materialov (slednje ni namen tega projekta, saj je razvoj nove tehnologije ali materiala na mnogo višji ravni tehnološke zahtevnosti).</p>	
Ocena		<p>V našem podjetju bi lahko s pridom izrabili nove materiale, ki bi jih lahko na osnovi rezultatov tega projekta razvili v drugih podjetjih, partnerjih pri tem projektu (novi »bio-kompoziti« (zmanjšanje vplivov na okolje – tržna prednost (ogljčni odtis!), prilagajanje zakonskim določilom s področja varovanja okolja)). Žal so podjetja, ki bi bila najprimernejši partner takega tipa, med trajanjem projekta propadla, oziroma bila prisiljena opustiti raziskovalno dejavnost.</p> <p>Zato bomo morali v našem podjetju na podlagi izsledkov tega projekta temeljito premisliti, če bi morda sami nadaljevali z razvojem postopka za bio-lepljenje furnirja na lesene podlage in/ali svoji proizvodnji (ter oblikovanju in prodaji) prilagojene postopke za encimsko obdelavo masivnega lesa in/ali furnirja (vodoodpornost, večja UV stabilnost, antimikrobnost, zmanjšana gorljivost, ...). Priložnost za to imamo v svojem Centru za regeneracijo in reciklažo Cerknica</p> <p>Radi bi izpostavili tudi, da smo podjetja sofinancerji v povezavi z inštitucijami znanja, tudi zaradi uspešnega dela na tem projektu, postali še bolj prepoznavni na predvsem evropskem, pa tudi svetovnem raziskovalno razvojno inovacijskem zemljevidu. Zelo pomembna posledica tega je, da so nas evropski partnerji nekajkrat povabili k sodelovanju pri pripravah prijav na projekte iz iztekajočega se sedmega okvirnega programa EU ter drugih virov financiranja (WoodWisdom Net ERA-Net, program Interreg, ...).</p>	
2.	Naziv	GOZD LJUBLJANA d.d.	
	Naslov	Tržaška cesta 2, 1000 Ljubljana	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	12.534,55	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	7	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra	
	1.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIČ-MULEC, I., KOKOL, V.. The analysis of lignin isolated from lignocellulosic fibres and determination of optimal laccase-catalysed oxidation. [COBISS.SI-ID 16657686]	B.03

	2.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The evaluation of laccase-catalysed oxidation of lignin isolated from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 16659734]	B.03
	3.	Štrancar J. Spreminjanje lesnih površin z vezavo nanodelcev preko radikalov	F.02
	4.	AUSEC L., ČRNIGOJ M., PAL L., JERMAN V., MANDIC-MULEC I. Bacterial laccases: from bioinformatics to function. [COBISS.SI-ID 4129656]	B.03
	5.	KRAJNC, H., KOKOL, V. The comparison of fungal and bacterial laccase ability to oxidise different lignin model compounds and isolated lignins from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 17248790]	B.03
Komentar		<p>Ocenjujemo, da je delo na projektu L4-3641 "Biotehnoški procesi obdelave lignoceluloznih materialov" potekalo v okviru načrta dela. Raziskovalci so na začetku projekta z bazičnimi raziskavami pripravili osnovo, ki so jo v nadaljevanju nadgradili z razumevanjem reakcij lakaze z lignoceluloznimi vlakni materiali in fenolnimi monomeri ter biocidnimi in vodooodbojnimi učinkovinami. Te reakcije uporabili za vezavo sintetičnih in naravnih učinkovin na lignin vsebujoča vlakna in les in pripravili serijo vzorcev funkcionaliziranih lignoceluloznih vlaken in površin lesa. Z novorazvitimi tehnikami so bolje kot do sedaj opisali kompleksne strukture lignoceluloznih materialov in procese njihove funkcionalizacije. Spodbudne so tudi ocene novorazvitih materialov v smislu izboljšanja vodooodbojnosti (pomemben dejavnik pri povečanju trajnosti lignoceluloznih materialov). Do končanja projekta so še razširili znanja s področja vodenja reakcij funkcionalizacije ter pripravili in ovrednotili večje število vzorcev funkcionaliziranih vlaken ter površin lesa. S tem so pripravili dobro osnovo za morebiten nadaljnji razvoj funkcionaliziranih lignoceluloznih površin, ki bi jo sodelujoča podjetja nedvomno lahko izkoristila za tehnološki razvoj v material z bistveno višjo dodano vrednostjo.</p>	
Ocena		<p>V podjetju GOZD Ljubljana d.d ocenjujemo, da rezultati projekta omogočajo potencial za povečano prodajo lesa, saj predvidevamo, da lahko sposobnost encimske funkcionalizacije površin lesa (odpravljanje nekaterih pomanjkljivosti, predvsem pa pridobitev novih tržno zanimivih lastnosti) spodbudi nakup te surovine zaradi večje konkurenčnosti izdelkov ter s tem povezane prodaje in proizvodnje. Zaradi spoznanj tega projekta bi se lahko pospešila prodaja predvsem do sedaj slabše prodajanih lesnih vrst (predvsem bukovina), kar je v neposrednem ekonomskem interesu sofinancerja GOZD Ljubljana d.d.</p> <p>Žal so zaradi zaostrenih gospodarskih razmer propadla (ali pa so v raznih insolvenčnih postopkih) ravno podjetja, ki so bila projektni partnerji – sofinancerji, ki bi lahko najbolj izkoristila rezultate tega projekta (za izdelavo furnirja in vezanih plošč z novimi lastnostmi).</p> <p>Zaradi sodelovanja pri tem projektu smo s strani dveh evropskih raziskovalno-razvojnih konzorcijev pridobili tudi povabilo k udeležbi pri prijavi projektov na razpisih sedmega okvirnega programa EU ter WoodWisdom Net ERA-Net. Zato ocenjujemo, da smo tudi zaradi uspešnega dela na tem projektu, postali prepoznavni v evropskem raziskovalno razvojnem prostoru.</p>	
3.	Naziv	KOLPA d.d. Metlika	
	Naslov	Rosalnice 5, 8330 Metlika	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	12.534,55	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	7	%

Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
1.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The analysis of lignin isolated from lignocellulosic fibres and determination of optimal laccase-catalysed oxidation. [COBISS.SI-ID 16657686]	B.03
2.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The evaluation of laccase-catalysed oxidation of lignin isolated from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 16659734]	B.03
3.	Štrancar J. Spreminjanje lesnih površin z vezavo nanodelcev preko radikalov	F.02
4.	AUSEC L., ČRNIGOJ M., PAL L., JERMAN V., MANDIĆ-MULEC I. Bacterial laccases: from bioinformatics to function. [COBISS.SI-ID 4129656]	B.03
5.	KRAJNC, H., KOKOL, V. The comparison of fungal and bacterial laccase ability to oxidise different lignin model compounds and isolated lignins from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 17248790]	B.03
Komentar	<p>Glede na vsebinski in časovni načrt dela na projektu Biotehnološki procesi obdelave lignoceluloznih materialov je to potekalo v okviru predvidevanj. V prvem delu projekta so raziskovalci z izvedenimi poskusi uspešno potrdili primernost izbora analiznih tehnik, ter jih optimizirali za razumevanje in določevanje kompleksne strukture lignoceluloznih materialov. Tudi osnove poznavanja reakcij lakaze z lignoceluloznimi vlakni in površinami lesa ter fenolnimi monomeri in drugimi učinkovinami, ki jih želimo nanje vezati (vosek, propolis, idr.) v procesu funkcionalizacije, ter razvoj in prilagajanje metod za opazovanje teh pojavov so v raziskovalnih skupinah pridobili že v prvih dveh letih izvajanja projekta. Proti koncu projekta pa so te reakcije uporabili za pripravo dejanskih vzorcev funkcionaliziranih lignoceluloznih vlaken in površin lesa. Na podlagi rezultatov karakterizacije lastnosti teh vzorcev bomo lahko ocenili, kateri postopek bi lahko nadalje tehnološko razvili, da bi res pridobili material z bistveno višjo dodano vrednostjo (lignocelulozna vlakna in/ali les z encimsko funkcionaliziranimi površinami). Seveda bo ekonomsko upravičenost proizvodnje takega materiala pokazala šele temeljita tržna analiza morebitnega razvoja tehnologije za izdelavo takih materialov.</p>	
Ocena	<p>Razvoj postopkov za obdelavo lesa in lesnih kompozitov, temelječ na izsledkih tega projekta, je zelo zanimiv tudi za podjetje Kolpa d.d., Metlika. Doseganje lastnosti kot sta antimikrobnost in vodoodbojnost bi bili za naše podjetje, ki je proizvajalec kopalnic, zelo zaželeni lastnosti, predvsem za obdelavo površin, ki prihajajo v stik z vodo in toploto. Uporaba novih, biotehnološko funkcionaliziranih materialov (in posledično zmanjšanje uporabe umetnih, na surovinah fosilnega izvora temelječih materialov) bi zmanjšalo vplive naših izdelkov na okolje. To je že danes tržna prednost, olajšalo pa bi nam tudi prilagajanje zakonskim določilom s področja varovanja okolja, ki jih pričakujemo v prihodnosti. Lahko bi izrabili tudi nove materiale, ki bi jih na osnovi rezultatov tega projekta razvili v drugih podjetjih, partnerjih pri tem projektu. Vsekakor bomo ostali v stiku s tistimi, ki so še ekonomsko in razvojno aktivna in sproti ocenjevali tehnološke in tržne možnosti za razvoj biotehnološko funkcionaliziranih materialov v končne produkte.</p>	
4.	Naziv	RIKO – HIŠE, d.o.o.
	Naslov	Bizjanova 2, 1000 Ljubljana
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	12.534,55 EUR

Odstotek od utemeljenih stroškov projekta: 7		%
Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
1.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The analysis of lignin isolated from lignocellulosic fibres and determination of optimal laccase-catalysed oxidation. [COBISS.SI-ID 16657686]	B.03
2.	KRAJNC H., KOVAČ J., MANDIĆ-MULEC, I., KOKOL, V.. The evaluation of laccase-catalysed oxidation of lignin isolated from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 16659734]	B.03
3.	Štrancar J. Spreminjanje lesnih površin z vezavo nanodelcev preko radikalov	F.02
4.	AUSEC L., ČRNIGOJ M., PAL L., JERMAN V., MANDIĆ-MULEC I. Bacterial laccases: from bioinformatics to function. [COBISS.SI-ID 4129656]	B.03
5.	KRAJNC, H., KOKOL, V. The comparison of fungal and bacterial laccase ability to oxidise different lignin model compounds and isolated lignins from lignocellulosic fibres. [COBISS.SI-ID 17248790]	B.03
Komentar	<p>Ob koncu projekta "Biotehnoški procesi obdelave lignoceluloznih materialov" (L4-3641) so raziskovalci pripravili več realnejših vzorcev funkcionaliziranih lignoceluloznih vlaken in površin lesa. Pri tem so uporabili poznavanje reakcij lakaze s temi lignoceluloznimi površinami ter izbranimi modelnimi fenoli in/ali biocidi ter naravnimi substancami (propolis). Raziskali so vlogo koncentracije kisika in dinamiko spreminjanja teh koncentracij na delovanje lakaze ter vpliv tega delovanja na modelne vzorce lignina. Za spremljanje teh lastnosti in procesov so oblikovali ustrezen nabor analiznih tehnik in jih priredili za potrebe projekta.</p> <p>Les, ki mu lahko funkcionalne lastnosti preoblikujemo z uporabo encimov in različnih kombinacij funkcionalnih molekul ter načinov obdelave, bi lahko postal material z višjo dodano vrednostjo. V projektu so raziskovalci izpopolnili razumevanje vodenja teh reakcij ter razvili in karakterizirali več kombinacij lesa in funkcionalizacijskih učinkovin. Zato bomo lahko v podjetju opravili tržno raziskavo in analizirali ekonomsko upravičenost morebitnega razvoja tehnologije za izdelavo takih materialov (slednje ni namen tega projekta, saj je razvoj nove tehnologije ali materiala na mnogo višji ravni tehnološke zahtevnosti).</p>	
Ocena	<p>Podjetje RIKO – HIŠE, d.o.o. bo ocenilo možnost izrabe novih materialov, ki bi jih lahko na osnovi rezultatov tega projekta razvili v drugih podjetjih, partnerjih pri tem projektu. Uporaba biotehnoško funkcionaliziranih materialov bi zmanjšala vpliv proizvodnje našega podjetja na okolje (ogljčni odtis, ...), kar je že v današnjih razmerah, še bolj pa v prihodnosti konkurenčna prednost, omogočilo pa bi tudi prilagajanje zakonskim določilom s področja varovanja okolja. Prav tako bi se lahko v našem podjetju na podlagi izsledkov tega projekta odločili za samostojen razvoj postopka za encimsko obdelavo masivnega lesa v svoji proizvodnji ter temu prilagodili procese pri oblikovanju in prodajnih aktivnostih. Antimikrobnost in vodoodbojnost so za materiale, ki jih uporabljamo v našem podjetju (proizvajalec montažnih hiš) zelo zaželeni lastnosti, predvsem za obdelavo notranjih in zunanjih površin hiš.</p> <p>V našem podjetju smo tudi zelo zadovoljni, da so nas evropski partnerji, skupaj z enim od projektnih partnerjev projekta L4-3641, povabili k sodelovanju pri pripravi prijave na razpis WoodWisdom Era-Net. Kot dolgoročno razvojno naravnanim podjetju nam vklapljanje v nacionalne, še bolj pa v evropske raziskovalne, razvojne in inovacijske tokove pomeni</p>	

	edino alternativo za srednje- in dolgoročno vzdrževanje in povečevanje konkurenčnosti na svetovnem trgu.
--	--

13. Izjemni dosežek v letu 2013¹²

13.1. Izjemni znanstveni dosežek

--

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

--

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 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:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Biotehniška
fakulteta

Franc Pohleven

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	15.4.2014
-----------	-----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/31

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

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

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). 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 / prepisite 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](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.03

A4-7B-7A-C8-05-3C-A9-1E-9A-E4-EC-40-62-01-34-E1-71-23-CE-EF