

АВТОРСКА СПРАВКА ЗА ПРИНОСНИЯ ХАРАКТЕР НА ТРУДОВЕТЕ

на д-р Валентина В. Любомирова

По тематиката на конкурса са представени **17 публикации в пълен текст**, от които: 12 статии в списания с импакт фактор, 1 в международно и 1 в българско научно списание, реферирани в ISI Web of Science, 1 глава от монография на английски език, 1 в международно списание без импакт фактор и 1 в българско списание без импакт фактор.

В допълнение са представени 15 резюмета на научни съобщения от участия в конференции и 2 лекции, изнесени на научни семинари.

Научноизследователската работа може да бъде обобщена в две основни направления:

А. Развитие и приложение на масспектрални и хроматографски методи за количествен и специационен анализ на проби от околната среда (растения и почви) и храни.

Б. Археомерични изследвания с масспектрални и рентгенови методи.

А. Развитие и приложение на масспектрални и хроматографски методи за количествен и специационен анализ на растения, почви и храни.

1. Оптимизиране на ICP-MS и LA-ICP-MS метод за определяне на есенциални и потенциално токсични елементи [A9, A10, A17, A20, A22, B22, B26].

Едно от предизвикателствата на екоотоксикологията може да се дефинира като изследване на неорганичен състав на растенията за установяване на механизмите на молекулни и субмолекулни взаимодействия със замърсители в околната среда и връзката между екологични промени и ефекта върху растителния организъм, както и прогнозиране на вредни въздействия от нови индустриални процеси, включително биотехнология и нанотехнология.

Изследването на тези взаимодействия води до развитието на ново научно направление – йономика. Йономиката е наука за изучаване на хранителните вещества и съдържанието на следи от елементи на клетъчно ниво и в целия организъм (йоном) и настъпилите промени в резултат на физиологични стимули, етап на развитие и генетични модификации. Изучаването на процесите на регулиране на елементната концентрация в растенията и съществуващите корелации между тях изисква да бъдат определени максимален брой елементи в широк концентрационен интервал и

химичната форма на замърсителите. Това налага използването на високопроизводителни аналитични техники за мултиелементен и специационен анализ.

В публикация А9 е направен обзор на възможностите на деструктивни и недеструктивни техники, използвани за определяне на елементен състав на растения. Извършено е сравнение по отношение на граници на откриване (LODs), концентрационен интервал, пробоподготовка, пречения, брой определяни елементи, време и цена на следните методи: инструментален неутронно-активационен анализ (INAA); рентгенови методи - енергетично-дисперсионен рентгенофлуоресцентен анализ (ED-XRF), рентгенофлуоресцентен анализ с пълно вътрешно отражение (TXRF), протонно индуцирано рентгенофлуоресцентно лъчение (PIXE); маспектрометрични техники – атомно-емисионна спектрометрия с индуктивно-свързана плазма (ICP-AES), маспектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-MS) и лазерно изпарение и маспектрометрия с индуктивно свързана плазма ICP-MS (LA-ICP-MS). Систематизирани са и възможностите на атомно-абсорбционните методи (AAS) – пламъкова (FAAS), електротермична (ETAAS), метод на студените пари (CVAAS) и хидридно-генериране (HGAAS). Сравнението показва, че в областта на йономиката, целяща едновременно определяне на голям брой елементи, несъмнено най-големи предимства имат ICP-MS и INAA. Приложението на INAA за определяне на кратко живущи изотопи изисква облъчването и измерването да се извършва в една лаборатория, което ограничава използването му.

В публикация А10 е предложен ICP-MS метод за определяне на 60 елемента в растения. Всяка стъпка от анализа е оптимизирана с помощта на растителни сертифицирани референтни материали (CRM) - NIST SRM 1547, листа от праскова, National Institute of Standards and Technology, USA; NCS DC 73348 и NCS DC 73349, храстови клони и листа, China National Analysis Center; IAEA-V-10, сено и INCT-MPH-2 полски билки, Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warsaw-Poland. Специално внимание е отделено на начина на разтваряне на пробите и е установено, че за постигане на пълно разтваряне на растителната матрица, което е от особено значение в областта на йономиката е необходимо добавяне на HF към традиционно използваните HNO₃ и H₂O₂. Въз основа на очакваните и установените при анализа на растителни CRM спектрални пречения са избрани подходящи изотопи за анализ. В зависимост от анализа, корекцията на спектралните пречения е направена чрез въвеждане на математическа корекция или използване на динамична реакционна клетка (DRC). Проведено е оптимизирането на параметрите на DRC - скорост на използвания

реакционен газ и RPq при използване на CH₄ за определяне на Ag, As, Ni, Pd, Pt, V и Se в растения [A10] или O₂ за определяне на Se в брашно и хляб [A20]. Проведени са два начина за калибриране на ICP-MS спектрометъра - чрез рутинно прилагания подход на външно калибриране с мултиелементен стандарт и калибриране с растителни CPM, след подходящо разреждане. Сравнението на експерименталните резултати със сертифицираните стойности показва, че за повишаване на точността на инструменталното определяне се препоръчва калибриране със CPM. Сериозно предимство на предложения метод са оптимизираните апаратурни условия, т. нар. „студена плазма” за определяне на макрокомпоненти, което обикновено се извършва с друг метод.

Предложеният метод е използван като основа за анализ на почви [A17]. Въведени са модификации в етапа на пробоподготовката, избора на подходящи изотопи и корекции на преченията. Изборът на изотопи и корекцията на спектралните пречения са изследвани с помощта на три дънни седимента: STSD-1, STSD-3 и STSD-4 (Canada Center for Mineral and Energy Technology, Geological Survey of Canada) [A17].

В допълнение към предложения ICP-MS метод е оптимизиран LA-ICP-MS метод за определяне на 30 елемента в почви [A22]. LA-ICP-MS не е широко използван метод за анализ на проби от околната среда. Основното ограничение е липсата на твърди CPM, необходими за калибриране и определяне на точността на анализа. В настоящата работа са предложени три подхода за приготвяне на таблетки - таблетки без свързващо вещество, таблетки със свързващо вещество (H₃BO₃) и таблетки с органика (хексан и дихролметан) от пет CPM под формата на прах - две почви (IAEA-SOIL-5 и IAEA-SOIL-7) и три седимента (IAEA-SL-1, IAEA-SL-3 и STSD-3). Едновременното определяне на макро и микрокомпоненти в анализирания CPM е постигнато чрез оптимизиране и въвеждане на параметър RPa, който редуцира сигнала на макрокомпонентите. Получените количествени резултати показват, че най-добра точност и възпроизводимост се получават при анализ на „органичните таблетки”. Установено е, че основен фактор, влияещ върху точността и възпроизводимостта на аналитичните резултати е размерът на почвените частици, което налага да се осигури еднакъв размер във всички стандарти и почвени проби.

Приносите в това направление могат да се обобщят по следния начин:

Предложени са ICP-MS метод за определяне на 60 елемента и LA-ICP-MS метод за определяне на 30 елемента в растения и почви. Оптимизирани са етапите на пробоподготовка, калибриране с помощта на CPM, определяне на

макрокомпоненти в условия на студена плазма или въвеждане на RPa-параметър и използване на DRC за корекция на спектрални пречения. За първи път е постигнато определяне на такъв брой елементи с квадруполен ICP-MS.

По научните изследвания, разгледани в това направление са забелязани 10 цитата в Scopus и 12 в Scholar и са докладвани на две международни конференции [Б22, Б26].

Проведената оптимизация на DRC за определяне на Se под формата на SeO е описана в дипломна работа “Определяне на селен в брашна и хляб”.

2. Определяне на йонома на *Taraxacum officinale* от фонови и замърсени райони в България [A14, A16, A17, Б21, Б23, Б24].

Публикация A14 е посветена на изследване на йонома на глухарче (*Taraxacum officinale*) и оценка на настъпилите промени под въздействието на различни природни и антропогенни фактори. Това налага определяне на елементния състав на *Taraxacum officinale* и оценка на трансферния фактор (TF) на елементите от почвата към растението, както и зависимостта на TF от типа почва и нейните характеристики. Разработеният ICP-MS метод за определяне на 60 елемента е приложен за определяне на елементния състав на *Taraxacum officinale* и почви от фонови и замърсени райони в България. Фоновите райони са разположено основно в планински участъци (Родопи, Пирин, Стара планина, Земенска планина), които не са повлияни от транспортни или индустриални замърсители. За изследване на влиянието на замърсители върху йонома на *Taraxacum officinale* са анализирани растения и почви, пробовзети в близост до КЦМ-Пловдив, ОЦК-Кърджали, металургични заводи „Стомана”-Перник и „Кремиковци”-София, ТЕЦ „Марица Изток” 1 и 3, от района на минно-обогатителен комплекс „Асарел-Медет” – Панагюрище и в близост до изоставена уранова мина в Бухово и от 10-километров участък от автомагистрала Тракия, близо до Пловдив.

Изследването на йонома на *Taraxacum officinale* от фоновите райони показва тесен концентрационен интервал и ниско разсейване по отношение на време и място [A14]. Оценката на антропогенно въздействие върху йонома на *Taraxacum officinale* е оценена с помощта на акумулационен фактор (AF), който представлява отношение на концентрацията на елементите в замърсените райони спрямо тази във фоновите райони. Резултатите за AF показват сериозна промяна в йонома на *Taraxacum officinale* от замърсените райони. Наред с „основните” замърсители се наблюдават повишени концентрации и на редица други „съпътстващи” елементи, което може да се дължи на използваните суровини или на междueleментни корелации в *Taraxacum officinale*. За да

се разкрийт взаимовръзките между елементите са приложени кластерен, факторен и корелационен анализ. Установено е образуването на пет статистически значими кластера и пет фактора, отговорни са групирането на елементите. В замърсените райони е установено прегрупиране не само на „основните” замърсители, а и на елементи, които не са пряко свързани с типа на замърсяването, както и наличие на статистически значими корелации между тях [A14]. Тези резултати са индикация за сериозна промяна в йонома на *Taraxacum officinale* при антропогенно влияние.

За установяване на промяна в йонома на отделните растителни части е направено сравнение на елементния състав на листа, стъбло и семе от един фонов и два замърсени района. Данните показват, че антропогенното замърсяване води до акумулиране на потенциално токсични елементи в репродуктивните органи (семената), което освен промяна в йонома, ще доведе и до промяна в генома на *Taraxacum officinale*.

В публикация A17 са описани резултатите от анализа на почвените проби. Представени са определени почвени характеристики (рН, СЕС, съдържание на органичен въглерод) и елементния състав на почвите. Установено е, че независимо от разлики в почвените характеристики, основната част от елементите във фоните и замърсените райони варират в тесен и близък концентрационен интервал. В замърсените почви, някои елементи като Mo, Pb, Sb, Se и Zn са значително завишени, независимо от типа на замърсяването, а други, напр. As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Sn, Mn, U съответстват на типа на замърсяването в съответните райони. След проведено фракциониране с помощта на триетапна последователна екстракционна процедура, предложена от Програма за Стандарти, Измервания и Изпитване на Европейския Съюз (BCR), са определени разпределението на елементите в отделните почвени фракции и биодостъпната част на есенциални и токсични елементи. В резултат на статистическа обработка на данните от елементния анализ, изследваните елементи са групирани в два „геохимични”, два „антропогенни” и един „естествен” фактор. Образуването на две „антропогенни” групи е индикация, че междуелементните корелации в почвите са силно повлияни от вида на замърсяването и могат да бъдат показателни за източника на замърсяване. Получени са стойности за TF на *Taraxacum officinale* от фонов и замърсени райони. Резултатите показват, че в повечето случаи TF на елементите от замърсените райони попадат в интервала, определен за фоните райони, с изключение на TF на Ca, Cd, Cu и Zn, които са по-високи във фоните райони, а TF на Cr, Fe и Sn са по-високи в замърсените райони. За определяне на зависимостта на TF от почвените характеристики е проведен факторен анализ, който показва зависимост на TF за всеки

елемент от един или няколко фактора. Демонстрирана е сложната зависимост на ТГ от почвените характеристики, от съответния елемент и вероятно от растителния вид.

Изследванията в тази насока са проведени в рамките на проект, финансиран от Фонд „Научни изследвания”, МОН, 2010-2014 г., в който В. Любомирова е участник.

Наличната вече информация за йонима поставя въпроса за изследване на начините на свързване на елементите (специация) и разпределението им в отделните части на растението – определяне на „пръстов отпечатък”. При анализ на химични форми и разпределението на елементите в организма се прилагат „меки условия” на пробоподготовка, за да се намалят загубите от разпадането на молекулните форми и промените на анализите в хода на пробоподготовката. В публикация А16 са разгледани методи за пробоподготовка при специационен анализ на елементи в растителни тъкани, съобразена с целите на анализа и обекта. Описани са основните аспекти на пробоподготовката, стабилност на химичните видове, методики за екстракция, методи за солубилизация и техники за дериватизация (А16).

За сравнителна оценка на замърсяването от цветната металургия са анализирани листа от ябълка, круша, царевица и слънчоглед от района на ОЦК-Кърджали. Сравнението с АГ на *Taraxacum officinale* от същия район показва близки стойности за Рb и Zn и по-ниски за останалите изследвани елементи. Проведени са екстракции с вода и органични разтворители с нарастваща неполярност. Най-висок процент от общото съдържание на всички изследвани елементи са екстрахирани във водната фракция. Проведените екстракции са само един първоначален етап от изследванията върху химичните форми, които дават информация за полярността на извлечените комплекси. Резултатите са представени в дипломна работа „Изследване на отклика на няколко растителни вида от замърсяване с цветна металургия”.

Изследванията, описани в това направление са докладвани на три международни конференции [Б21, Б23, Б24].

В резултат на проведените изследвания е характеризиран йонима на *Taraxacum officinale* в естествени условия. Определените стойности на АГ и наличието на корелационни зависимости между „основни” замърсители и елементи, които не са пряко свързани с типа на замърсяването, са индикация за промяна на йонима на *Taraxacum officinale* при антропогенно въздействие. Получени са данни за акумулиране на потенциално токсични елементи в репродуктивните органи, което ще доведе до промяна на генома на *Taraxacum officinale*. Установено е, че влиянието на почвените характеристики и фракционирането на елементите в

почвите върху ТГ е специфично за всеки елемент, което не дава основание за намаляване на броя на определяните елементи в следващи изследвания на йонима на друг растителен вид.

3. Специация на платинови метали и редкоземни елементи и изследване на замърсяване от автомобилен транспорт в България.

Настоящото направление може да бъде разделено на две поднаправления, включващи (3.1.) *Специация на платинови метали (ПМ) и редкоземни елементи (РЗЕ) с помощта на хроматографски и маспектрални методи* и (3.2) *Изследване на замърсяване от автомобилни катализатори в България.*

За определяне на химичната форма на ПМ и РЗЕ, емитирани от автомобилни катализатори, са изследвани два вида почвени проби (кафява горска и карбонатна черноземна), лабораторно контаминирани с Pt/Rh или Pd-катализатор, както и с неорганични йони на платина - $PtCl_4^{2-}$ и $PtCl_6^{2-}$ и пътни прахове (А-1, А-61 и Б-262), пробовзети от автомагистрала в Германия.

3.1. Специация на ПМ с помощта на хроматографски и маспектрални методи [А6, А7, А8, А11, Б14, Б16, Б17, Б18, Б19, В1].

В публикация А6 е представен IC-HPLC-DAD метод за разделяне и количествено определяне на $PtCl_4^{2-}$ и $PtCl_6^{2-}$ в почвените проби, контаминирани с платинови йони. Методът е оптимизиран със стандартни разтвори на $PtCl_4^{2-}$ и $PtCl_6^{2-}$, а разделянето и количествено определяне на изследваните йони в почвените проби е проведено след екстракция на почвите с 1М HCl. Демонстрирана е високата склонност към хидролиза на $PtCl_4^{2-}$ и $PtCl_6^{2-}$ и получаване на смесени хидроксо-хлоридни комплекси от типа $Pt(II)Cl_x(OH)_y$ и $Pt(IV)Cl_x(OH)_y$, както и протичане на окислително-редукционни процеси. Установени са ниски добиви на изследваните йони, което е индикация, че първоначално внесените неорганични хлоридни комплекси показват силна адсорбция в почвата чрез рекомплексиране във водонерастворими форми. Изследванията са проведени съвместно със студент и са описани в дипломна работа „Определяне на платинови хлорокомплекси и хидролизните им продукти с IC-HPLC-DAD”

В публикация А7 са проведени изследвани за образуване на хуминови комплекси на Pt и Pd, които са най-вероятните органични комплекси в почви и пътни прахове. Извършена е екстракция на хуминовата фракция с 0.1М $Na_4P_2O_7$. С помощта на ICP-MS е определена общата концентрацията на Pt и Pd под формата на хуминови комплекси.

Хуминовите вещества (HS) са разделена по молекулна маса (Mw) със SEC-HPLC-DAD и са регистрирани два пика, означени като високомолекулна (1600-5000Da) и нискомолекулна (<1600Da) фракция. Концентрацията на Pt и Pd в разделените фракции е определена off-line с ICP-MS.

Разпределението на Pt в изследваните фракции показва силна зависимост от почвените характеристики. При контаминиране на почвите с йонна форма на Pt е установено основно свързване на Pt с високомолекулната (кафява горска) или нискомолекулната (карбонатна почва) фракция. При контаминиране на почви с Pt-и Pd-катализатор, неутралната почва благоприятства образуването на нискомолекулни комплекси. Фактът, че сумарните проценти на Pt и Pd в изследваните фракции са по-ниски от 100% предполага комплексообразуването с HS с Mw по-висока от изследвания обхват. Силна зависимост от почвената матрица и тенденция за образуване на комплекси на Pt и Pd с високомолекулни HS е потвърдена и при анализ на пътните прахове. Наличие на нискомолекулни комплекси на Pt с HS е установено само в пътния прах А-61, а на Pd в А-1 и А-61.

За определяне на структурата на HS и образуваните комплекси с Pt са изследвани възможностите на три меки техники за йонизиране: ESI-Q-MS, ESI-ion trap-MS и MALDI-TOF-MS [A11]. Използвана е единствената налична стандартна хуминова киселина (HA) Fluka, с Mw 500-1000Da, което ограничи изследванията до масов интервал m/z 100-2000. При приложението на ESI-Q-MS са получени сложни и невъзпроизводими спектри, което е обяснено с образуването на мултизаредени комплекси, различна степен на йонизация на отделните молекули, образуване на агрегати, което нарушава разпределението по молекулни маси. От получените резултати не би могло да се прецени, дали появата на нови пикове се дължи на лоша възпроизводимост или на наличието на Pt-HS.

С ESI-ion trap-MS са получени спектри на стандартна HA, $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$, K_2PtCl_6 и Pt-HS при отрицателна и положителна йонизация. Спектрите при отрицателна йонизация са по-интензивни, което е обяснено с по-високо съдържание на COOH и OH-групи в структурата на HS. Получените спектри също се характеризират с ниска разделителна способност, но въпреки това е регистрирано възпроизводимо разпределение на получените фрагменти в масов обхват от m/z 200 до m/z 700 под формата на Гаусов пик, черта, която обикновено се наблюдава при анализ на синтетични и природни полимери. Установени са и редица характерни фрагментации, с които е доказано присъствието на алифатни карбоксилни групи (напр. карбоксилна, алкилна, карбонилна и ароматна),

ароматна структура и маркери за полизахариди. В спектрите на чистите соли са идентифицирани следните фрагменти - $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$: PtCl_4 (m/z 335.9), PtCl_3 (m/z 300.9), PtCl_2 (m/z 265.9), както и димерни структури като $\text{PtCl}_3\text{-PtCl}_2$ (m/z 566.9), $\text{PtCl}_4\text{-PtCl}_3$ (m/z 621.9) и $[\text{2M-NH}_4]^+$ (m/z 727.9); K_2PtCl_6 : KPtCl_6 (m/z 448.6), PtCl_5 (m/z 372.3), PtCl_4 (m/z 335.9), PtCl_3 (m/z 300.5), PtCl_2 (m/z 265.9). В спектрите на Pt(II)-НА и Pt(IV)-НА е установено наличие на нови пикове при стойности на m/z по-високи от 700, които са обяснени с образуването на комплекси със следния състав - Pt(II)- НА: $\text{PtCl}_4\text{-НА}$ (m/z 1048.5), $\text{PtCl}_2\text{-НА-PtCl}_2$ (m/z 1250.5), $\text{PtCl}_4\text{-НА-PtCl}_4$, (m/z 1388.4), $\text{PtCl}_2\text{-2НА}$ (m/z 1717.8), в които съотношението Pt:НА е 1:1, 2:1 и 1:2; Pt(IV)-НА: $\text{PtCl}_3\text{-НА}$ (m/z 1014), $\text{PtCl}_4\text{-НА}$ (m/z 1052), $\text{PtCl}_5\text{-НА-PtCl}_5$ (m/z 1445), в съотношение Pt:HS = 1:1 и 2:1.

Най-висока разделителна способност е постигната с MALDI-TOF-MS. Получени са спектри на стандартна НА и комплекси с Pt(II) и Pt(IV) в присъствие на матрици СНСА (α -циано-4-хидросиканелена киселина) и ДНВА (2,5-дихидроксибензоена киселина) при положителна и отрицателна йонизация. Аналогично с резултатите от ESI-ion trap-MS, по-интензивни спектри са получени при отрицателна йонизация, а по-добро съотношение сигнал/шум и по-ниска степен на фрагментация в присъствие на матрица ДНВА. В спектъра на стандартна НА е установено разпределение на получените фрагменти в масов обхват от m/z 100 до m/z 840, а в спектрите на Pt(II)-НА и Pt(IV)-НА наличие на допълнителни пикове при m/z 1009.6 до m/z 975.6. Присъствието на тези пикове се дължи на образуването на комплекси със състав $\text{PtCl}_3\text{-НА}$ и $\text{PtCl}_2\text{-НА}$. Пик при m/z 1036 е регистриран и в спектрите на контаминирани с Pt йони почви, който липсва в спектрите на неконтаминирани почви и доказва комплексобразуване на Pt с HS в почвите. При анализ на пътните прахове са получени по-интензивни спектри при положителна йонизация, което е индикация за различна структура на стандартна НА и HS в почви и пътни прахове. Сравнението на спектрите на пътните прахове с този на стандартна НА показва, че единствено в спектъра на А-61 е регистриран пик, който се дължи на образуване на комплекс Pt-HS. Този резултат е в съответствие с данните от SEC-HPLC-DAD, според които само в А-61 се образува Pt-HS с $M_w < 1600\text{Da}$. Липсата на пикове, дължащи се на комплекси в останалите пътни прахове, също потвърждават свързване на Pt с HS с M_w над 5000 Da.

Публикация А8 е посветена на оценка на поведението на емитираните от автомобилите Се, La и Zr (PЗЕ), добавяни в катализаторите с цел да подобрят или стабилизират каталитичната активност на ПМ. Извършено е фракциониране на контаминирани почви и пътни прахове с помощта на BCR екстракционна процедура,

разделяне на HS със SEC-HPLC-DAD и количествено определяне на концентрацията на РЗЕ в получените фракции с ICP-MS.

За разлика от ПМ, РЗЕ имат измерими концентрации в обектите от околната среда. По тази причина беше необходимо като първа стъпка да се оцени фракционирането на “естествено присъстващи” РЗЕ във фонови концентрации в анализираните почви.

Установено е, че на фоново ниво най-висока концентрация в двата вида почви след разтваряне с царска вода има Се, следван от Zr и La. В контаминирани почви се наблюдава значимо повишение на концентрациите на изследваните елементи, особено за Се. Като се има предвид, че Се е основната добавка, този резултат е очакван.

Фракционирането на почвите показва, че Се и La са свързани предимно в Fe/Mn-оксидна фракция, но в контаминирани почви се наблюдава изравняване с органичната фракция. Това е известна индикация, че попадналите от автомобилния транспорт Се и La проявяват тенденция за свързване с органиката в почвата. Цирконият практически не присъства в изследваните фракции (сумарно под 1% във фоните и 0.5% в контаминирани почви).

Фракционирането на пътните прахове показва многократно по-висока мобилност и запазване на тенденцията за свързване.

Установена е висока степен на свързване на “естествено присъстващия” Се с HS и значително понижаване в контаминирани почви. При La се наблюдава незначително комплексообразуване както във фоните, така и в контаминирани почви. Тази разлика е обяснена със зависимост на нарастване на образуваните комплекси между РЗЕ и HS с намаляване на йонния радиус при рН от 6 до 9. Хуминовите комплекси с „естествено присъстващите” РЗЕ са с Mw до 5000Da като разпределението на Се и La в изследваните фракции показва зависимост от почвения тип. В контаминирани почви, основната част от Се-HS е с Mw по-висока от изследвания обхват, докато La отново показва тенденция за комплексообразуване с HS в изследвания обхват като в зависимост от типа почва разпределението в двете фракции е идентично (карбонатна черноземна) или различно (кафява горска) от “естествено” присъстващия La. В пътните прахове се наблюдава количествено свързване на Се и La в изследвания обхват, предимно с нискомолекулната фракция.

Изследванията в това направление за първи път доказват образуването на комплекси на ПМ и РЗЕ с HS в почви и пътни прахове. Установена е тенденция за свързване на ПМ с HS с Mw над 5000Da, а на РЗЕ с HS с Mw под 5000Da.

Резултатите са докладвани на пет международни конференции [Б14, Б16, Б17, Б18, Б19] и една научна сесия [В1] и са забелязани 9 цитата (7 в Scopus). Част изследванията са проведени съвместно със студент и са описани в дипломна работа „Фракционирание на Се, La и Zr в контаминирани почви и пътен прах” .

3.2 Изследване на автотранспортно замърсяване с Pt , Pd и Rh [A13, A21, B25].

За оценка на степента на акумулация на емитирани от автомобилни катализатори Pt, Pd и Rh (ПМ) е проведен вегетационен експеримент в лабораторни условия [A13]. Три години след контаминиране на почвените проби, в тях е отгледан райграс. Концентрацията на ПМ в растителните проби е определена с ICP-MS, а корекцията на спектрални пречения е извършена с DRC. Наличието на ПМ в растенията доказва разтворимостта и биодостъпността на внесените в метална форма ПМ при контакт с почва и вода. Определени са TF, които не показват зависимост от почвения тип. Съвсем очаквано, TF на Pd е един порядък по-висок от TF на Pt и Rh, които са съизмерими. Въз основа на трансферните фактори е определена следната тенденция за биоакумулиране: $Pt \approx Rh < Pd$. Многократно по-висока степен на биоакумулация на Pt се наблюдава от растенията, отгледани в почвите с внесени Pt йони. Въпреки че в кафява горска почва внесената концентрацията на ПМ е двойно по-висока, както и различаващата се концентрация на Pt(II) и Pt(IV), измерените концентрации на Pt, Pd и Rh в растенията са съизмерими и съответно TF имат по-високи стойности в карбонатна черноземна почва. Този резултат показва наличието на механизми за „изключване” и поддържане на хомеостаза в растенията.

Публикация A21 е посветена на изследване на автотранспортно замърсяване в България и биоакумулирането на Pt и Pd в природни условия. Изследвани са пътни прахове, почви и растения (*Taraxacum officinale*) от 68 места. Част от пробите са от фонові райони, а останалите от автомагистрала (А-1, А-2, А-6), главни (Е-79) и второстепенни (Е-871 и П-55) пътища, от главни улици в няколко града в България и около двата комбината за цветни метали – КЦМ-Пловдив и ОЦК-Кържали. За сравнение са анализирани почви, пътни прахове и *Taraxacum officinale* от Словения, Италия, Швейцария, Германия и Полша.

Резултатите показват, че в изследваните пътни прахове, средните стойности на Pt и Pd варират в интервала от 7 до 70 ng g⁻¹ и 30 до 370 ng g⁻¹. Във всички изследвани райони концентрацията на Pd е по-висока от тази на Pt, което е в съответствие с последните тенденции за замяна на платинови с паладиеви катализатори. В пробите от

районите на КЦМ и ОЦК се съдържат по-високи концентрации на Pt от Pd, което е резултат от емисия на Pt от близко разположените комбинати. Най-високи концентрации за Pt и Pd са получени за пътния прах от Е-79, следвани от двете магистрали А-1 и А-2. Неочаквани резултати са ниските концентрации в праховете от магистрала А-6 и високите концентрации в праховете от второстепенния път II-55 (Pd: 402 ng g⁻¹, в близост до Габрово). Получените резултати са обяснени с условията на движение. По магистрала А-6 се позволява висока скорост до 140 км/ч. Наличието на задръствания, което предизвиква често „спиране и тръгване” на автомобилите по Е79 и стръмния участък от път II-55, по който максимално разрешената скорост е 30 км/ч водят до висока степен на емисия. Това обяснение се потвърждава и от факта, че най-високите концентрации на Pd (до 800 ng g⁻¹) и Pt са установени в пътните прахове, събрани близо до границата с Гърция и преди тунели, където съществуват ограничения на скоростта. Резултатите показват, че определящи фактори за емисията на ПМ са задръствания, бавна скорост и „спиране-тръгване” на автомобилите.

Концентрациите на Pt и Pd в почвените проби са по-ниски, отколкото в пътните прахове, но разликата не е съществена. Съотношението Ртпрах/Ртпочва е между 1.4 и 2.8, а Рдпрах/Рдпочва варира между 1.1 и 4.9.

Степента на биоаккумуляцията на ПМ в природни условия е изследвана чрез анализ на *Taraxacum officinale*. Потвърдена е по-високата степен на акумулация на Pd и е установено, че в природни условия ТФ са многократно по-високи от получените стойности с вегетационния експеримент. Този резултат е обяснен с по-дългия престой на ПМ в почвите и по-малкия размер на емитираните частици. Направено е сравнение между съдържанието на ПМ в мити и немити листа от *Taraxacum officinale*. Получените резултатите показват, че в митите проби се съдържат между 30-88% Pt и 45-90% Pd от концентрацията им в немитите проби, което е индикация, че значителна част от емитираните Pt и Pd са включени в растителната тъкан. Сравнение на получените резултати с пробите от други европейски страни показва съизмеримо замърсяване с ПМ.

В резултат на проведените изследвания е установено, че във фонови райони, някои градове и второстепенни пътища концентрациите на ПМ е все още под LODs, докато в пътни прахове от магистрали, някои първокласни и второстепенни пътища концентрациите на ПМ са съизмерими с проби от други европейски страни и достигат до 800 ng g⁻¹ Pd и 200 ng g⁻¹ Pt. Доказана е по-висока степен на биоаккумуляция на Pd от Pt и по-висока степен на трансфер в природни условия.

Изследванията в това направление са проведени в рамките на проект, финансиран от Фонд „Научни изследвания”, МОН за периода 2011 - 2014 г., на който В. Любомирова е ръководител. Получените резултати са представени на една конференция [Б25] и е забелязан един цитат в Scopus. Част от резултатите са включени в дипломна работа „Изследване на транспортно замърсяване от платинови метали в проби от пътен прах.”

В. Археометрични изследвания с масспектрални и рентгенови методи.

Археометричните изследване най-често целят определяне на място на производство, източници на използвани суровини, технология на производство, както и най-подходящите методи за анализ на археологическите находки.

1. Изследване на археологически находки от стъкло [A12, A18, Б28].

В настоящото направление са разгледани изследвания, свързани с определяне на елементен състав на стъклени находки, получени с помощта на PIXE и PIGE (протонно индуцирана емисия на гама-лъчи).

В публикация A12 са изследвани седем стъклени мъниста от некропола в Аполония Понтика, датирани към V – III век пр. Хр., които са едни от най-древните стъклени находки в България. Получени са аналитични резултати за съдържанието на 25 елемента - Al, Sb, Br, Y, Cd, Sn, K, Ca, Co, Fe, Mg, Mn, Cu, Na, Ni, Pb, Rb, S, Si, Ag, Sr, Ti, Cl, Zn и Zr, като основната част от тях са представени под формата на оксиди. Установено е, че стъклените мъниста се отнасят към типа $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$ -стъкла. Високите концентрации на Al_2O_3 дава основание да бъдат отбелязани и като $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ -стъкла. Различните нюанси на синьото оцветяване на мънистата са получени в резултат от комбинацията на Fe_2O_3 , CoO и CuO , а жълтото – от Fe_2O_3 , PbO и Sb_2O_3 , водеща до образуване на жълто оцветено химично съединение между оловото и антимона – $\text{Pb}_2\text{Sb}_2\text{O}_7$. Зеленият цвят на стъкленото мънисто се дължи на присъствието на Fe_2O_3 . На базата на проведения анализ и сравнение с данни за стъклени материали от същия период е направено заключение, че стъклото за мънистата е произведено в Близкия изток (днешна Сирия или Израел) или по-вероятно в стъklarските работилници, разположени на о-в Родос.

В публикация A18 са представени резултатите от анализа на 50 средновековни стъклени находки (фрагменти от 43 гривни, 6 съда и 1 дръжка от чаша), открити при разкопки в с. Златна ливада, Старозагорска област. Определено е съдържанието на 23

елемента - Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Br, Sr, Zr, Ag, Sn, Sb, Ba и P. Основните компоненти, изграждащи стъклото са Na_2O , CaO и SiO_2 . Приложени са кластерен, факторен и корелационен анализ. От кластерния анализ са получени три кластера. Факторният анализ показва, че групирането на пробите се дължи на три фактора - вид флюс, източник на пясък и използвани стабилизатори. С помощта на корелационен анализ са установени следните корелации: положителна между K_2O - MgO и отрицателна между K_2O - Na_2O (членове на фактор 1), положителна между Al_2O_3 - TiO_2 (членове на фактор 2), положителна между CaO - SrO и SrO - NiO (членове на фактор 3).

Групирането на пробите в три групи е получено и при двумерно разпределение на пробите според съдържанието на K_2O към MgO , т.е. типа на използвания флюс. Концентрациите на K_2O и MgO са показателни, че в една от групите се съдържат проби, произведени с използването на природна сода, а в друга – на растителна пепел. В по-голямата част от пробите (27 гривни), концентрацията на K_2O и MgO е междинна между тези, характерни за двете дефинирани групи и е означена като „смесена алкално-растителна” група. Това разпределение поставя въпроса дали пробите в третата група са произведени от изходни суровини или са получени в резултат на рециклиране. Потърсен е отговор чрез съпоставяне на отношението на $\text{Na}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{O}+\text{K}_2\text{O}+\text{MgO}+\text{CaO}$ към $\text{K}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{O}+\text{K}_2\text{O}+\text{MgO}+\text{CaO}$, според което се съди за източниците на растителна пепел. Разпределението на пробите показва разделяне на растителната от смесената група, което е индикация за използване на различна растителност. От друга страна, близките концентрации на CaO и Al_2O_3 в пробите от трите групи, показателни за източника на пясък, както и междинните стойности на всички останали оксиди в смесената група показват, че е по-вероятно тези проби да са произведени в резултат на рециклиране на стъкла, съдържащи природна сода и/или растителна пепел.

При съпоставяне на концентрацията на алкалните оксиди ($\text{Na}_2\text{O}+\text{K}_2\text{O}$) към концентрацията на алкалоземните оксиди ($\text{CaO}+\text{MgO}$) е определена рецептурната норма и е установено, че за производството на стъклата, съдържащи природна сода е използвана провинциална римска, а за останалите две групи – блискоизточна рецепта.

Определени са оксидите, използвани за оцветяване на стъклата. Синият и синьо-зеленият цвят се дължат на съдържанието на CoO или висока концентрация на FeO , стапяни в редукиционна атмосфера. Стапянето в окислителна среда води до окисление на Fe^{2+} до Fe^{3+} , който придава зелен звят на стъклата. Различните нюанси на кафяв цвят се дължат на висока концентрация на Fe_2O_3 и Mn_2O_3 . Обезцветяване на стъклото е постигано при използване на високи концентрации на MnO .

В резултат на изследванията са получени първите аналитични данни за стъклени мъниста, намерени в гръцката колония Аполония Понтика (днешен Созопол). Установено е, че най-древните стъклени находки в България са Na_2O - CaO - SiO_2 - Al_2O_3 -стъкла и са произведени в Близкия изток или в стъklarски работилници, разположени на о-в Родос.

Допълнени са знанията за стъклопроизводството в средновековна България. Получени са данни, които показват производството на Na_2O - CaO - SiO_2 -тип стъкла, едновременно използване на две рецептурни норми и три вида изходни суровини – природна сода, растителна пепел или рециклирано стъкло. Тези резултати отразяват комплексното влияние на блискоизточна, византийска и римска традиция в средновековното стъклопроизводство в България.

Изследванията на стъклените находки са проведени в института Йозеф Шефан в Любляна, Словения по време на специализация на В. Любомирова в рамките на програма, финансирана от МААЕ-Виена. Данни са представени на една международна конференция [Б28].

2. Определяне на елементен състав на археологически бронз [A15, Б27].

В публикация A15 са представени резултати от междулабораторно сравнително измерване на арсенов (брадва) и калаен (сърп) бронз, намерени в Североизточна България и датирани към бронзовата епоха. Пробите са нарязани на парчета с приблизително тегло 2 гр. и са разпределени в 11 лаборатории, в които е проведен елементен анализ с 10 инструментални метода – ED-XRF, TXRF, PIXE, ICP-AES, ICP-MS, LA-ICP-MS, AAS, INAA, PGAA (prompt-gamma neutron activation analysis) and SEM-EDX (scanning electron microscopy electron diffraction X-ray). В някои от лабораториите е използван повече от един метод, поради което са получени общо 16 резултата. Възможностите на използваните методи са сравнени по отношение на брой определяни елементи, необходимо количество проба и точност на аналитичните резултати. Проведени са тестове на Dixon и Iglewicz and Hoaglin за определяне на бегълци, които не са включени при изчисляване на средна стойност, стандартно отклонение и комбинирана стандартна неопределеност. Получените резултати показват, че броят на определените елементи варира в зависимост от използвания метод и за брадвата и сърпа са както следва: ED-XRF (6-9), TXRF (7-6), PIXE (7-8), ICP-AES (10-11), ICP-MS (15-15), LA-ICP-MS (14-14), FAAS (5-6), INAA (11-11), PGAA (2-4). Матричните компоненти Cu, As (брадва) и Sn (сърп) са определени с всички методи с

възпроизводимост под 1% (RSD) и в интервала 10-14% за As и Sn. Количественото определяне на микроелементи в концентрация под 0.1% е невъзможно или води до получаване на некоректни резултати с голяма част от използваните методи.

От получените резултати е направено заключението, че при приложението на основната част от методите за анализ на бронзови проби, независимо дали са деструктивни или недеструктивни, се получават статистически сравними резултати, особено за макроелементи. Броят на определените елементи зависи от използвания метод и концентрационните им нива. Това дава основание да се използват предходни резултати, стига те да са придружени с данни от анализ на подходящ СРМ.

Резултатите от това сравнително изследване са представени на една международна конференция [Б27] и има един забелязан цитат в Scopus. Приносът на В. Любомирова в изследването се изразява в ICP-MS и LA-ICP-MS измервания и участие в интерпретацията на резултатите.

3. Археомерични изследвания на златни находки [A19, B15, B20, B2].

В публикация A19 са описани резултатите от анализа на 10 проби от частите на златен венец, намерени при разкопки на тракийска надгробна могила близо до с. Кабиле, Ямболско. Концентрацията на макрокомпонентите Au, Ag и Cu е определена с ICP-AES, а концентрацията на 27 микрокомпонента: As, Bi, Cd, Co, Fe, Ga, Hg, In, Ir, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Re, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Te, Ti, U, W, Zn и Zr с ICP-MS.

Концентрацията на макрокомпонентите – Au (97.1 и 99.9 %), Ag (0.07 и 2.3 %) и Cu (0.005 и 0.8%) и ниските концентрации на микрокомпонентите са индикация, че изследваните находки са изработени от много чиста златна сплав, получена след рафиниране на природно злато, което обяснява изключително ниските концентрации на Te и Sb. Присъствието на Sn, въпреки ниските концентрации в интервала от 6 до 264 mg kg⁻¹ е показателно за произхода на златото, т.е. промиване на златоносни речни седименти. За някои елементи е наблюдавана относително висока нехомогенност, напр. концентрацията на Fe варира от 256 до 3396 mg kg⁻¹, на Pt от 43 до 129 mg kg⁻¹ и Pd от 15 до 109 mg kg⁻¹. Този резултат би могъл да се дължи на ефекта от частичното затапяне на някои от находките, поради високите температури по време на кремирането на погребания под могилата човек и изпаряване на някои от по-летливите елементи.

Отношенията на концентрациите на Pt към Pd и Pd/Pt към Ag/Au води до групиране на пробите в 4 групи, което показва, че за изработването на елементите на златния

венец са използвани 4 източника на злато. Потвърждение на това твърдение са близките концентрационни стойности на микрокомпонентите Sn, Te, Ti, Zn and Zr в съответните групи. На този етап не е възможно да се определят източниците на злато, поради липса на аналитични данни за концентрацията на ПМ в източници на злато в България.

В обобщение може да се посочи, че образците от златния венец от Кабиле са произведени от много добре рафинирано алувиално злато, произхождащо от различни източници на злато.

В доклади B15, B20 и B2 са представени предварителни резултати от анализа на златните находки от Варненския халколитен некропол, датиран в края на V - началото на IV хил. пр. Хр. С помощта на портативен XRF е определена концентрацията на Au, Ag и Cu в около 3000 златни проби. Според съдържанието на Ag и Cu, пробите са разделени на 23 групи. Получените концентрации са в границите, характерни за естествено присъстващи Ag и Cu в злато, въз основа на което е направено заключение, че основната част от находките са изработени от природно (алувиално) злато. Малка част от пробите (77) са изработени от електриум (концентрация на Ag над 20%), а три от тях показват високо съдържание на Cu (средни стойности: Cu: 35%, Ag: 14% и Au: 51%) и вероятно са изработени от най-старата сплав, произведена от древните майстори.

Изследванията на златните находки от Варненския халколитен некропол са проведени в рамките на проект, финансиран от Фонд „Научни изследвания”, МОН за периода 2009 - 2012 г., в който В. Любомирова е участник. Приносът на В. Любомирова е в участие в XRF анализа и провеждане на ICP-MS анализ за определяне на 28 микроелемента (As, Bi, Cd, Co, Fe, Ga, Hg, In, Ir, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Pt, Re, Rh, Ru, Sb, Se, Sn, Te, Ti, U, V, W, Zn и Zr) в 300 археологически находки и 50 проби от алувиално злато. Получените резултати се подготвят за публикуване. Резултатите са представени на две международни конференции [B15 и B20] и една научна сесия [B2] по време на специализация на В. Любомирова в Зайберсдорф, Австрия на тема „Развитие на методи за характеризирание, консервиране и опазване на предмети с културно-историческо значение”, финансирана от МААЕ-Виена.

В дисертацията за присъждане на образователната и научна степен „Доктор” са включени публикации [A1-A4]. Резултатите от изследванията в дисертационния труд са обобщени в автореферата [A5].

10.05.2016 г.

Валентина Любомирова