

АВТОРСКА СПРАВКА ЗА ПРИНОСНИЯ ХАРАКТЕР НА ТРУДОВЕТЕ
на д-р Вероника Валентинова Михайлова

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“
(професионално направление 4.2. Химически науки (Аналитична химия)), обявен в ДВ, бр.
104 от 15.12.2023 г.

Кандидатът е съавтор на 27 научни публикации, от които 26 са в списания, реферирани и индексирани в световните бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus; 9 публикации – Q1; 6 публикации – Q2; 7 публикации – Q3; 4 публикации – Q4) и 1 публикация в българско списание без импакт фактор и импакт ранг. В конкурса за доцент, кандидатът участва с 21 научни публикации. Към момента на подаване на документите за участие в конкурса са забелязани 92 цитата (реферирани и индексирани в Scopus и Web of Science), h факторът е 6. Научните резултати са представени в общо 26 устни доклади и постерни съобщения на национални и международни форуми.

Научноизследователската работа може да бъде обобщена в четири основни направления:

1. Развитие и приложение на масспектрометрията с индуктивно свързана плазма за определяне на елементния състав на проби от околната среда (води, седименти, растения и почви);
2. Оценка на влиянието на пречиствателните станции върху прилежащите водни тела и определяне на органични замърсители във води;
3. Археометрични изследвания с масспектрални и рентгенови методи;
4. Развитие и приложение на масспектрометрията с индуктивно свързана плазма при анализ на противоракови платинови комплекси.

Номерацията на публикациите, коментирани по-долу следва реда от списък 10В с научните трудове на кандидата. Авторската справка за приносите е базирана само на научните публикации, включени в конкурса за доцент.

1. Развитие и приложение на маспектрометрията с индуктивно свързана плазма за определяне на елементния състав на проби от околната среда

Определянето на елементния състав на различни природни матрици е свързано с количествен анализ на голям брой елементи в различни концентрационни нива. За разлика от микро- и следовите елементи, които попадат в линейния динамичен обхват на инструменталното измерване с ICP-MS, при определянето на макроелементите, които най-често са Na, K, Ca, Mg, Rb, Sr, Ba, Fe и др., има известни трудности. Освен, че присъстват във високи концентрации, те се характеризират с нисък първи йонизационен потенциал, лесно се йонизират и количественото им определяне изисква многократно разреждане на пробите, което може да доведе до загуба на информация за следовите елементи. Тези ограничения изискват двукратно измерване на пробите- веднъж за определяне на макроелементния състав и веднъж за микроелементния и следови състав, което е свързано с допълнителен разход на консумативи и време.

В публикация **B1** са определени концентрационните интервали на матричните за води Na, K, Ca, Mg и Si при стандартни условия, при което са установени ограничени концентрационни интервали за тези елементи от 0.01 µg/L до максимум 1000 µg/L. Това налага оптимизиране на RPa—коэффициент за редукия на аналитичните сигнали. Оптимизацията е направена с помощта на стандартни разтвори на Na, K, Ca, Mg и Si в диапазона 0,1–200 mg/L за всеки от избраните изотопи. Данните доказват, че увеличаването на стойността на RPa параметъра води до по-широки линейни обхвати до 200 mg/L. Изборът на стойността на RPa обаче е направен като компромис между очакваната концентрация на елемента във водните проби, степента на намаляване на сигнала и съответната граница на откриване (LOD). Избраната стойност на RPa за ^{23}Na е 0.017V, което води до по-висока LOD, отколкото при RPa 0.016V, но намалява сигнала повече от два пъти и позволява постигането на по-широк линейен интервал. Най-подходящите експериментално установени във водни проби стойности на RPa коефициентите на отделните изотопи за определянето на съответните макроелементи са както следва: ^{39}K (0.017), $^{42,43}\text{Ca}$ (0.013), ^{44}Ca (0.015), ^{24}Mg (0.015), $^{25,26}\text{Mg}$ (0.014) и ^{28}Si (0.015), $^{29,30}\text{Si}$ (0.012).

С помощта на направените оптимизации на RPa—коэффициентите за Na, K, Ca, Mg и Si е направено най-мащабното за България изследване за охарактеризиране на елементния състав на бутилирани минерални **[B2]** и изворни води **[B4]**. И в двата научни труда е определен химичният състав на българските марки бутилирани води, определяйки 69 елемента в различни концентрационни нива. Получените данни за анализирания елементите са под максимално допустимите концентрации за България (Наредба 9, 2001), WHO и EPA, с изключение на Fe, As, Hg и Na в единични води. Анализирани са следови елементи като Be, Bi, Tl, REE и т.н, за които до момента не само няма данни за тяхната концентрация в питейни бутилирани води, но и не присъстват в регулаторните наредби. Направеното сравнение на българските води с европейските минерални води в продажба в България и данни от литературата сочи, че установените концентрации са близки до публикуваните европейски средни стойности.

За оценка на качеството на повърхностните води (физикохимични параметри и химични елементи) и на прилежащите седименти (елементи и радионуклиди) на яз. Пчелина и въздействието на антропогенната дейност във времето са пробовзети водни проби и ядки от седиментите в 3 пробовземателни точки (при вливането на р. Струма, при вливането на р. Светля и откъм с. Радибош) на дълбочина от около 100-130 cm под водната повърхност, които са фракционирани на всеки 2 cm и анализирани за съдържание на техногенни радионуклиди

и елементен състав [B5]. За оценка на качеството на анализ и правилния подбор на RPa—коэффициенти за анализ на седименти са използвани сертифицирани референтни материали (СРМ) на дънни седименти STSD-1 и STSD-3. Установените RPa—коэффициенти, подходящи за коректното определяне на макроелементите са ^{23}Na (0.017), $^{24,25,26}\text{Mg}$ (0.015/0.014/0.014), ^{27}Al (0.014), ^{31}P (0.014), ^{39}K (0.017), $^{42,43,44}\text{Ca}$ (0.014/0.013/0.015), $^{47,49,50}\text{Ti}$ (0.012/0.012/0.012), ^{55}Mn (0.014) и $^{54,56,57}\text{Fe}$ (0.015/0.016/0.013). На базата на направения елементен анализ е установен значим фактор на обогатяване за яз. Пчелина и то по отношение на елементите Zn и Cd и умерен фактор на обогатяване за Cu, Pb, Se, Tl, U и Th. За повечето елементи индексът на геоаккумуляция съответства на незамърсена проба, с изключение на седиментите от яз. Пчелина при вливането на р. Струма където съответства на незамърсена до умерено замърсена проба по отношение на Fe, Cr, Mo и Sn и на умерено замърсена проба по отношение на Sb и Cd.

Значимите времеви тенденции в седиментните ядки, повлияни от течащите реки, показват, че река Струма е основният източник на потенциално токсични елементи (ПТЕ) за яз. Пчелина. Другият извод е, че характерни за промишлеността в Перник елементи като Cd, Cr, Cu, Pb, U и Zn също повишават своите концентрации, докато Co, Ni и Sn не потвърждават прякото влияние на тежката промишленост. Единствено при седиментните ядки от р. Светля, която може да се причисли към антропогенно неповлияна река, не се наблюдават сериозни флуктуации в концентрацията на ПТЕ. Получените резултати очертават р. Струма като основен антропогенен източник на замърсяване на седиментите от яз. Пчелина, което се демонстрира чрез значително увеличение на Cd, Pb, Zn и U.

Към днешна дата замърсяването на околната среда остава глобален проблем и фокус на научните изследвания. ПТЕ като As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sb, Sn, Zn и т.н. са изключително вредни за хората, което изисква оценка на риска от замърсяване на заобикалящата ни среда с тези елементи, особено в райони с рудодобив. В публикация B6 е изследван района около мина „Цар Асен“, като е използван подходящ биомонитор-*Taraxacum officinale*. Определен е елементният състав на почвените и растителни проби, след подходящо оптимизиране на RPa-коэффициенти за анализа на макроелементите и получените експериментални данни са сравнени със сертифицираните стойности на NIST 1547 и SRM DC 73348 (за растения) и IAEA-Soil-5 и IAEA-Soil-7 (за почви). Определянето на As и Se е постигнато с помощта на динамична реакционна клетка и реакционен газ O_2 . В хода на изследването е установено, че в една от почвените проби с рН — 6,6 съдържанието на Cd надвишава почти три пъти ПДК от 2,5 mg/kg по Наредба № 3 за нормите на допустимо съдържание на вредни вещества в почвите. В същата почвена проба концентрацията на Pb е много близка до максимално допустимата от 130 mg/kg. Очаквано Cu е определен като основна причина за замърсяване на почвата. Установено е, че нивата на Cu са под максимално допустимото ниво (за рН < 6,0) от 80 mg/kg само в две от изследваните места. Във всички останали изследвани проби концентрацията на Cu е значително повишена, варираща от 2 до 16 пъти по-висока и достигаща стойности до 1288 mg/kg. Получените концентрации на Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Sb, Sn и Zn в *Taraxacum officinale* надвишават фоновите нива, характерни за България (A5 от общия списък с публикации). В района на рудник „Цар Асен“ установената концентрация на Cr е два пъти над фоновата. Елементите Co, Cu, Fe, Mn и Zn са три пъти по-високи от фоновите нива. Нивата на концентрация на Sb и Sn са пет пъти по-високи, отколкото във фоновите райони. Най-висока стойност спрямо фоновите концентрации от 0.04 до 0.30 mg/kg има Cd със стойност 5.31 mg/kg. На базата на анализиранияте концентрации на елементите в почвените и растителни проби са определени

коэффициентите на трансфер и акумулиране. До голяма степен поведението на химичните елементи и техния пренос в системата почва/растение зависи от почвените характеристики като рН и катионен обменен капацитет (СЕС). Установеното рН в почвените проби варира от 5.95 до 7.61. Въпреки ограничената площ на мината СЕС на почвените проби варира от 7.1 до 28.1 meq, което означава, че изследваният район включва различни видове почви от пясъкливи до тежки глинести. Това се обяснява с опитите за рекултивиране на района. Определените трансферни фактори (TFs) показваха, че за част от есенциалните елементи Ca, K и P те са по-високи от единица поради тяхната жизнена важност за растителния организъм. Потенциално токсичните елементи с по-високи стойности на TFs се характеризират с елементите Cd и Sn. Струва си да се отбележи, че Cd има по-високи TFs в пясъкливите почви, докато Sn – в глинестите. Изчислените фактори на акумулиране (AF) очертават пет елемента с медиана над 2: Ca, K, Fe, Mg и Mn. Всички тези елементи имат по-високи AF в пясъкливите почви. Потенциално токсичните елементи със значителни AF са Cd и Sb. Те се натрупват в глухарчетата, пробовзети от пясъклива почва.

Преносът на 52 елемента в системата почва/растение от 27 фонови и антропогенно повлияни райони е изследван в публикация **B8**. Анализирани са проби от почви и растения (*Taraxacum officinale*) от фонови планински райони (Родопи, Пирин, Стара планина, Средна гора и Земенска планина) и антропогенно повлияните райони около Кремиковци (черна металургия), Тец Марица Изток 1 и 3 (топлоелектрическа централа), Оловно-цинковия комбинат гр. Кърджали, Комбинат за цветни метали гр. Пловдив, и за оценка на транспортно замърсяване са взети проби от натоварени автомагистрала (Тракия и Струма). За да се установи формата на химичните елементи, а не само тяхната тотална концентрация е проведена последователна екстракционна схема BCR. Повечето от есенциалните елементи се намират главно в лесно достъпната карбонатната фракция: B, Ca, Mg, Mn, Na и Sr. Елементи като Ba, Cd, Co, Ni, Rb, V, Zr – в оксидната фракция, но Cd, Co, Ni и Zr също са установени в близък процент и в органично/сулфидната фракция. Останалите анализирани елементи присъстват основно в органично/сулфидна фракция. Направеният клъстерен и факторен анализ показва зависимостта между TFs и рН на почвата, СЕС и концентрацията на елементите. За повечето елементи TF е непроменен, независимо от вида на почвата и замърсяването. Това потвърждава предположението за линейност и показва, че растителният вид е много важен параметър. Изключение правят елементите Ca, Cu, Zn, както и Cd, които имат по-високи TF при ниски концентрации, докато Cr, Fe и Sn имат по-високи TF при високи концентрации в почвата, което е индикация за нелинеен пренос. Данните от фракционирането на почвите доказва, че в замърсени райони, основните замърсители са по-бидостъпни.

Растенията като живи организми усвояват непрекъснато есенциални и потенциално токсични елементи от околната среда, като всеки растителен вид реагира по различен начин на антропогенните замърсители. При ICP-MS анализ на растителен вид *Clinopodium vulgare L.*, която е пробовзета от 15 области на България и нейният воден извлек, концентрацията на извлечените във водата елементи намалява в реда Ca > K > Mg > Al > Fe > Na > Zn > Mn > B > Sr > Cu > Cr > Ni > Pb > Se > La > Cd **[B7]**. Притеснително е, че кадмият като токсичен елемент има най-висока (до 95% от тоталната концентрация в листата) екстрахируемост във вода, което предполага необходимост от контролиране на концентрацията му в билката. Изследваните растения са събрани от антропогенно неповлияни райони и данните могат да се използват като средни фонови стойности за това растение в България.

В публикация **B10** е сравнена способността на едногодишни- царевица и слънчоглед и многогодишни- ябълка и круша да акумулират ПТЕ- Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb и Zn. Получените стойности на AF показват по-високо натрупване на Pb и Cd в едногодишните растения напр. AF за Cd е 1.9 в ябълката и 70 в слънчогледа, а AF за Pb е 10 при ябълката и 135 при царевицата. Zn е с най-висок AF при крушата-17.4. За значими фактори на акумулиране се приемат стойности, при които $AF > 2$. Сравнението на концентрацията на ПТЕ в различните растителни части (листа от ябълка/плод ябълка, респ. листа от царевица/ зърна от царевица) показва по-слабо натрупване в плодовете и зърното, отколкото в съответните листа, което е индикация за съществуването на механизми, които растението използва, за да се защити от антропогенните замърсители.

Веднъж попаднали в ядливи плодове, зеленчуци и билки ПТЕ могат лесно да попаднат в човешкия организъм. Оралната биодостъпност на елементите Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb и Zn е оценена с помощта на физиологично-базиран тест за екстракция (РВЕТ) и екстракция с пепсин+ HCl и n-октанол [B3]. Анализирани са два сорта ябълки („Breadburn“ и „Golden Delicious“), закупени от търговската мрежа. Концентрацията на ПТЕ са определени с помощта на ICP-MS. Фракцията с n-октанол е предварително изпарена във вакуум изпарител и сухият остатък е разтворен във вода, за да не предизвика дестабилизиране на аргоновата плазма. Процентът на биодостъпност е изчислен като съотношение между концентрацията на елемента в съответната фракция към тоталната му концентрация в ябълката. Според резултатите от тестовете за биодостъпност над 65% от Pb и Ni не се абсорбират в стомашно-чревния тракт. Zn и Cu се абсорбират главно в стомаха, докато Cr и Cd – в червата. Най-висока биодостъпност (около 70%) е установена за Cu, Zn и Cd, като последният заслужава специално внимание, особено в замърсените райони.

Сериозна заплаха за околната среда е производството на твърди битови отпадъци (ТБО), което нараства през последните няколко години. Събирането и обработката на тези огромни количества отпадъци са истинско предизвикателство. Експлоатацията на депата води до производството на инфилтрат – висококонцентрирана органична и богата на азот течност със сложен състав. Инфилтратът от сметищата се образува от инфилтрация на вода, просмукване през отпадъците и различни процеси на биотрансформация, които протичат в депата (аеробна хидролиза и биоразграждане, анаеробна хидролиза и ферментация, ацетогенеза, метаногенеза). Типичният инфилтрат съдържа висока концентрация на органична материя (широк набор от лесни биоразградими и неподатливи съединения), хранителни вещества с преобладаване на амонячен азот, неорганични вещества (потенциално токсични елементи и соли), киселини и хлорирани съединения. В публикация **B17** са разгледани възможностите на активната утайка от общинските пречиствателни станции към биоразграждане на инфилтрат, генериран от сметищата, за да се постигне пълно елиминиране на разградими, неразградими и токсични замърсители. С помощта на ICP-MS са оценени ефективността на абсорбцията и степента на отстраняване на Al, As, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Fe, Hg, K, La, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se, Si, Sn, Sr и Th в хода на моделния процес. Едновременното определяне на всички елементи в пробите е постигнато чрез прилагане на RPA- параметър за макроелементите. За оценката на точността на анализа е използван CRM на отпадъчни води (инфилтрат от сметища — следи от метали LGC6177). Данните показват, че степента на отстраняване варира от 0,4% (за Si) до 77,6% (за Hg) през първия етап и от 0,36% (за Na) до 61% (за Si) във втория етап на експеримента. Според

степената на отстраняване на метала могат да бъдат идентифицирани три групи елементи. Първата група включва елементите Hg, Se, Bi, Sn, Th, Pb, Sr, K, Rb, Mg, Cs, Na, La, Cd и As при които, независимо от първоначалната концентрация на елемента във входящата течност, се постига отстраняване на метала предимно в първия етап в диапазона от 15% до 77,6%. Намалението на концентрацията във втория етап е незначително, особено за макроелементите Na, K и потенциално токсичните елементи As, Pb, Hg и Cd. Сравнението на ефективността на отстраняване на метала в двата етапа показва различна тенденция за елементите Ba, Mn, Ca, Cr, Fe, Sb, Co и Ni, за които бяха установени сравними проценти в двата етапа, вариращи в интервала от 5% до 74%. Голям интерес представляват елементите от трета група (Si, P и Al), при които се наблюдава намаление на концентрациите от 44% до 62% в интервала 18-ти до 21-ви ден. Значителното намаляване на концентрацията на тези елементи в края на експеримента може да се обясни с тяхната абсорбция поради рязкото увеличаване на количеството на активната утайка след 17-ия ден от експеримента. За останалите елементи (Ag, Cu, Mo, Ti, U, V и Zn) не се наблюдава намаляване на концентрациите по време на моделния експеримент.

Главните приноси в това направление са оптимизиране и приложение на ICP-MS метод за едновременното определяне на максимален брой елементи във води, като макроелементите са анализирани с помощта на RPA-параметър на DRC клетка. Проведеното е първото и най-мощно изследване в България, което да охарактеризира химичния състав на българските марки минерални и изворни води. Анализирани са следови елементи, за които до момента не само няма данни за тяхната концентрация в питейни води. Приложена е концепция за концентрационни кадастри на анализирани елементи във води, позволяващи изграждането на т. нар. елементен „отпечатък“ на пробата. Използването на RPA-параметър за определяне на макроелементи е адаптиран и за други природни матрици- седименти, почви, растения. Охарактеризирането на химичния състав на седименти позволи определянето на фактори на обогатяване и индекси на геоаккумуляция. Използваните тестове за екоотоксичност като Phytotoxkit F и статистически подходи (от съавтори) позволи изготвянето на оценка за антропогенното влияние върху натрупването на ПТЕ в седименти. С помощта на ICP-MS е изследвана степената на антропогенно замърсяване в района около мина „Цар Асен“ и отклика на растителния вид *Taraxacum officinale* спрямо замърсяването като са определени есенциални и потенциално токсичните елементи в растителни и почвени проби. Изследван е откликът на различни растителни видове спрямо замърсяването на околната среда и е определена биосувоимостта на потенциално токсичните елементи в човешкия организъм.

Научните изследвания, разгледани в това направление са докладвани на 10 национални и международни конференции. По тематиката на направлението успешно са защитили четирима дипломанта.

2. Оценка на влиянието на пречиствателните станции върху прилежащите водни тела и определяне на органични замърсители във води

Влошаването на качеството на водата е световен проблем. Като една от страните на Европейския съюз (ЕС), България е синхронизирала законодателството си с това на ЕС и поддържа добри практики при оценката на качеството на повърхностните води и ефективността на процесите на пречистване на отпадъчните води.

В публикации (**B12, B14, B15, B19**) към традиционните инструментални изследвания, използвани за мониторинг, са добавени екотоксикологични тестове и хеометрични подходи за оценка на ефективността и въздействието на пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ) върху качеството на повърхностните води. Поради тази причина е проведен екотоксикологичен (Microtox®, Phytotoxkit FTM, Daphtoxkit FTM) и традиционен „химически“ мониторинг (за определяне на рН, електрическа проводимост (ЕС), химически потребен кислород (COD), общо суспендирани твърди вещества (TSS), общ азот (N) и фосфор (P), хлориди (Cl⁻), сулфати (SO₄²⁻), Cr, Co, Cu, Cd, Ba, V, Mn, Fe, Ni, Zn, Se, Pb) на отпадъчните води и приемащите водни тела. За цялостната оценка на влиянието на ПСОВ върху качеството на повърхностните води е използван метода на частично най-малките квадрати с дискриминантен анализ (PLS-DA).

Пробовземането на водните проби в изследването публикувано в B12 (Assessment of the Bulgarian Wastewater Treatment Plants' Impact on the Receiving Water Bodies, B15) е направено в три точки за всяка една от изследваните ПСОВ - преди заустването, на изхода от ПСОВ и след заустването на пречиствателната станция, намиращи се в близост до 21 големи града. Анализирани са 20 химични и физикохимични показатели за качество на водите – рН, електропроводимост, химически потребен кислород, неразтворени вещества, общ N и P, хлориди (Cl⁻), сулфати (SO₄²⁻), Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V и Zn. Проведени са 3 екотоксикологични теста – Microtox®, Daphtoxkit FTM и Phytotoxkit FTM, което доведе до получаване на резултати за 8 биоиндикатора – относително намаляване на покълването на семената и растежа на корените на *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, инхибиране на интензитета на биолуминисценция на *Vibrio fischeri* и относителен брой на мъртвите и обездвижени новородени на ракообразния вид *Daphnia magna*.

Получените резултати от анализа на химичните и физикохимични индикатори показва, че на изхода на отделни станции се наблюдава превишение на емисионните норми за допустимо съдържание на азот и фосфор. Тези превишения могат да се обяснят с факта, че в дадените ПСОВ няма наличие на стъпала за отстраняване на азотни и фосфорни съединения. Спрямо повечето от определените 20 физикохимични параметъра, водата в анализираниите реки изцяло покрива изискванията за качеството на питейната вода. Приложението на многовариационната статистика посредством PLS-DA определи и значимите индикатори за качество на водите в различните класове (отпадъчни и повърхностни води). Отпадъчните води се характеризират с висока електропроводимост и високи концентрации на P, N, Cl⁻, Se и Zn (основен източник: човешки отпадъци, перилни и почистващи препарати), докато в повърхностните води се наблюдават високи нива на неразтворени вещества и желязо.

Екотоксикологичният тест Phytotoxkit F™ оказва по-значимо влияние върху класификацията на пробите от повърхностни и отпадъчни води, в сравнение с Microtox® и Darphtoxkit F™, като най-значима за класификацията е дължината на корените на *Sinapis alba*, която в пречистените отпадъчни води е по-висока (поради по-високото съдържание на N и P) спрямо повърхностните води.

В публикация **V14** по подобен начин е направена оценка на екологичното състояние на р. Огоста и яз. Огоста. Проби от повърхностни води в р. Огоста и проби от отпадъчни води на входа и изхода на ПСОВ – Монтана са изследвани за основни физикохимични параметри и екотоксичност. Повърхностните води на реката и язовира отговарят на категория А1 на Директива 75/440/ЕЕС за повечето от физикохимичните показатели и са с категория А3 по отношение на определената концентрация за As. Елементният анализ е направен с ICP-MS при стандартни условия за повечето от анализиратите химични елементи. As и Se поради възможни пречения от наличието на молекулните йони като $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+(\text{}^{75}\text{As})$, $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$, $^{40}\text{Ca}^{37}\text{Cl}^+$, $^{38}\text{Ar}_2^{1}\text{H}^+(\text{}^{77}\text{Se})$, $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+(\text{}^{78}\text{Se})$, $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$, $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+(\text{}^{80}\text{Se})$, $^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2^+$, $^{34}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$, $^{40}\text{Ar}^{21}\text{H}_2^+(\text{}^{82}\text{Se})$ са определени с помощта на динамична реакционна клетка и реакционен газ O_2 . Средните годишни концентрации на Al, Cr и U са по-ниски от пределно допустимите концентрации в Рамковата директива за водите. Концентрацията на As във всички проби надвишава максимално допустимата концентрация, което е резултат от минна дейност и разлив на хвостохранилище в близкото минало. Резултатите от биотеста Phytotoxkit F™ показват ниска екотоксичност на водните проби.

В публикация **V15** е проведен анализ на отпадъчни води от ПСОВ, заустващи в р. Марица, с цел проследяване на въздействието на пречиствателните станции по течение на реката на територията на България. Проследени са основни физикохимични параметри (химически потребен кислород- ХПК, биологична потребност от кислород-БПК₅, общ N и P), както и Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V, Zn и U. Елементният анализ е определен с ICP-MS при стандартни условия за повечето от химични елементи, с изключение на As и Se, които са анализирани с помощта на динамична реакционна клетка и реакционен газ O_2 . Установено е, че замърсяването във водосборния басейн на р. Марица се дължи на множество точкови и дифузни източници. Всички изследвани физикохимични параметри (с изключение на Al и Cu) показват по-висока концентрацията в реката след последната ПСОВ (Свиленград) спрямо концентрацията в реката преди заустването на първата ПСОВ (Пазарджик). Екотоксичността на пробите от повърхностни води на р. Марица е ниска.

Изследването публикувано в **V19** доведе до охарактеризиране на профилите на българските отпадъчни води от ПСОВ и приемащите повърхностни водни тела, със специален акцент върху подобряване на стратегията за пробовземане по отношение както на входящите отпадъчни води от ПСОВ, така и на приемащите водните тела. Също така на базата на определен набор от физикохимични параметри като хлориди, ХПК, електропроводимост, нитрати, общ фосфор, рН, сулфати, общ азот, общ органичен въглерод (ТОС), обща твърдост (ТН), общо суспендирани твърди вещества (TSS), основни макро- и микроелементи (Ca, K, Mg, Na, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, U, V и Zn), и прилагането на Phytotoxkit F™ и Ostracodtoxkit F™ са разработени многовариационни модели за въздействието на ПСОВ върху водните обекти. Това е постигнато чрез прилагане

на хемометричните подходи като анализ на главни компоненти (principal component analysis – PCA) и метод на частично най-малките квадрати с дискриминантен анализ (partial least squares–discriminant analysis – PLS-DA).

Определянето на елементния състав е направено с ICP-MS. За оценка на точността на маспектрометричния анализ за Ca, K, Mg, Na, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, U, V и Zn са анализирани три СРМ за повърхностни води — NIST1640a, SPS-SW2 и NWTM-23.5. Получените експериментални резултати са в отлично съответствие със сертифицираните стойности. Аналитичният добив е изчислен на базата получените експериментални резултати и сертифицираните стойности и е от 98.5% до 102.6% за макроелементите и от 99.7% до 100.3% микроелементите. Възпроизводимостта на анализа е в интервала 1–9%. На базата на определените физикохимични показатели на водните проби, и предложената методология, включително схемата за мониторинг и многовариационното статистическо моделиране са установени факторите, контролиращи качеството на водата.

Не винаги целта на анализа е охарактеризиране на химичния състав на пробите за анализ. Понякога се налага определянето на конкретен елемент, обикновено потенциално токсичен, за който има информация, че превишава пределно допустимите концентрации в питейни води. Поemanето на алуминий (Al) чрез питейната вода може да бъде фактор, допринасящ за развитие на невродегенеративни заболявания като Алцхаймер, което налага дефиниране на пределно допустими концентрации в нормативните документи за този елемент. Световната здравна организация (WHO) определя ПДК на Al под 0.2 mg/L, каквато е нормативната уредба и в България. Като цяло концентрацията на алуминий в чешмяната вода на градската водоснабдителна система зависи от: а) естественото общо съдържание на Al в питейната вода; б) използваните методи и реагенти за пречистване на питейна вода; в) състава на отлаганията в тръбите; г) и промяна на хидравличните условия. Лошото качество на повърхностните води, през последните няколко десетилетия, предназначени за питейно битови нужди, налага широко използване на коагуланти на базата на Al за намаляване на тежки метали, органични вещества, цвят, мътност, суспендирани частици и патогени. За съжаление, това неизбежно причинява остатъчно замърсяване с Al на питейната вода. През последните няколко години бяха открити повишени концентрации на Al в повърхностни води, идващи от яз. Искър и влизащи се в ПСПВ на Бистрица и Панчарево – основните съоръжения в системата за питейно водоснабдяване на София, България.

В публикация **V18** са представени резултатите от проучване на разпределението на Al в системата за питейно водоснабдяване на град София чрез оценка на приноса и на трите основни фактора, отговорни за повишението му в питейната вода, а именно: а) съдържание на Al във водата от водоизточника; б) използване на коагулант на базата на Al от пречиствателните станции; в) възможно натрупване и допълнително отделяне на Al във водопреносната мрежа. За оценка на влиянието на пречиствателните станции върху концентрациите на Al във водопреносната мрежа на град София са проследени и обобщени средномесечните концентрации на входовете и изходите на ПСПВ–Бистрица и ПСПВ–Панчарево. Наблюдаваната разлика (почти 2 пъти) между средните концентрации на Al на входовете и изходите през януари и февруари и на двата ПСПВ е свързана с използването на коагулант на базата на алуминий за пречистване на водата. Обикновено през тези месеци

мътността на прясната вода, постъпваща в пречиствателната станция, е много висока и се причинява от големи количества повърхностни води, навлизащи в язовира, които „повдигат“ утайките, карайки глинени частици да изплуват и концентрацията на алуминий във водата може да се увеличи.

Установено е и сходство в тенденциите на разпределение на концентрацията на Al през годината в почти всички пробовземни пунктове, като най-висока е концентрацията през януари и февруари (120-145 µg/L) и най-ниска през декември (40-65 µg/L). Увеличената концентрация на Al може да е свързана с някаква моментна промяна в хидравличните условия, при който Al, натрупан в отлаганията по стените на тръбите (основно сътаен с Fe и Mn-съдържащи оксиди и хидроксида), е освободен и постъпва обратно във водата. В случаите на такива събития това увеличение на концентрацията на Al е краткотрайно, за да повлияе на средномесечните и годишните данни. Анализът на материала на тръбопроводната мрежа се оказва допълнителен фактор, който влияе на Al разпределение в градски водоснабдителни мрежи. Изградената преди 50 години водопроводна мрежа Бусманци е причина за освобождаване на метала във питейната вода в този район.

Освен ПТЕ, приоритетните замърсители на питейни и повърхностни води са голям брой органични замърсители, напр. пестициди (Наредба 9, 2001, Наредба 12, 2002). Пестицидите се ползват в селскостопанската практика и прилагането им увеличава селскостопанската продукция тъй като предпазват културите от нашествия на вредители. Въпреки значението им в селското стопанство, използването на някои пестициди представляват значителен риск за нецелевите популации. Здравето на хората може да бъде увредено от остатъците от пестициди попаднали в повърхностни води вследствие на директен отток, излугване, измиване на оборудване и др. Няколко фактора като характеристики на почвата, топография, време и земеделски практики могат да повлияят на транспортирането на пестициди от земеделски полета до повърхностни води. В публикация **V16** е разработен и валидиран метод за определяне имидаклоприд, циперметрин и хлорпирифос етил във води с помощта на високоефективна течна хроматография. Разделянето е направено с хроматографска колона C18 (Microsorb-MV, 100-5, C18, 150 × 4,6 mm), а използваната подвижна фаза е метанол/вода (70:30, v/v) при поток от 0.5 ml/min и UV детектиране при дължина на вълната 205 nm. Моделни водни разтвори, съдържащи анализирани пестициди са подложени на екстракция с органичен разтворител и последващо концентриране, за да се постигнат максимално ниски граници на откриване и определяне. Извършеният тест за стабилност на анализирани пестициди предсказва тяхната устойчивост в реални условията на околната среда, като имидаклопридът прояви най-голяма устойчивост с времето в сравнение с останалите два пестицида. Приложимостта на хроматографския метод е проверена с проби от река Струма (Югозападна България) и за сравнение проби от чешмяна вода от водопреносната мрежа на гр. Перник. Резултатите показват, че само циперметрин е открит в пробите на речната вода с концентрация от 0.42 ± 0.06 µg/L. Имидаклоприд и хлорпирифос етил са под 0.17 µg/L и 0.40 µg/L съответно. Както се очаква изследваните пестициди не са открити в чешмяна вода.

Научните приноси в това направление са свързани с инструменталото определяне на химичните показатели, необходими за охарактеризирането на повърхностни води и влиянието на пречиствателните станции върху прилежащите водни тела. Получените данни, заедно с приложените хеометрични методи за анализ и екотоксикологични тестове (от съавторите) позволяват създаване на нова гъвкава методология за пробовземане, нов начин за оценка на въздействието на ПСОВ върху приемащите водни тела и приоритизиране на показателите, отговорни за качеството на водата относно въздействието на ПСОВ.

Разработването на хроматографски метод за определяне на имидаклоприд, циперметрин и хлорпирифос етил във води с HPLC е за целите на изследователски проект „Clean and Circle“ и дава възможност за определяне на приоритетни органични замърсители във води. На същата тематика е защитена дипломна работа за придобиване на образователно-квалификационна степен “бакалавър“.

Научните изследвания, разгледани в това направление са докладвани на 2 национални и международни конференции.

3. Археометрични изследвания с маспектрални и рентгенови методи

Използвайки предимствата на р-XRF като недеструктивен метод за анализ е определен химичният състав на златните предмети, открити в Голямата могила в Сборяново през 2012 г. които се датират от последните десетилетия на IV в. пр. н. е. [B9]. Определено е съдържанието на основните елементи- злато (Au), сребро (Ag) и мед (Cu) в 96 находки. Представените в работата резултати от анализа показват, че златното съкровище от Сборяново, чието общо тегло достига 1.9 kg, се състои от предмети, изработени от много чисто злато – най-ниската стойност е 93.5% или 22.4 карата, а най-високата е 99.3% или 23.8 карата. Концентрацията на останалите елементи – сребро и мед, – е сравнително ниска. За среброто тя е в границите от 0.5 до 6.05%, докато за медта е между 0.2 и 2.9%. Получените резултати навеждат на мисълта, че златното съкровище от Голямата могила в Сборяново е изработено от рафинирано злато с различен произход, т.е. от злато, което е пречиствано по различен начин и вероятно е получено от различни източници.

Един от металите, който е добиван и използван за изработка на накити и оръдия на труда още в древността е медта. Чистата мед притежава редица технически свойства и е основният метал, който е ползван от древния човек. Впоследствие той се научава да добавя и други метали като арсен (As), калай (Sn), олово (Pb), цинк (Zn) и т.н, което води до получаване на сплави с по-висока твърдост, по-добра ковкост, определен цвят, устойчивост на корозия и т.н. Мед и медни сплави, като анализ от гледна точка на археометричните изследвания, са включени в публикациите **B11** и **B20**, които обхващат изследвания на коланни принадлежности като токи, катарамии, апликации, съпътстващи метални артефакти и т.н., датирани III –VII в. сл. Хр. След киселинно разлагане е направен елементен анализ с ICP-AES (макроелементен състав) и ICP-MS (микроелементен състав) на 219 артефакта, като от тях са публикувани резултатите за 203. С помощта на двете аналитични техники са определени концентрациите As, Bi, Co, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn и Zn. При артефактите, за които прилагането на разтваряне е невъзможно (с цел запазване на пробата)

инструменталното измерване е осъществено с p-XRF, изискващ минимална или никаква пробоподготовка, а в същото време е недеструктивен и се запазва целостта на пробата.

Основните приноси в това направление са свързани с определянето на химичния профил на златни находки и коланни принадлежности, което позволява след статистическа обработка и интерпретация на получените данни (от съавторите) да се определят регионални особености, етническа и полова принадлежност. Доколкото е известно на авторите, за първи път е направено толкова мащабно изследване на коланни принадлежности от времето на преселението на народите (III–VII в. сл. Хр.), което обхваща намерените на територията на съвременна България находки.

Получените резултати обобщени в тази точка са докладвани на 2 национални и международни конференции.

4. Развитие и приложение на маспектрометрията с индуктивно свързана плазма при анализ на противоракови платинови комплекси

Въпреки известните ограничения на химиотерапията с цисплатин, лечението на рак с лекарства на основата на платина остава предпочитан избор за много онколози. Един от подходите за подобряване на фармакологичния профил на противораковите платинови лекарства е целенасочено модифициране на тяхната структура и състав, което обяснява и засиления научен интерес към синтез на нови платинови комплекси с подобрен терапевтичен ефект. В публикации **B13** и **B21** е приложена маспектрометрията с индуктивно свързана плазма (ICP-MS) за обясняване на една от причините за наблюдаваната по-висока цитотоксичност на новосинтезирани Pt(II) нанокапсула и пиренбутирови комплекси на Pt (IV) в сравнение с цисплатин, а именно степента на усвояването им от два вида ракови клетки - суспензионни култури от HL-60 клетки (промиелоцитна левкемия) и ракови клетки от адхерентен тип HT-29 (колоректален карцином). След проведеното клетъчно фракциониране с FractionPREP Cell Fractionation kit, Bio Vision и последващо разтваряне в к. HNO₃ при стайна температура, клетките и клетъчните фракции са анализирани с ICP-MS.

Количественото определяне на Pt е направено чрез външно калибриране в концентрационен интервал 0.5 – 50 ppb, с 20 ppb ¹⁹¹Ig като вътрешен стандартен. Стандартните разтвори са подготвени гравиметрично с дейонизирана вода.

Известно е, че само присъствието на ¹⁷⁹Hf¹⁶O и ¹⁷⁸Hf¹⁶O може да се счита за сериозно пречене при определянето на Pt (¹⁹⁵Pt и ¹⁹⁴Pt) с квадруполен ICP-MS. В анализираниите биологични проби обаче не се очакват тези пречения, тъй като няма откриваемо количество Hf в пробите.

Експериментално определената граница на откриване е изчислена като три пъти стандартното отклонение на празната проба (n=10) и заема стойност < 0.01 ng/mL. Поради липса на СРМ за оценка на качеството на анализа е използван методът на стандартната добавка като към нетретираните контролни клетки (HT-29 и HL-60) са добавени различни концентрации на Pt. Аналитичният добив е от 98-104% в различните проби, използвани за контрол на качеството на анализа. Пробите на клетките и клетъчните фракции са доведени до краен обем 3 mL и са анализирани без филтруване, за да не се допуснат загуби.

Общоприети единици за представяне на получените резултати за Pt са: количество Pt отнесено към 1 милион клетки или количество на Pt отнесено към µg клетъчен протеин. Тъй

като тестваните клетъчни линии се различават значително по своето протеиново съдържание и морфологични свойства, данните от експериментите за усвояване на платина са представени в единици pmol Pt/mg протеин, за да се минимизират ефектите от споменатите клетъчни характеристики, въпреки че са изчислени и по двата начина.

Резултатите показват много по-високо натрупване на платина в клетките HT-29 и HL-60 третирани с Pt(II) нанокапсулата, съответно 21 и 31 пъти повече в сравнение с цисплатин [B13], което позволи да се обясни по-добрата ѝ цитотоксична активност. В случая на пиренбутировите комплекси на Pt (IV) [B21], най-високи концентрации на Pt, представени в pmol Pt/mg протеин са измерени в цитозолната фракция на клетките HT-29 и HL -60 за монопиренбутировия комплекс на Pt (IV) и в цитоскелетната фракция за бис-пиренбутировия комплекс, а най-малко количество Pt е установена в ядрената фракция и за двата комплекса и при двата вида клетки. Този резултат също спомогна да се изгради хипотеза за причините за наблюдаваните разлики в фармакотерапевтичния потенциал на двата Pt (IV) аналози, както и да се дефинират бъдещи структурни модификации за оптимизиране на противотуморната им активност [B21].

Основните приноси в тази тематика са създаване, оптимизиране и валидиране на ICP-MS метод за определяне на следови концентрации на Pt в различен тип клетъчни култури, както и в различни клетъчни фракции. Поради спецификата на пробите за анализ са оптимизирани етапите на пробоподготовка за постигане на пълно разтваряне на клетъчните култури, инструменталните параметри и подходите за валидиране на метода. Липсата на сертифицирани референтни материали за оценка на качеството на ICP-MS анализа доведе до прилагане на метода на стандартната добавка.

Получените резултати са докладвани на три научни форума.

София,
05.02.2024г