



АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация за присъждане на
образователната и научна степен “доктор”
Професионално направление 4.3 Биологични науки
Научна специалност “Микробиология”

БОЯНКА НИКОЛАЕВА АНГЕЛОВА

**Характеристика на микробиома при
комплексно изследване на фини прахови
частици (ФПЧ) в атмосферата на урбанизирани
градски райони и оценка на риска**

Научни ръководители: Доц. д-р Михаил Илиев
Проф. д-р Иван Недков

**София
2022**

Дисертационният труд е написан на **300** стандартни машинописни страници и съдържа следните раздели: **Увод** – 1 стр.; **Литературен обзор** – 64 стр.; **Цел и задачи** – 1 стр.; **Материали и методи** – 22 стр.; **Резултати и обсъждане** – 153 стр.; **Изводи** – 2 стр.; **Приноси** – 1 стр.; **Препоръки** – 1 стр. Включени са **112 фигури** и **44 таблици**. В литературната справка са отразени **641 заглавия**. Експерименталната работа е осъществена в лабораторията по „Геологична микробиология“ в Катедра „Обща и промишлена микробиология“. Лидарният мониторинг е осъществен с част от лидерите на ИЕ-БАН, а физикохимичното характеризиране на ФПЧ – в ИК-БАН.

Дисертационният труд е обсъден на разширено заседание на катедрата по „Обща и промишлена микробиология“, Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски“ проведено на 10.06.2022 г. и насрочен за защита пред научно жури, сформирани със заповед на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“.

Научно жури:

- 1. проф. д-р Петя Койчева Христова**
- 2. доц. д-р Анна Атанасова Томова**
- 3. проф. Елена Иванова Георгиева**
- 4. проф. дбн Мария Богомилова Ангелова**
- 5. проф. дбн Маргарита Стоянова Камбурова**

Защитата на дисертационният труд ще се състои на от часа в сградата на Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

Материалите, свързани със защитата се намират в катедра „Обща и промишлена микробиология“ и на сайта на Биологически факултет.

УВОД

Според Световната здравна организация замърсяването на въздуха представлява най-същественният рисков фактор за здравето на населението в Европейския съюз, свързан с околната среда.

В същото време основният научен интерес в продължение на десетилетия остава фокусиран предимно върху физичните и химични замърсители на въздуха, което силно лимитира познанията ни относно микробната контаминация във въздуха на открити пространства. Едва през последните години се налага схващането за комплексния характер на въздушните замърсявания, като усилията се насочват и към изследвания, свързани с установяване на качествения и количествения състав на асоциираната с праховите замърсявания микробна компонента, както и с мултифакторната обусловеност на нейната динамика. В резултат на тези усилия се полагат основите на сравнително нова тенденция за комплексни мониторингови проучвания, която има за цел да проследи зависимостта между качеството на въздуха, присъствието на различни замърсители (физични и химични), а също състава и концентрацията на микроорганизмите в изследваните райони. Особено актуални и важни са проучванията, касаещи въздуха над силно урбанизирани райони, тъй като замърсяването на въздуха обикновено засяга жителите на градовете в много по-голяма степен, отколкото жителите на селски райони. В микробната концентрация, състав, разпределение по размер и таксономична принадлежност на откриваните доминантни микробни видове в атмосферата в интензивно населена градска среда, се наблюдават изменения в зависимост от урбанизационните специфики на населеното място, географското разположение и климатичните характеристики. В същото време всяко едно от наличните към настоящия момент проучвания е реализирано в населени места, драстично отличаващи се по своите географски, климатични и антропогенни характеристики. Ето защо ускорените урбанизационни темпове на развитие на град София, налагат нуждата от задълбочени изследвания свързани с комплексния характер на замърсяването на въздуха, които могат да помогнат при вземането на правилни управленски решения за опазване на неговата чистота. Изследванията в настоящия дисертационен труд представляват стъпка, именно в тази насока.

ЦЕЛ И ОСНОВНИ ЗАДАЧИ

Основната цел на дисертационния труд е осъществяване на комплексно изследване на въздушната микробиота в силно урбанизирана централна част на град София, включващо провеждането на целогодишен количествен мониторинг върху нивата на биоаерозолната контаминация в подбрана локация, идентифициране на доминиращите микробни видове и пълно охарактеризиране на асоциираното прахово замърсяване.

Основни задачи

Осъществяване на пълномащабно целогодишно проучване за периода Май, 2020 -Април, 2021 върху количествената динамика на култивируемата бактериална и фунгиална биоаерозолна контаминация в избрана локация от централната градска част на град София.

- 1) Проследяване на сезонната, седмичната и целодневна динамика в числеността на микробното присъствие в избраната локация.
- 2) Качествен анализ на микробното присъствие и идентифициране на доминиращите микробни видове в изследваните въздушни проби.
- 3) Установяване на таксономичната принадлежност на доминиращите микробни видове чрез методите на класическата таксономична схема за идентификация.
- 4) Установяването на тоталното микробно разнообразие във въздуха на локацията чрез провеждането на метагеномен анализ.
- 5) Системно и комплексно характеризирание на фракциите (10 μm и под 10 μm) от ФПЧ в лидарно охарактеризираните аерозолни полета с описание на тяхната кристало-химична структура, разпределение по размер и морфология.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В настоящия дисертационен труд, обект на изследване се явява микробната биоаерозолна контаминация и асоциираното прахово замърсяване във въздуха над избрана локация, принадлежаща към силно урбанизираната централна част на град София. Точното местонахождение на локацията и нейните координати

са както следва: София, бул. Драган Цанков 8, GPS координати: 42°41'01.9"N, 23°19'58.3"E).

Количествен анализ на биоаерозолното присъствие

Продължителността на едногодишния мониторинг обхваща 54 седмици, с начало месец май 2020 г. и край - април 2021 г. За проследяване на дневния ход в динамиката на микробното въздушно замърсяване са подбрани 4 дни, принадлежащи към четирите годишни сезона в опробвания период: пролет-лято-есен-зима. За проследяване на седмичния ход в динамиката на микробното въздушно замърсяване са подбрани 4 седмици, принадлежащи към четирите годишни сезона в опробвания период: пролет-лято-есен-зима. В хода на експерименталната работа е извършван мониторинг в избрани дни, с определени метеорологични явления – мъгла, дъжд, снеговалеж и трансгранично прахово замърсяване.

При всяко едно отделно пробовземане са проследявани, както метеорологичните условия, така и концентрацията на основните замърсители на въздуха (<https://www.sinoptik.bg/sofia-bulgaria-100727011?location>; <https://platform.airthings-project.com/>, Nova PM sensor SDS011). Лидарният мониторинг над град София е осъществен с част от лидарите на Лидарната станция на Института по електроника при БАН.

При всяко едно от индивидуалните пробовземания е реализирана схема за количествен и качествен анализ на култивируемата микробиота от въздуха в изследваната локация. За събиране на биоаерозоли от въздуха и количественото им определяне е използван шест степенен каскаден импактор на Андерсен, модел FSC-A6 (Honri Air clean Technology Co., Ltd). Обект на количествения анализ са: общият брой хетеротрофни бактерии и общият брой плесенни гъби.

Качествен анализ на биоаерозолното присъствие

Обект на изследване са 248 чисти бактериални култури и 35 чисти фунгиални, култури, изолирани от 324 проби. Извършно е таксономично определяне по класическата схема за идентификация на бактерии и фунги.

Метагеномен анализ на биоаерозолното присъствие

Изолираната тоталната ДНК от две проби, събрани през топлата и студена част от годината е изпратена за секвениране от ново поколение (Next-generation sequencing) до Novogene Company Ltd (Cambridge, UK). Биоинформатичният анализ на получените секвенции е извършен от Novogene Company Ltd. Всички останали ефективни секвенции са анализирани с помощта на софтуера Uparse v7.0.1001.

Физикохимично характеризиране на ФПЧ

Физикохимично характеризиране на ФПЧ е осъществено в Института по Катализ – БАН. Използвани са: Емисионен спектрометър ICP-OES „Spectro Arcos“; рентгено-фазов и рентгеноструктурен анализ с използване на „TUR-M62“ с РС управление на гониометър HZG-3; Мьосбауеров спектрометър “Wissenschaftliche Elektronik GMBN, IR спектрофотометър “Nicolet 6700”, Thermo Electron Corporation, рентгенова фотоелектронна спектроскопия с “ESCALAB MkII -VG Scientific, сканиращ електронен микроскоп JEOL JSN 5510, Анализатор за размер на частици „Nano Brook 173.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. Количествен анализ на култивируемата микробиота

откривана във въздуха на избраната локация

Към настоящия момент реализираните в световен мащаб мониторингови проучвания, свързани с количественото присъствие на микроорганизми във въздухът над силно урбанизирани градски райони са изключително малобройни и оскъдни. Проведеният количествен анализ върху микробното присъствие в централната част на град София, се явява първото по рода си проучване в национален мащаб и едно от най-продължителните за територията на Европа

1.1. Месечна динамика в количествата на бактериалните

и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация

Установена е динамиката в нивата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация за всеки един месец от

обследваната пълна календарна година. Могат да бъдат направени следните заключения:

→ Наблюдава се изразена месечна динамика в нивата на проследяваните биоаерозоли, която е обусловена от географските и климатични особености на района. Град София, в чийто център е разположена локацията на пробовземане (БФ, СУ) се отличава със своя специфичен географски и климатичен профил. Това, което най-съществено отличава град София е надморската ѝ височина (550 м) и разположението ѝ в равнинната част (Софийско поле) на Софийската котловина, което обуславя честите температурни инверсии, фьоновите ветрове и дълготрайното задържане на гъсти мъгли.

→ Към настоящия момент липсват аналогични мониторингови проучвания в населени места, притежаващи сходни географски, климатични и антропогенни характеристики, което затруднява съпоставянето на получените в хода на мониторинговото изследване резултати относно месечната динамика в концентрацията на въздушната микробна контаминация.

1.2. Сезонна динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация

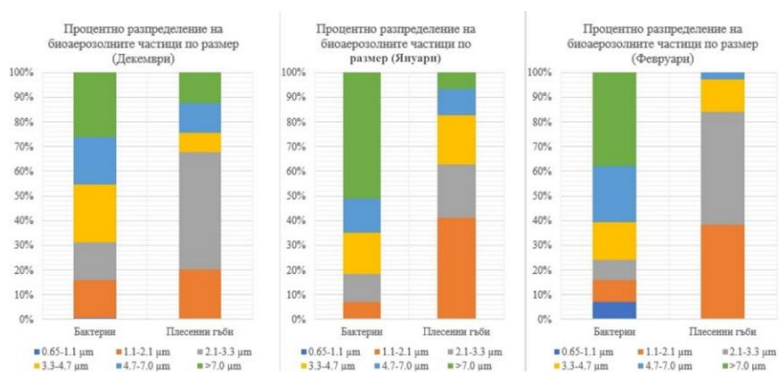
а) Резултати от изследването на количествения дял на изследваните групи – сезон Зима (Декември, 2020; Януари 2021; Февруари 2021)

През първия месец от периода (Декември, 2020) бактериалната биоаерозолна контаминация е силно редуцирана, като не се наблюдава съществена динамика в стойностите за целия месец – максимални стойности за месеца са отчетени през четвъртата седмица от декември – 141.0 CFU/m³. Отчетената фунгиална контаминация през същия месец, демонстрира аналогичен профил с максимални стойности, отчетени през третата седмица (21.0 CFU/m³).

Вторият месец от обследвания зимен период – м. Януари (2021 г.) също се характеризира с редукция в нивата на отчетената бактериална компонента (максимални стойности достигнати през 4-та седмица). Фунгиалната компонента през м. Януари също е ограничена, отново с отличаващ се пик в стойностите през 3-та седмица – 131.0 CFU/m³).

Последният месец от зимното тримесечие се характеризира с незначително покачване в отчетените стойности за бактериалната компонента, с отчетени максимални стойности през 4-та седмица – 40.0 CFU/m³. Фунгиалното биоаерозолно замърсяване през този месец също е редуцирано, като се отчита спад в количествения дял през 2-ра и 3-та седмица (14.0 и 16.0 CFU/m³) и покачване през последната седмица – 48.0 CFU/m³.

Интерес представляват данните за процентното разпределение на биоаерозолните частици (бактериално и фунгиално замърсяване) за съответния период на отчитане. Резултатите са показани на фиг. 1.



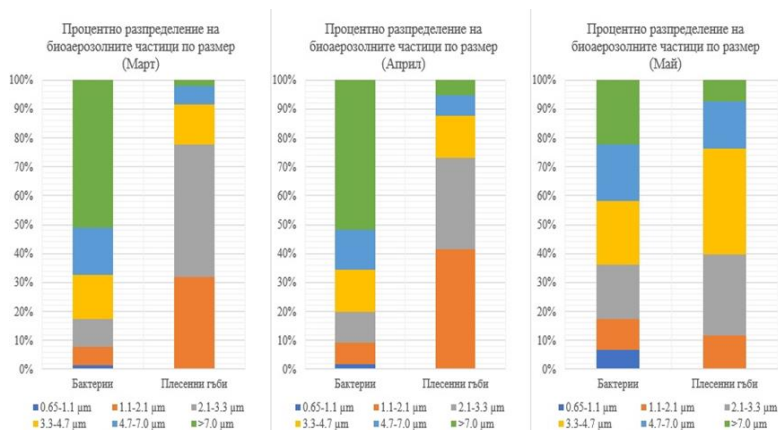
Фигура 1. Разпределение на микробналните биоаерозоли по размер – зимен сезон.

През зимните месеци от годината, редица мониторингови проучвания съобщават за ниски, но отличаващи се стойности на откриваното биоаерозолно присъствие – Циндао, Китай – 168.0 CFU/m³ (Li et al., 2011), Гданск, Полша – >20.0 CFU/m³ (Kruczalak et al., 2002), Гливице, Полша – 49.0 CFU/m³ (Bragoszewska and Pastuszka, 2018).

б) Резултати от изследването на количествения дял на изследваните групи – сезон Пролет (Март, 2021; Април, 2021; Май 2020)

Пролетният сезон се характеризира с повишаване в отчетените нива на микробнална въздушна контаминация. За месец Февруари бактериалната контаминация демонстрира плавно покачване с максимални отчетени

стойности през 4-та седмица – 44.0 CFU/m³. През същия месец се наблюдава изразена динамика в количеството на фунгиалната компонента – достигнат максимум за месеца през 1-ва седмица (192.0 CFU/m³). През вторият месец от периода – м. Април бактериалната контаминация регистрира слабо завишени нива спрямо предходния месец – максимални отчетени стойности през 4-та седмица – 47.0 CFU/m³. През първата седмица от месеца са отчетени и максимални за месеца стойности и при фунгиалните биоаерозоли – 177.0 CFU/m³. През последния за периода месец – м. Май се наблюдава значително завишение в количествата на бактериалната и фунгиална контаминация, с отчетени максимални стойности през 3та седмица – 720.0 CFU/m³ за бактериалната контаминация, респ. – 560.0 CFU/m³ за фунгиалната контаминация. Данните от разпределението на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър са представени на фиг. 2.



Фигура 2. Разпределение на микробналните биоаерозоли по размер – пролетен сезон.

Това, което съществено отличава пролетния сезон от предходния е вегетацията на растителността. Отрицателната корелация между степента на залесяване и количеството на биоаерозолите във въздуха е докладвана от редица автори (Song, 1999; Ју, 2003). Растителните масиви, поддържани на територията на населени места от една страна допринасят за повишение на микробното присъствие, чрез механично отделяне на контаминиращите техните

повърхности микроорганизми, но от друга имат и известен инхибиращ ефект върху откриваните във въздуха микроорганизми, който вероятно се дължи на отделяните летливи продукти от техния метаболизъм (Xie, 1999). Това потвърждават и данните, получени в избраната локация, обект на опробване в настоящата дисертация – локацията се явява граничеща с обширна паркова територия, растителността на която оказва подобен ефект през сезоните с активна вегетация.

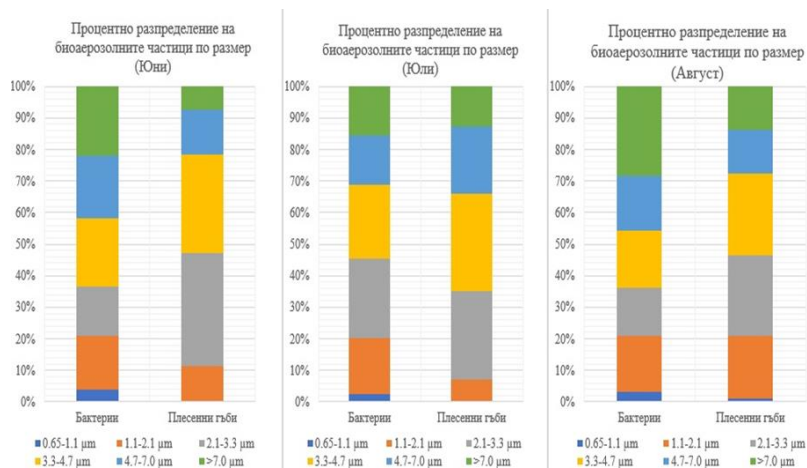
в) Резултати от изследването на количествения дял на изследваните групи – сезон Лято (Юни, 2020; Юли, 2020; Август, 2020)

През летния период на отчитане се регистрира значително повишение в нивата на микробната контаминация спрямо предходните сезони. През първия месец – м. Юни особено силно изразено е повишаването на фунгиалната контаминация – с максимални стойности, достигнати през 3-та седмица – 1579.0 CFU/m³. Повишението през месеца е значително спрямо предходните месеци и за бактериалната контаминация – достигнат максимум за месеца през 2-ра седмица от 269.0 CFU/m³. През месец Юли са отчетени пикови стойности за периода по отношение на фунгиалните биоаерозоли – достигнат максимум от 2666.0 CFU/m³. През месеца са регистрирани и максимални стойности за периода и при бактериалните биоаерозоли – отчетен максимум през 1-ва седмица от месеца – 1260.0 CFU/m³.

През месец Август се наблюдава понижение в нивата и при двата типа биоаерозоли спрямо предходния месец – достигнатите максимални стойности за бактериалната контаминация са през 1-ва и 4-та седмица – 120.0 CFU/m³, респективно през 1-ва седмица 451.0 CFU/m³ за фунгиалните биоаерозоли. Профилът на разпределението на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър за изследвания период от годината са представени на фиг. 3.

В сравнителен аспект, повишаване на въздушната контаминация през летните месеци е докладвано от редица автори (Gupta et al., 1993; D'Amato et al., 1983; Jones and Cookson, 1983; Takatori et al., 1994), но в същото време при някои от мониторинговите сезонни проучвания се наблюдава понижение в

концентрациите на бактериалните и фунгиални биоаерозоли (Filipello-Marchisio et al., 1992; Mullius et al., 1984).

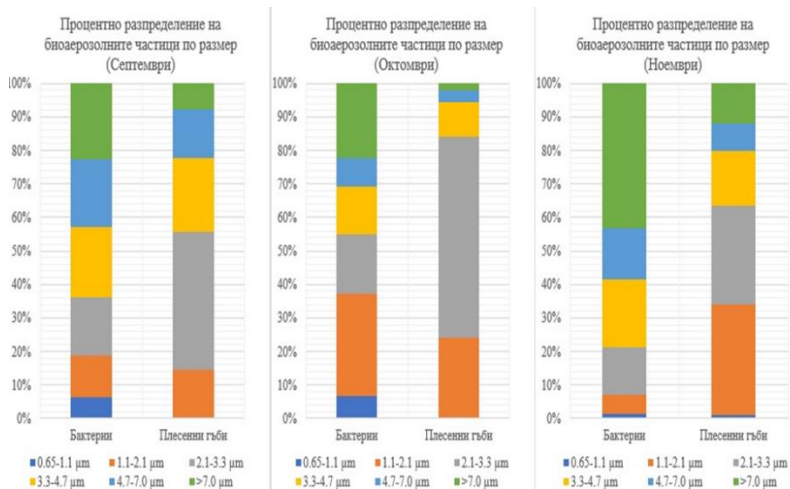


Фигура 3. Разпределение на микробналните биоаерозоли по размер – летен сезон.

г) Резултати от изследването на количествения дял на изследваните групи – сезон Есен (Септември, 2020; Октомври, 2020; Ноември, 2020)

През есенния период от годината се наблюдава повишение на микробната контаминация, спрямо предходния месец, като максимални за м. Септември стойности са отчетени за бактериалната контаминация през 3-та и 4-та седмица – 740.0 CFU/m³. През месеца е отчетено и повишение на фунгиалната контаминация спрямо м. Август – 712.0 CFU/m³ (3-та седмица). През м. Октомври се регистрира постепенна редукция в количеството на бактериалната контаминация – максимални отчетени стойности -300.0 CFU/m³. За същия период са отчетени пикови стойности в нивата на фунгиалната контаминация за цялата година – 4774.0 CFU/m³ са отчетени през 2-та седмица на м. Октомври. През последния месец от периода – м. Ноември се наблюдава редукция в отчетените нива и на двата типа биоаерозоли – при бактериалните биоаерозоли тя е по-слабо изразена – (328.0 CFU/m³ макс. стойности през 4-та седмица), докато при фунгиалните биоаерозоли намалението в количествено отношение е значително – (190.0 CFU/m³ през 1-ва седмица). Профилът на разпределението

на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър за изследвания период от годината са представени на фиг. 4.



Фигура 4. Разпределение на микробналните биоаерозоли по размер – есенен сезон.

На базата на получените резултати от сезонния мониторинг върху нивата на откриванатата във въздуха на локацията биоаерозолна контаминация може да бъде направено следното обобщение:

- Пролетният сезон се характеризира с повишаване в отчетените нива на микробнална въздушна контаминация, с особено силно изразена динамика в количеството на фунгиалната компонента.
- През първата половина на летния сезон се регистрира значително повишение в нивата на микробната контаминация спрямо пролетните месеци.
- В края на летния сезон се наблюдава понижение в нивата и на двата типа изследвани биоаерозоли.
- В началото на есенния сезон от годината се наблюдава повишение на микробната контаминация, спрямо края на летния сезон, последвано от съществена редукция в последния есенен месец.
- През зимния сезон микробната биоаерозолна контаминация е силно редуцирана, като не се наблюдава съществена динамика в стойностите за целия период.

1.3. Годишна динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация

На базата на ежеседмичните резултати от мониторинговото проучване, са получени осреднени месечни стойности на регистрираната численост на бактериалната и фунгиална микробна компонента в обследваната локация, което позволява да бъде проследена динамиката на числеността на изследваните групи микроорганизми в годишен аспект (фиг. 5).



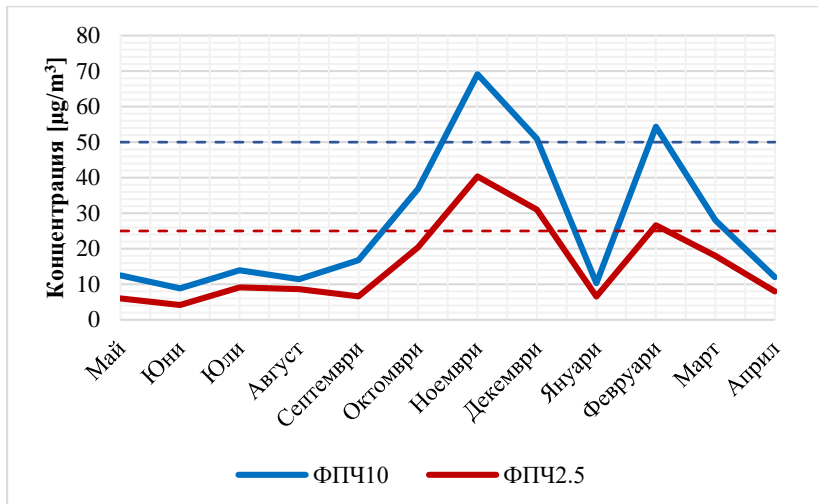
Фигура 5. Осреднени месечни стойности на бактериалната и фунгиална биоаерозолна контаминация (CFU/m^3), във въздуха на избраната локация.

Регистрира се отличаващ се ход в динамиката на числеността на изследваните групи микроорганизми – бактерии и фунги. Пикови стойности са отчетени за фунгиалната контаминация в месеците Юни, 2020; Юли 2020 и Октомври 2020, ($1181.0 CFU/m^3$; $1482.0 CFU/m^3$ и $1491.0 CFU/m^3$). Ниски нива в количествения дял на фунгите са отчетени през месеците Декември, 2020, Януари 2021 и Февруари, 2021 г., респ. $16.0 CFU/m^3$; $20.0 CFU/m^3$ и $31.0 CFU/m^3$.

Отчетеният ход в динамиката на бактериалната контаминация регистрира максимални стойности през месеците Май 2020, Юли 2020 и Септември 2020 ($401.0 CFU/m^3$; $495.0 CFU/m^3$ и $379.0 CFU/m^3$). Минимални нива на бактериална

контаминация във въздуха на изследваната локация са отчетени през месеците Януари и Февруари, 2021 г – съответно 58.0 CFU/m³ и 25.0 CFU/m³.

Годишната динамика в хода на регистрираната численост е сравнена с отчетената годишна динамика в концентрацията на праховото замърсяване (ФПЧ2.5/10.0), регистрирано в обследваната локация (фиг. 6).



Фигура 6. Осреднени месечни стойности на праховото замърсяване на въздуха в локацията (ФПЧ2.5/10.0)

В динамиката на праховото замърсяване на годишна база, са отчетени максимални стойности за месеците Ноември и Декември, 2020, както и втори пик през месеците Февруари и Март, 2021, респ. 69.12 µg/m³, 51.0 µg/m³ и 54.35 µg/m³, 28.0 µg/m³.

При съпоставяне на данните за осреднените месечни стойности на бактериалната и фунгиална контаминация спрямо осреднените месечни стойности на праховото замърсяване на въздуха в локацията, могат да бъдат направени следните изводи:

→ Регистрираните максимуми за бактериалната контаминация (Май, 2020, Юли 2020 и Септември 2020) и фунгиалната контаминация (Юни, 2020; Юли 2020 и Октомври 2020) не съвпадат напълно по време с първият пик на отчетени

максимални стойности на праховото замърсяване (Ноември и Декември, 2020). Частично припокриване се наблюдава в началото на отбелязваното повишение в концентрацията на праховото замърсяване – м. Октомври.

→ При втория максимум в стойностите на праховото замърсяване (Февруари и Март) отчетените нива на биоаерозолно присъствие са сравнително ниски поради неблагоприятните стойности на останалите абиотични фактори (температура, влажност и др.).

Паралелно с провеждането на микробиологичния мониторинг в локацията са отчитани и абиотични параметри на средата. Данните за осреднени месечни стойности са представени в таблица 1.

Таблица 1. Осреднени месечни стойности от абиотичните параметри на средата при мониторинговото проучване за периода Май, 2020 – Април, 2021 г.

	Май	Юни	Юли	Август	Септември	Октомври	Ноември	Декември	Януари	Февруари	Март	Април
T, °C	15.5	22.4	27.3	24.8	20.5	12.0	3.5	0.8	2.8	0.5	3.0	8.8
Вятър, m/s	5.2	2.9	3.1	4.5	1.9	0.8	0.8	1.2	6.3	1.7	1.9	4.6
Относителна влажност %	60.0	58.3	61.5	53.5	52.3	78.8	79.5	91.8	69.5	80.3	62.0	61.5
CO, mg/m ³	0.7	0.7	0.7	0.5	0.4	10.6	0.6	0.4	0.3	0.4	0.4	0.3
NO ₂ , µg/m ³	21.8	31.0	31.1	46.3	62.9	46.2	49.5	44.8	30.6	45.4	48.6	33.0
SO ₂ , µg/m ³	11.7	12.4	12.8	16.4	9.4	11.5	11.7	11.5	11.2	11.7	11.3	14.5
O ₃ , µg/m ³	39.4	67.3	68.5	67.9	279.6	36.8	19.7	16.2	17.3	21.1	22.5	33.1
UV индекс	6.5	7.3	9.5	8.0	6.0	3.5	2.0	1.5	1.0	2.3	3.0	4.5

Годишната динамика в концентрациите на откриваните във въздуха на локацията бактериални и фунгиални биоаерозоли в зависимост от изменението на проследяваните абиотични параметри на средата са представени на таблица 2.

Представени са осреднени стойности за всеки месец от четирите опробвания. Отбелязано е повишението/понижението (↑/↓) на стойностите спрямо предходния месец.

На базата на получените резултати от годишния мониторинг върху нивата на откриваната във въздуха на локацията биоаерозолна контаминация може да бъде направено следното обобщение:

Таблица 2. Годишната динамика в концентрациите на биоаерозолите в зависимост от изменението на проследяваните абiotични параметри

Повишение/намаление в количеството на откриваните биоаерозоли (↑↓) при изменение на стойностите на абiotичните фактори на средата (↑↓) спрямо предходния месец																	
Бактериални биоаерозоли (CFU/m ³)	372,0	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Фунгиални биоаерозоли (CFU/m ³)	517,0	↑	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
ФПЧ10 (µg/m ³)	12,5	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
ФПЧ2.5 (µg/m ³)	6,0	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
Температура (°C)	15,5	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Относителна влажност (%)	60,0	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑
O ₃ (µg/m ³)	39,4	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
CO (mg/m ³)	0,7	—	—	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
NO ₂ (µg/m ³)	21,8	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
SO ₂ (µg/m ³)	11,7	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Вятър, (m/s)	5,2	↓	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
UV индекс	6,5	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Месец	V* 2020	V1 2020	VII 2020	VIII 2020	IX 2020	X 2020	XI 2020	XII 2020	I 2021	II 2021	III 2021	IV 2021					

↑ – измерена максимална стойност на фактора; ↓ – измерена минимална стойност на фактора;

* – стойности, измерени през първия месец от мониторинговото проучване

- Годишната динамиката в числеността на проследяваната бактериална и фунгиална биоаерозолна компонента е изключително динамична и е отражение на спецификите в географските и климатични характеристики на град София.
- Пикови стойности са отчетени за фунгиалната контаминация в месеците Юни, 2020; Юли 2020 и Октомври 2020, (1181.0 CFU/m³; 1482.0 CFU/m³ и 1491.0 CFU/m³). Ниски нива в количествения дял на фунгите са отчетени през месеците Декември, 2020, Януари 2021 и Февруари, 2021 г., респ. 16.0 CFU/m³; 20.0 CFU/m³ и 31.0 CFU/m³.
- Отчетения ход в динамиката на бактериалната контаминация регистрира максимални стойности през месеците Май, 2020, Юли 2020 и Септември 2020, (401.0 CFU/m³, 495.0 CFU/m³ и 379.0 CFU/m³). Минимални нива на бактериална биоаерозолна контаминация във въздуха на изследваната локация са отчетени през месеците Януари и Февруари, 2021 г. – съответно 58.0 CFU/m³ и 25.0 CFU/m³.

1.4. Дневна динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация

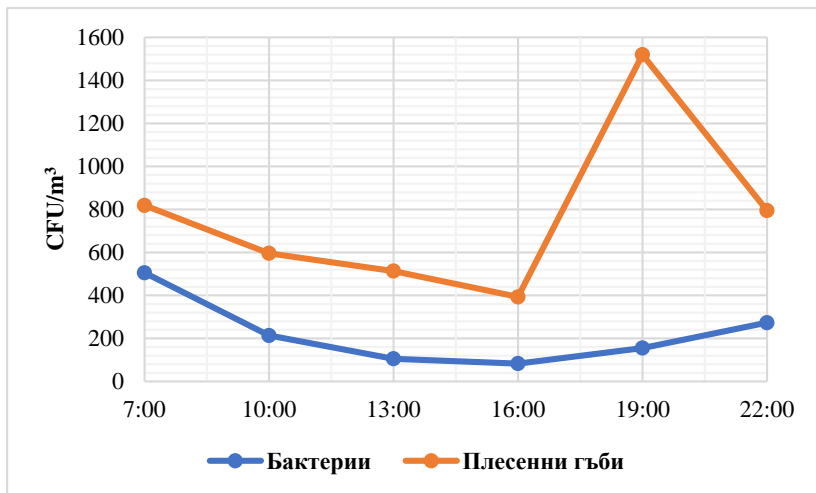
Паралелно с провеждания годишен микробиологичен мониторинг са осъществени проучвания върху дневния часови ход на микробналната контаминация през различни дни от годината, с типични за различните сезонни абиотични параметри на средата.

Подбраните дни са, както следва: **1)** 30.07.2020 (летен сезон); **2)** 06.11.2020 (есенен сезон); **3)** 30.12.2020 (зимен сезон); **4)** 31.03.2021 (пролетен сезон).

а) Дневен мониторинг върху нивата на микробна контаминация във въздуха на локацията, летен сезон (30.07.2020)

Избран е предпоследният ден от месец Юли. През месеца са отчетени пикови стойности за периода на годишното мониторингово проучване по отношение на фунгиалните биоаерозоли – достигнат максимум от 2666.0 CFU/m³. През месеца са регистрирани и максимални стойности за периода и при бактериалните биоаерозоли – отчетен максимум – 1260.0 CFU/m³.

Дневния ход в концентрациите на проследяваните във въздуха на локацията биоаерозоли е представен на фиг. 7.



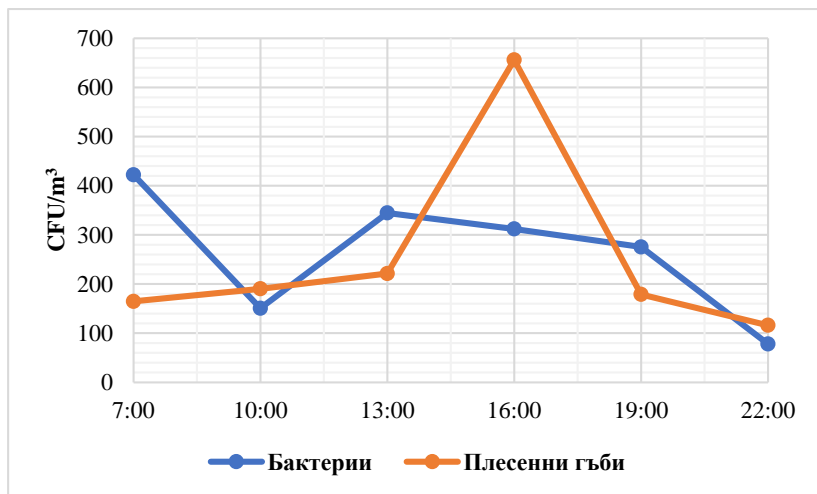
Фигура 7. Дневен ход в концентрациите на микробните биоаерозоли (30.07.2020)

През първия интервал на опробване (7:00 ч.) се отчитат сравнително високи стойности за микробната контаминация. Бактериална биоаерозолна контаминация е 506.0 CFU/m³. Това ниво на бактериално биоаерозолно присъствие е близко до отчетеното средно за месец Юли, 2020 г – 465.0 CFU/m³. През същия интервал отчетеното фунгиално биоаерозолно присъствие е 819.0 CFU/m³ (при средни стойности за месеца 1482.0 CFU/m³). През следващите три интервала на отчитане (10:00 ч.; 13:00 ч. и 16:00 ч.) динамиката в концентрациите на двата типа изследвани биоаерозола е сходна. С повишаването на температурата, концентрацията на озон и UV индекса, както и с намаляване на относителната влажност на въздуха и интензитета на автомобилния трафик и при двата типа биоаерозоли се наблюдава плавна редукция с достигане на минимални за деня стойности към 16:00 ч. През следващите два интервала в следобедния и вечерен часови пояс настъпва повишаване в отчитаните стойности за микробна присъствие във въздуха на локацията. Особено силно изразено е повишението в концентрацията на

фунгиалните биоаерозоли, с достигане на дневен максимум към 19:00 ч. – 1520.0 CFU/m³. В последният часови интервал, съвпадащ с настъпването на нощта отново се наблюдава понижение, като се отчитат стойности от 795.0 CFU/m³. Повишение се отчита и при бактериалните биоаерозоли, което продължава до последния интервал на опробване (22:00 ч.), когато са отчетени стойности от 273.0 CFU/m³. във въздуха на локацията, летен сезон.

б) Дневен мониторинг върху нивата на микробна контаминация във въздуха на локацията, есенен сезон (06.11.2020)

Дневният мониторинг за есенния сезон е проведен на 06.11.2020 г. През м. Ноември се наблюдава редукция в отчетените нива и на двата типа изследвани биоаерозоли. Понижението е по-слабо изразено за бактериалните биоаерозоли, докато при фунгиалните биоаерозоли намалението в количествено отношение е значително. Дневния ход в концентрациите на проследяваните във въздуха на локацията биоаерозоли е представен на фиг. 8.



Фигура 8. Дневен ход в концентрациите на микробните биоаерозоли (06.11.2020)

През конкретния ден на опробване – 06.11.2020 г. във въздуха на локацията са отчетени сравнително високи стойности на микробна контаминация,

надвишаващи средните месечни стойности (средна месечна стойност 217.0 CFU/m³, бактериални биоаерозоли; 95.0 CFU/m³, фунгиални биоаерозоли).

Отчетената бактериална биоаерозолна контаминация през първия часови интервал (7:00 ч.) е 422.0 CFU/m³. При второто опробване за деня в 10:00 се регистрира съществено понижение – 151.0 CFU/m³. През обедните часови интервали отново се наблюдава повишение, като отчетените нива се запазват сравнително постоянни до предпоследния интервал на отчитане (19:00 ч.). С настъпването на вечерта се наблюдава редукция, достигаща минимум за деня от 78.0 CFU/m³ при последното опробване в 22:00 ч.

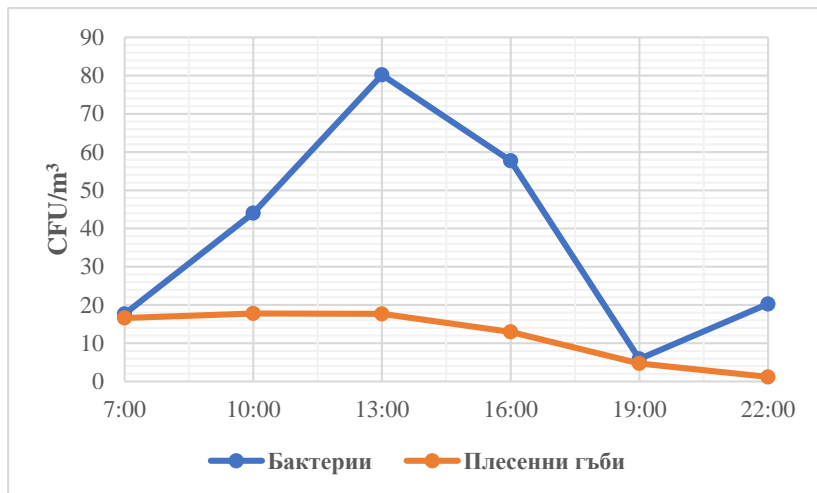
Отчетената дневна динамика в количественото присъствие на фунгиални биоаерозоли демонстрира отличаващ се ход. След сравнително ниските нива при първите за деня опробвания (165.0 CFU/m³, 7:00 ч и 190.0 CFU/m³, 10:00 ч.), в ранния следобед се отчита рязко повишаване в концентрацията на фунгиално присъствие във въздуха на локацията, достигащо максимална за деня стойност от 656.0 CFU/m³ (16:00 ч.). При последните часови интервали на опробване се отчита значително намаление в концентрацията на фунгиалните биоаерозоли, които достигат дневен минимум в 22:00 – 78.0 CFU/m³.

в) Дневен мониторинг върху нивата на микробна контаминация във въздуха на локацията, зимен сезон (30.12. 2020)

Дневният мониторинг, имащ за цел разкриването на динамиката в числеността на изследваните биоаерозоли през зимния период е проведен на 30.12.2020 г. През месец Декември в района на локацията се регистрира значително завишение в нивата на прахово замърсяване, като и съществена редукция в концентрациите на двата типа изследвани биоаерозола.

В началния часови интервал (7:00 ч.) се отчитат ниски нива на бактериална биоаерозолна контаминация – 18.0 CFU/m³, при средни месечни стойности – 85.0 CFU/m³ (фиг. 9). През следващите два интервала, се наблюдава съществено завишение на концентрацията на бактериалните биоаерозоли, като е достигната пикова за деня стойност в 13:00 ч (80.0 CFU/m³). След достигане на дневния максимум следва понижение, като при опробването в 19:00 ч. е отчетена минимална дневна стойност – 6.0 CFU/m³. Спрямо този интервал, при

последното опробване се наблюдава слабо повишение в концентрацията на бактериалните биоаерозоли – 20.0 CFU/m³.



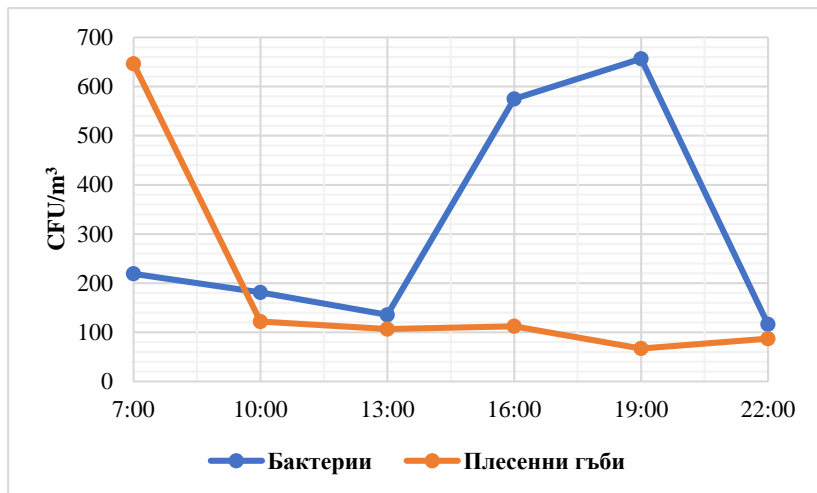
Фигура 9. Дневен ход в концентрациите на микробните биоаерозоли (30.12.2020)

При фунгиалните биоаерозоли, откривани във въздуха на локацията се наблюдава отличаваща се динамика. Началното ниво на фунгиална контаминация, отчетено при първото пробовземане в 7:00 ч. съвпада със средномесечните стойности – 18.0 CFU/m³. През по голямата част от деня не се наблюдава промяна в количеството на отчетената фунгиална контаминация. При последните два интервала на отчитане се регистрира понижение, достигащо минимална дневна стойност – 1.0 CFU/m³ при пробовземането, извършено в 22:00 ч.

г) Дневен мониторинг върху нивата на микробна контаминация във въздуха на локацията, пролетен сезон (31.03.2021).

Проследяването на дневната динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли е осъществено на 31.03.2021 г. През месеца се отчита повишение в нивата и на двата типа изследвани биоаерозола спрямо предходните зимни месеци от мониторинговото проучване. Дневния ход в

концентрациите на проследяваните във въздуха на локацията биоаерозоли е представен на фиг. 10.



Фигура 10. Дневен ход в концентрациите на микробните биоаерозоли (31.03.2021)

Отчетените начални нива в концентрациите на двата изследвани типа биоаерозола (7:00 ч.) демонстрират значително преобладаване на фунгиалното присъствие във въздуха на локацията – 646.0 CFU/m³ в сравнение с бактериалната биоаерозолна контаминация – 219.0 CFU/m³. При следващото опробване в 10:00 ч. се наблюдава съществена редукция в концентрацията на фунгиалните биоаерозоли (122.0 CFU/m³) докато понижението в бактериалното присъствие е значително по-слабо изразено – 181.0 CFU/m³. Концентрациите и на двата типа изследвани биоаерозола се запазва на същите нива и при опробването в 13:00 ч. През втората половина от деня, динамиката в концентрациите на бактериалните и фунгиални биоаерозоли е различна – наблюдава се рязко повишение в количеството на бактериалните биоаерозоли (дневен максимум 657.0 CFU/m³, 19:00 ч.), същевременно нивата на фунгиална контаминация се запазва ниска с достигане на минимум за деня в 19:00 ч. (67.0 CFU/m³). При последното опробване в 22:00 ч. концентрациите и на двата типа биоаерозоли във въздуха на локацията е сравнително ниска. Отчетен е дневен

минимум по отношение на концентрацията на бактериалните биоаерозоли – 116.0 CFU/m³.

Отчетената дневна динамика в концентрациите на изследваните бактериални и фунгиални биоаерозоли през различните сезони от годината демонстрира отличаващ се профил (табл. 3).

Таблица 3. Сравнение на дневната динамика на концентрацията на бактериалните и фунгиални биоаерозоли през различните сезони на годината

	CFU/m ³	7:00	10:00	13:00	16:00	19:00	22:00
Лято	Бактерии	506.0	↓	↓	↓	↑	↑
	Фунги	819.0	↓	↓	↓	↑	↓
Есен	Бактерии	422.0	↓	↑	↓	↑	↓
	Фунги	165.0	↑	↑	↑	↓	↓
Зима	Бактерии	18.0	↑	↑	↓	↓	↑
	Фунги	17.0	↑	↑	—	↓	↓
Пролет	Бактерии	219.0	↓	↓	↑	↑	↓
	Фунги	646.0	↓	↓	↑	↓	↑

В обедния интервал на отчитане (13:00 ч) продължава едновременното понижение в концентрациите на двата типа биоаерозола през летния и пролетния сезон. В същия часови пояс през есента и зимата се отчита повишение и при двата типа биоаерозоли (с достигнати максимални дневни стойности през зимния сезон).

В 16:00 ч. през летния сезон се регистрират дневни минимуми в концентрациите и на двата типа биоаерозоли. През есенния сезон нивата на бактериалните биоаерозоли се понижават, докато при фунгиалните биоаерозоли се отчитат максимални дневни стойности. Подобна е динамиката през същия часови интервал и през зимния сезон, докато през пролетта в следобедните часове се наблюдава повишение и при двата типа изследвани биоаерозола.

В 19:00 ч. през летния сезон отново се наблюдава покачване в отчетените стойности, като при фунгиалните биоаерозоли се регистрира дневен максимум. За същия часови интервал през есенния сезон повишение спрямо предходния интервал се регистрира за бактериалните биоаерозоли, докато фунгиалните биоаерозоли намаляват своята концентрация. Към 19:00 ч. през зимния сезон се отчита значително понижение спрямо предходния интервал и при двата типа биоаерозоли, като фунгиалните биоаерозоли достигат минимална дневна стойност. За същия интервал през пролетта, при бактериалните биоаерозоли се

отчита дневен максимум, докато фунгиалните биоаерозоли достигат минимални нива за деня.

При последния интервал на отчитане (22:00 ч.) през летния сезон продължава повишението в нивата на бактериалните биоаерозоли, докато фунгиалните биоаерозоли намаляват след максималното им присъствие в предишния интервал на отчитане. За същия часови пояс през есенния сезон и при двата типа изследвани биоаерозола се отчитат минимални дневни стойности на концентрацията. През зимния сезон към 22:00 ч. бактериалните биоаерозоли се покачват слабо, докато при фунгиалните биоаерозоли се достигат минимални дневни стойности. През пролетния сезон към 22:00 ч. се отчитат минимални дневни стойности при бактериалните биоаерозоли, а при фунгиалните се наблюдава незначително повишение спрямо предишния интервал на отчитане.

На базата на получените резултати от мониторинга върху дневният ход в нивата на откриваната във въздуха на локацията биоаерозолна контаминация може да бъде направено следното обобщение:

→ Концентрациите на изследваните биоаерозоли във въздуха на локацията се променят часоно, в пряка връзка с абиотичните параметри на средата.

→ Промените в концентрациите на биоаерозолите, отразяват цикличността на антропогенния натиск в локацията. Установяват се значително високи нива в сутрешните часове, последвани от редуция и задържане в стойностите в обедните часове. В следобедните часове се наблюдава отново повишение в биоаерозолните концентрации.

→ Дневната кинетика е с подчертано сезонен характер, обусловен от типичните за всеки сезон климатични фактори, както и активностите на населението.

1.5. Седмична динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация

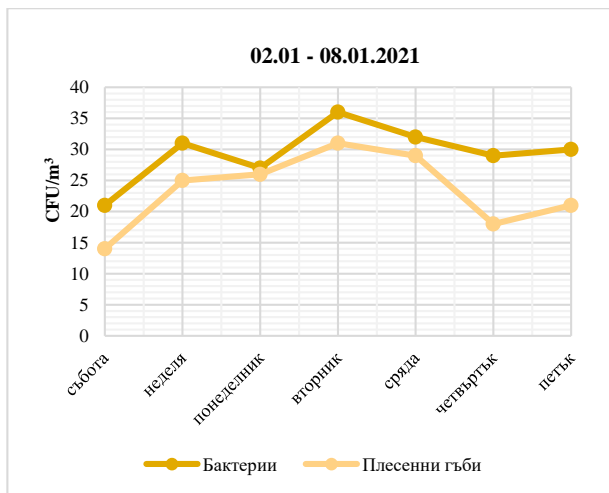
Комплексният характер на абиотичните и биотични фактори в силно урбанизираната градска среда, в каквата е позиционирана основната локация на пробовземане, се намира в пряка връзка с количествения профил на въздушната микробна контаминация. Това наложи проследяването на седмичния ход в

динамиката в концентрациите на бактериалните и фунгиални биоаерозоли, поради различния интензитет на градския живот (автомобилен и пешеходен трафик, битови, строителни и ремонтни дейности) през различните дни на седмицата.

За опробване са подбрани 4 пълни седмици от четирите годишни сезона – пролет, лято, есен и зима, за да бъдат изяснени сезонните различия в седмичния ход на микробната контаминация. Всичките четири седмици на опробване са последващи на дневният сезонен мониторинг. Подбраните седмици на опробване са както следва: 1) Зимен сезон: 02.01 – 08.01.2021 г. 2) Пролетен сезон: 03.04 – 09.04.2021 г. 3) Летен сезон: 01.08 – 07.08.2020 г. 4) Есенен сезон: 07.11 – 13.11.2020 г.

a) Седмична динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация - зимен сезон, 02.01 – 08.01.2021 г.

През м. Януари в локацията на опробване се наблюдава значителна редукция в числеността и на двете изследвани групи микроорганизми. Седмичният мониторинг, осъществен в 14:00. Резултатите са представени на фиг. 11.



Фигура 11. Седмичен ход в нивата на микробна контаминация, зимен сезон

При първото опробване (02.01., Събота) се регистрират сравнително ниски нива на микробна контаминация, под средните месечни стойности (57.0 CFU/m³, бактерии/ 20.0 CFU/m³, фунги): бактериална биоаерозолна контаминация – 21.0 CFU/m³, фунгиална биоаерозолна контаминация – 14.0 CFU/m³. През следващият почивен ден (03.01., Неделя) се наблюдава покачване в концентрациите и на двата типа биоаерозоли, които достигат 31.0 CFU/m³, респ. 25.0 CFU/m³. Денят съвпада с края на дългата серия от почивни дни, свързани с новогодишните празници и през втората му половина входящия в столицата трафик е изключително интензивен.

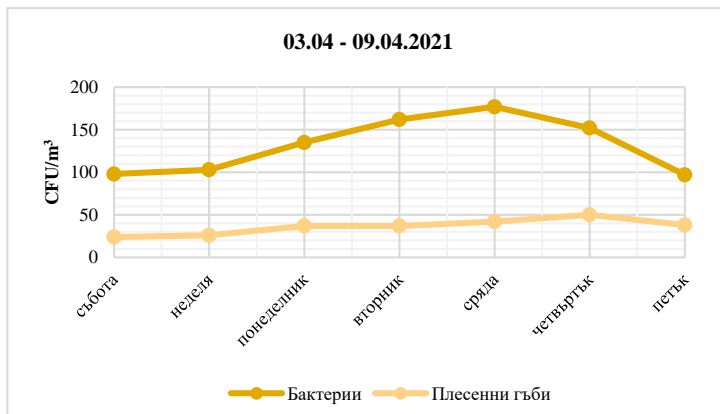
През първия работен ден от седмицата (04.01., Понеделник) се отбелязва понижение в нивата на микробна контаминация, но стойностите се запазват по високи от установените през първия от почивните дни – 27.0 CFU/m³, респ. 26.0 CFU/m³.

Измерените нива на бактериална и фунгиална биоаерозолна контаминация във Вторник (05.01.) представляват седмичните максимуми по отношение и на двата типа биоаерозоли – 36.0 CFU/m³, респ. 31.0 CFU/m³. В следващите два работни дни от седмицата (Сряда и Четвъртък) отново се наблюдава понижение в концентрациите на изследваните биоаерозоли, което е по силно изразено за фунгиалната контаминация. В Петък, 07.01. нивата на бактериална и фунгиална контаминация се повишават, което би могло да бъде свързано с интензивния изходящ трафик по повод предстоящите почивни дни.

б) Седмична динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация – пролетен сезон, 03.04 – 09.04.2021 г.

С настъпването на пролетния сезон, през месец Април нивата на установявана във въздуха на локацията микробна биоаерозолна контаминация се повишават в сравнение с предходните зимни месеци – отчитат се средни месечни стойности от 111.0 CFU/m³, респ. 99.0 CFU/m³. Дневният мониторинг, осъществен на 31.03.2021 г. показва достигане на максимални стойности на биоаерозолните концентрации в ранните следобедни часове. По тази причина за

час на опробване при седмичния мониторинг е избран 14:00 ч. Резултатите са представени на фиг. 12.



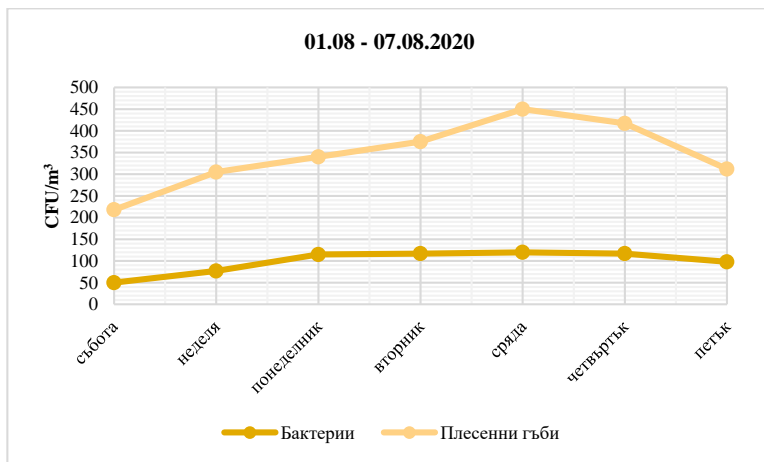
Фигура 12. Седмичен ход в нивата на микробна контаминация, пролетен сезон

Количествения профил на двата типа изследвани биоаерозоли е съществено сходна седмична динамика: по-ниски нива през почивните дни и постепенно покачване през работните дни от седмицата. Тази тенденция е ясно изразена при бактериалните биоаерозоли.

В първия от почивните дни (03.04., Събота) се отчита съществена разлика по отношение на двата типа биоаерозоли – по-висока концентрация за бактериалните биоаерозоли (98.0 CFU/m³), близка до средната за месеца и по-ниска концентрация на фунгиалните биоаерозоли (24.0 CFU/m³). Незначително повишение се регистрира през втория почивен ден (04.04., Неделя) и при двата типа биоаерозоли – 103.0 CFU/m³, респ. 26.0 CFU/m³. Началото на работната седмица започва с повишение, както на бактериалната биоаерозолна контаминация, така и на фунгиалната. Повишението продължава, като бактериалната контаминация достига седмичен максимум в Сряда, 07. 04. (177.0 CFU/m³). Максимална фунгиална биоаерозолна контаминация се отчита в Четвъртък, (08.04) – 50.0 CFU/m³. През последния работен ден (09.04, Петък) се наблюдава слабо понижение в стойностите, но те се запазват на по-високи нива в сравнение с нивата от почивните дни от седмицата.

в) Седмична динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация – летен сезон, 01.08 – 07.08.2020 г

През месец Август се наблюдава понижение в нивата и при двата типа биоаерозоли спрямо предходния месец, дължащо се на голяма степен на неблагоприятните абиотични параметри, като високи дневни температури, висок UV индекс, ниска относителна влажност. Проведеният на 30.07. дневен мониторинг показва повишение в концентрациите на двата типа изследвани биоаерозоли в по-късните часове на деня. По тази причина в конкретната седмица на опробване, избраният час е 19:00. Резултатите са представени на фиг. 13.



Фигура 13. Седмичен ход в нивата на микробна контаминация, летен сезон

Проведеният седмичен мониторинг демонстрира отличаващ се количествен профил по отношение на двата типа изследвани биоаерозоли със значително по-изразена динамика при фунгиалната контаминация, в сравнение с бактериалната.

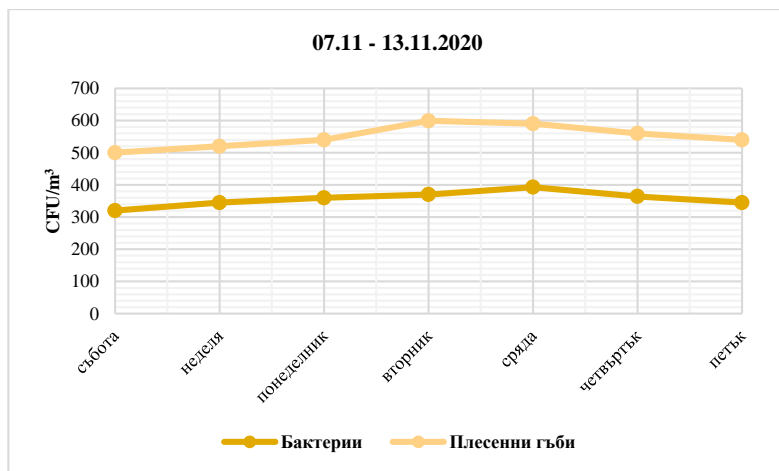
През първия от почивните дни (01.08) установената бактериална биоаерозолна контаминация е значително по-ниска от средномесечната стойност: (50.0 CFU/m³, при средна стойност за месеца 101.0 CFU/m³). При фунгиалната биоаерозолна контаминация отчетените стойности също са по-

ниски от средномесечните стойности – (218.0 CFU/m³, при средна стойност за месеца 298.0 CFU/m³). Във втория от почивните дни (02.08., Неделя) се наблюдава слабо повишение и при двата типа изследвани биоаерозола – 77.0 CFU/m³, респ. 305.0 CFU/m³. През останалата част от седмицата профила на бактериалната и фунгиална контаминация във въздуха на локацията се различава съществено. Бактериалните биоаерозоли достигат седмичен максимум от 120.0 CFU/m³ в Понеделник (03.08), като през останалите работни дни се наблюдава задържане на нивото и слабо понижени в последния работен ден (07.08), когато се отчита концентрация 98.0 CFU/m³. При фунгиалната биоаерозолна контаминация се наблюдава по-съществено изразена седмична динамика: регистрира се повишение през първите работни дни от седмицата, което достига максимална стойност в Сряда (05.08) – 450.0 CFU/m³. В последните два работни дни от седмицата отново се наблюдава редуция достигаща до 312.0 CFU/m³ в Петък. Цялата седмица на опробване съпада с началото на ваканционния летен период, през който градския автомобилен и пешеходен трафик е силно редуциран, за сметка на усилените ремонтни дейности на градската инфраструктура на открито.

з) Седмична динамика в количествата на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха на избраната локация – есенен сезон, 07.11 – 13.11.2020 г.

През м. Ноември се наблюдава редуция в отчетените нива и на двата типа изследвани биоаерозоли. Понижението е по-слабо изразено за бактериалните биоаерозоли, докато при фунгиалните биоаерозоли намалението в количествено отношение е значително. През избраната за седмичен мониторинг първа седмица от месеца регистрираните нива на микробна контаминация са над средномесечните стойности. Дневният мониторинг, осъществен на 06.11.2020 г. показва достигане на максимални стойности на биоаерозолните концентрации в ранните следобедни часове.

По тази причина за час на опробване при седмичния мониторинг е избран 14:00 ч. През цялата седмица нивата се регистрират повишени нива на прахово замърсяване във въздуха на локацията. Резултатите са представени на фиг. 14.



Фигура 14. Седмичен ход в нивата на микробна контаминация, есенен сезон

В първия почивен ден (07.11. Събота) се отчитат сравнително високи нива на микробна контаминация във въздуха на локацията: 320.0 CFU/m³, респ. 500.0 CFU/m³.

Незначително повишение се отбелязва през втория почивен ден (08.11., Неделя) – 345.0 CFU/m³, респ. 520.0 CFU/m³. През работните дни от седмицата динамиката в хода на концентрацията е слабо изразена и при двата типа изследвани биоаерозола. Достигнат е седмичен максимум от 393.0 CFU/m³ на бактериалната биоаерозолна контаминация във Вторник, като на следващия ден е регистриран и седмичния максимум в нивото на фунгиалната биоаерозолна контаминация – 599.0 CFU/m³. Към края на работната седмица се отчита понижение и при двата типа биоаерозола, но нивата се запазват по-високи от отчетените през почивните дни. Седмицата съвпада с период на сравнително студено време, поради което входящия/изходящ трафик от столицата във връзка с почивните дни е сравнително слаб.

На базата на получените резултати от мониторинга върху седмичния ход в нивата на откриваната във въздуха на локацията биоаерозолна контаминация може да бъде направено следното обобщение:

→ Седмичната динамика в концентрациите на изследваните биоаерозоли, независимо от сезона, е обусловена до голяма степен от антропогенните дейности – покачване в стойностите в началото на работните дни, достигане на максимални стойности в средата на седмицата, редукция към края на работната седмица. В последния работен ден и първия от почивните дни се наблюдава вторичен пик в дневната концентрация.

→ Два типа изследвани биоаерозоли демонстрират отличаващ се профил по отношение на дневните концентрации през обследваната седмица. През лятото и есента, бактериалните биоаерозоли достигат максимална концентрация във Вторник, докато пика на фунгиалното присъствие във въздуха на локацията е изместен към Сряда и Четвъртък.

→ Поради неблагоприятните условия за пътуване през зимния сезон, установената седмична динамика и при двата типа биоаерозоли е отличаваща се от демонстрираната през останалите сезони.

1.6. Мониторинг върху концентрацията на бактериалните и фунгиални

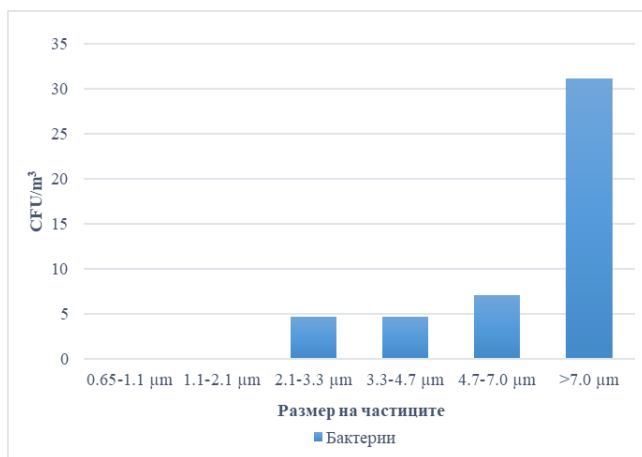
биоаерозоли във въздуха на локацията в дни с определени метеорологични явления – мъгла, дъжд, снеговалеж и трансгранично прахово замърсяване.

Метеорологичното време е съвкупността от метеорологични явления, които се случват в атмосферата на дадено място и в даден момент от времето. Определени метеорологични явления могат да оказват съществено влияние върху количествения дял на микробната въздушна компонента и са в пряка връзка с нейното повишение, респ. редукция. По тази причина в хода на годишното мониторингово проучване са подбрани дни с изразена проява на конкретни метеорологични явления, както следва:

1.7.1 Мъгла, 22.02.2021 г.

За 22.02.2021 г. на територията на град София е обявен жълт код за гъста мъгла. Видимостта в района на локацията е изключително ограничена – до 50.0 m. През деня се отчита повишено прахово замърсяване, надхвърлящо значително измерените средномесечни стойности – 147.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ФПЧ10 (средномесечна стойност – 54.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), респ. – 63.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ФПЧ2.5

(средномесечна стойност – 22.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). По отношение на установеното микробно присъствие: отчита се повишена стойност на бактериалната биоаерозолна контаминация (48.0 CFU/ m^3), в сравнение със средномесечните стойности от мониторинговото проучване – 25.0 CFU/ m^3 . Фунгиалната биоаерозолна контаминация отсъства във въздуха на локацията, което се наблюдава през цялата последна седмица от месец февруари. Данните за разпределението на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър за 22.02.2021 г. са представени на фиг. 15.



Фигура 15. Разпределение на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър по време на мъгла.

В подбратия ден профила на разпределение по размер на бактериалните биоаерозолни частици показва доминиращ дял на частици с размери над 7.0 μm (40%), следвани от частици с размери 4.7 – 7.0 μm . Не се улавят биоаерозолни частици с размери 0.65 – 1.1 μm и 1.1 – 2.1 μm . 15% от всички уловени бактериални биоаерозолни частици са с размери 2.1 – 3.3 μm .

1.7.2. Дъжд, 21.01.2021 г.

Избран за опробване е деня 21.01.2021 г. За периода 19.01 – 21.01.2021 г. на територията на град София преобладава предимно облачно време със

значителни превалявания от дъжд. Опробването е осъществено в 12:00 ч., един час след спирането на валежите.

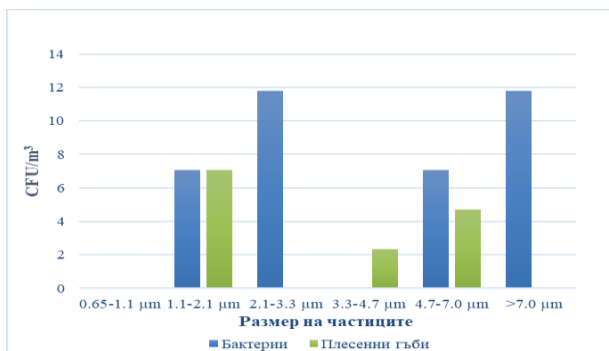
След спиране на валежа, по време на опробването са отчетени ниски нива на прахово замърсяване във въздуха на локацията – $1.59 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ФПЧ10 (средномесечна стойност – $10.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$), респ. – $0.57 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ФПЧ2.5 (средномесечна стойност – $6.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$). В същото време в района на локацията се регистрира наличие на вятър, достигащ скорост от 7.2 m/s .

Отчетените нива на микробна биоаерозолна контаминация за деня на опробване са както следва:

- бактериална биоаерозолна контаминация – $38.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$. Тази измерена концентрация е по-ниска от средната концентрация при опробванията за месец Януари ($57.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$). Значителна е редуцията спрямо нивата от предходната седмица на опробване (преди началото на валежната обстановка в района на локацията) ($131.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$).

- фунгиална биоаерозолна контаминация – $14.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$. Наблюдава се повишение спрямо предходната седмица от мониторинговото проучване за месеца ($2.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$), но в същото време отчетената концентрация е по-ниска от средната стойност от месечните опробвания ($20.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$).

Данните за разпределението на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър за 21.01.2021 г. са представени на фиг. 16.



Фигура 16. Разпределение на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър след дъжд.

Независимо от значителното количество дъжд в часовете преди опробването, профила на разпределение на бактериалните биоаерозолни частици по големина не се отличава съществено от наблюденията през месец януари. Доминиращ дял имат частиците с размери над $7.0 \mu\text{m}$ и $2.1 - 3.3 \mu\text{m}$, следвани от частици с размери $4.7 - 7.0 \mu\text{m}$. Не се улавят бактериални биоаерозолни частици на нивата с размери на порите $0.65 - 1.1 \mu\text{m}$ и $3.3 - 4.7 \mu\text{m}$.

Профила на разпределение по размер на частиците при фунгиалните биоаерозоли също не се различава от наблюденията през месец януари. Отсъстват частици с размери над $7.0 \mu\text{m}$, както и такива с размери $2.1 - 3.3 \mu\text{m}$ и $0.65 - 1.1 \mu\text{m}$. Доминиращ е дяла на частици с размери $1.1 - 2.1 \mu\text{m}$, следвани от частици с размери $4.7 - 7.0 \mu\text{m}$.

1.7.3. Снеговалеж, 13.01.2021 г.

На територията на град София на 12.01. започва интензивен снеговалеж, който довежда до натрупването на снежна покривка от 7.0 cm през следващите 24 часа. Опробването е извършено на 13.01.2021 един час след спирането на снеговалежа в района на локацията.

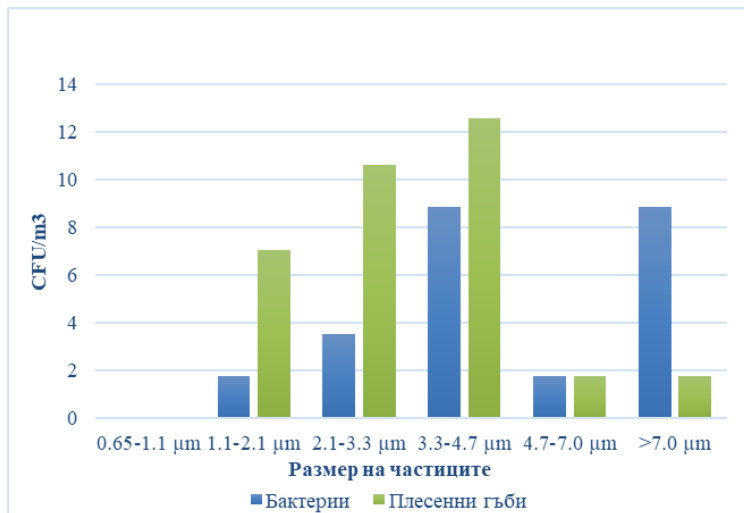
В деня на опробване е отчетено сравнително високо ниво на замърсяване с ФПЧ10 – $23.97 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (средномесечна стойност – $10.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$), както и с ФПЧ2.5 – $9.04 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (средномесечна стойност – $6.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Денят е от серията студени дни в началото на месеца, като отчетената дневна стойност на температурата е 0°C . Вятърът в района на локацията е сравнително слаб – 5.7 m/s . Наблюдавана е ниска, плътна облачност през целия ден.

Отчетените нива на микробна биоаерозолна контаминация за деня на опробване са както следва:

- бактериална биоаерозолна контаминация – $25.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$. Тази измерена концентрация е по-ниска от средната концентрация при опробванията за месец Януари ($57.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$). Значителна е редуцията спрямо нивата от предходната седмица на опробване (преди началото на валежната обстановка в района на локацията) ($131.0 \text{ CFU}/\text{m}^3$).

- фунгиална биоаерозолна контаминация – 34.0 CFU/m³. Наблюдава се значително повишение спрямо предходната седмица от мониторинговото проучване за месеца (2.0 CFU/m³), като установената концентрация е по-висока и от средната стойност от месечните опробвания (20.0 CFU/m³).

Данните за разпределението на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър за 13.01.2021 г. са представени на фиг. 17.



Фигура 17. Разпределение на биоаерозолните частици по аеродинамичен диаметър след снеговалеж.

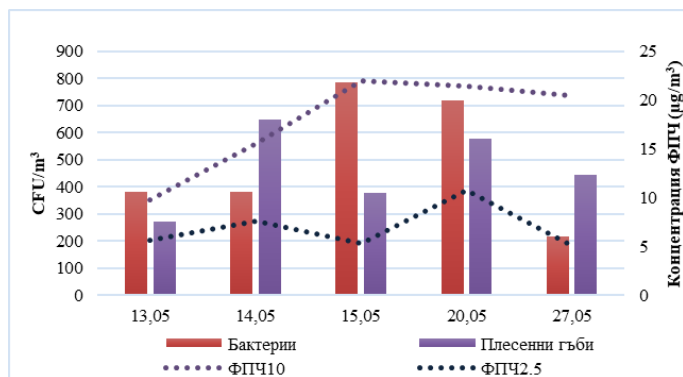
Бактериалната биоаерозолна компонента демонстрира характерния за втората седмица от м. Януари профил на разпределение по големина на биоаерозолните частици. Количествено преобладават частици с размери 3.3 – 4.7 μm и частици над 7.0 μm. Не се улавят частици с размери 0.65 – 1.1 μm. Сравнително нисък е дела на частиците с размери 1.1 – 2.1 μm и 4.7 – 7.0 μm.

При фунгиалните биоаерозоли също не се наблюдава съществена разлика по отношение на профила на разпределение на техните частици по големина – доминират частици с размери 3.3 – 4.7 μm, следвани от частици с размери 2.1 – 3.3 μm. Висок е също дела на частици с размери 1.1 – 2.1 μm. Присъствие на фунгиални биоаерозолни частици с размер 0.65 – 1.1 μm не се отчита.

1.7.4. Трансграничен пренос на прахово замърсяване, 13.05. – 27.05.2020 г.

През периода 13 – 27 май 2020 г. на територията на република България се наблюдава интензивен пренос на въздушни маси, движещи се в посока Северна Африка – Балкански полуостров. Топлият въздушен поток е свързан с преноса на аерозолни частици и пясък от Сахара. Най-изразените ефекти от трансграничното замърсяване в страната се отчитат на 14 и 15 май. За съответния период са подбрани 5 дни на опробване, което започва на 13.05 и продължава до 27.05. включително. През обследвания времеви период се наблюдава изразена динамика по отношение на абиотичните параметри в района на локацията. Повишението в концентрацията на ФПЧ10 достига своя максимум (22.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) на третият ден – 14.05, докато максимални стойности за концентрацията на ФПЧ2.5 (10.77 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) се регистрират по-късно, 20.05. И при двата типа прахови частици, отчетените стойности надвишават регистрираните средни стойности за месеца при мониторинговото проучване – 22.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ за ФПЧ10.0 и 6.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ за ФПЧ2.5. Преносът на прахово замърсяване е съпроводен със силен югозападен вятър, свързан с повишение на дневните температури – с достигнат максимум за периода от 27°C на 15.05. В този ден е отчетена и най-ниска относителна влажност на въздуха в района на локацията – 26%.

На фиг. 18 е представена динамиката в концентрациите на двата типа изследвани биоаерозола.



Фигура 18. Динамиката в концентрациите на микробните биоаерозоли във въздуха на локацията в дни с изразено прахово замърсяване.

През първите два дни от периода на опробване, концентрацията на бактериалната биоаерозолна контаминация е близка до средната за месеца отчетена стойност – 383.0 CFU/m³ (средномесечна стойност 372.0 CFU/m³). Регистрира се повишение в концентрациите на прахови частици, което е по-силно изразено за ФПЧ10: 10.0 µg/m³ (13.05) – 15.6 µg/m³ (14.05). При опробването на 15.05 се установява максимум в концентрацията на бактериалната биоаерозолна контаминация – 785.0 CFU/m³, което съвпада с отчетения максимум на праховото замърсяване (ФПЧ10.0) – 22.0 µg/m³. На 20.05 се наблюдава незначително повишение на бактериалната биоаерозолна контаминация – 785.0 CFU/m³ (отчетен максимум на ФПЧ2.5 – 10.77 µg/m³). При последното опробване за конкретния период (27.05) отчетените нива на бактериална контаминация са под средните стойности за месеца – 785.0 CFU/m³. Стойностите на ФПЧ10 във въздуха на локацията се запазват сравнително високи – 21.0 µg/m³, докато концентрацията на ФПЧ2.5 се понижават под средните месечни стойности – 5.0 µg/m³. Подобна е и динамиката по отношение на концентрацията на фунгиалната биоаерозолна контаминация: при първия ден е отчетена стойност – 274.0 CFU/m³, значително по-ниска от средната месечна стойност (517.0 CFU/m³). На 14.05 е достигнат максимум за периода 649.0 CFU/m³, последван от понижение на следващия ден – 380.0 CFU/m³. С регистрирането на максимално за периода прахово замърсяване от ФПЧ2.5 отново се наблюдава повишение в концентрацията на фунгиалната контаминация – 577.0 CFU/m³. При последното опробване на 27.05 отчетената фунгиална контаминация е по-ниска от средната за месеца.

На базата на получените резултати от мониторинга проведен в дни с изразени метеорологични явления (мъгла, дъжд, сняг, трансгранично прахово замърсяване) може да бъде направено следното обобщение:

→ Повишеното съдържание на прахови частици през мъгливите дни оказва влияние върху нивата на микробно и фунгиално присъствие във въздуха, което се изразява в повишаване в концентрацията на бактериалните биоаерозоли.

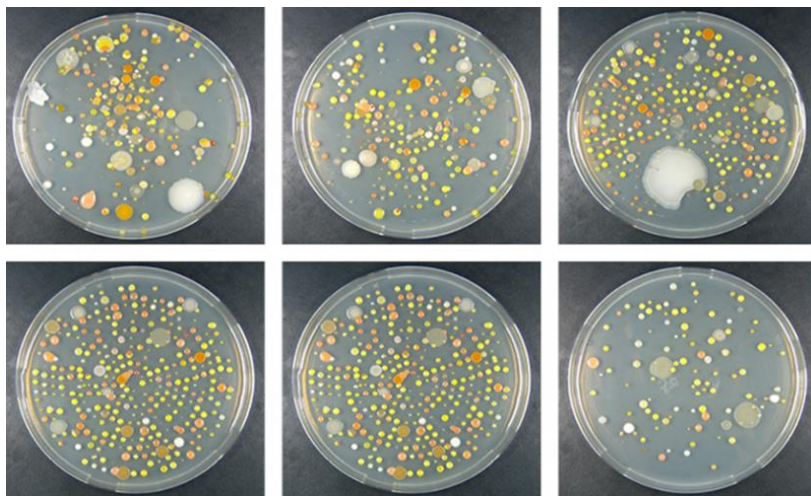
→ Снеговалежите и дъждовете са свързани с редукция в отчетените нива и при двата типа биоаерозоли, като са отчетени стойности, по-ниски от средномесечните стойности.

→В дни с установен трансграничен пренос на прахово замърсяване, количеството на бактериалните и фунгиални биоаерозоли във въздуха в района на обследваната локация се повишава.

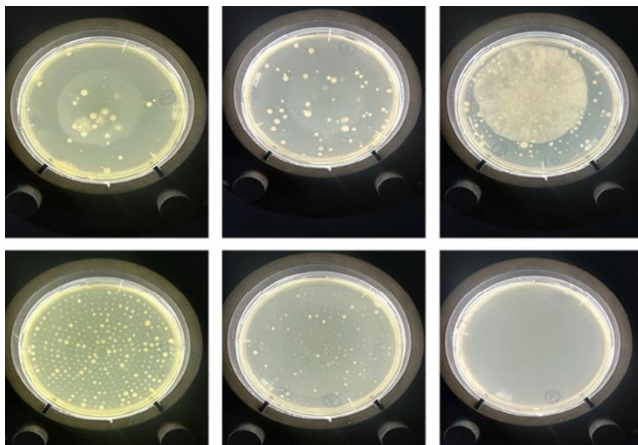
2. Идентификация на доминиращите микроорганизми в биоаерозолните замърсявания във въздуха на локацията чрез методите на класическата таксономия

Съществен елемент от изследванията на микробното разнообразие във въздуха на избраната локация е изолирането на чисти култури от култивируеми микроорганизми (бактерии и фунги) и определянето на техния таксономичен статус. За изолиране на чисти култури от доминиращите във въздуха на локацията микроорганизми са използвани пробите, аспирирани посредством каскадния импактор на Андерсен в продължение на целия мониторингов период (05.2020 – 04. 2021 г.) (фиг. 19 и 20).

Обект на изследване са проби от общо 54 седмични пробовземания (по 6 петрита с хранителна среда МПА и 6 петрита с хранителна среда YGC за всяко пробовземане). Обработени са общо 648 проби за целия времеви интервал на изследването.



Фигура 19. Примерен изглед на петрита с МПА (каскаден импактор, нива 1-6, 07.2020 г.), използвани за изолиране на чисти бактериални култури.



Фигура 20. Примерен изглед на петрита с YGC (каскаден импактор, нива 1-6; 05.2020 г.), използвани за изолиране на чисти култури от фунги.

Чрез прилагането на методите за изолиране на чисти култури от избраните единични колонии и проверка за чистотата им, са изолирани общо 283 микробни изолата (248 бактериални изолата и 35 гъбни изолата).

2.1. Идентификация на бактериалните изолати

Таксономичната принадлежност на изолираните чисти култури е осъществена по схема, съгласно последното издание на идентификационния определител – *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (2000). Актуалният таксономичен статус е констатиран на базата на *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (2015).

а) Зимен сезон, месеци: Декември 2020, Януари 2021, Февруари 2021

Обект на идентификация са общо 65 изолата: м. Декември (24 изолата с означения D1-D24); м. Януари (20 изолата с означения Z1-Z20); м. Февруари (21 изолата с означения F1 – F21). По отношение на Грам-статуса 44 от изследваните изолати са определени като Грам (+), 21 от изолатите са Грам (-).

При 45 от изследваните изолати се установява пръчковидна форма на клетката. При 8 изолата се наблюдава клетъчна формация – стафилококи (D11, D12, D13, D14, D20, Z7, F14, F15). Изолати D4, D15, Z2, Z8, Z20, F7 са определени като диплококи (общо 6 изолата). При три изолата е установена

разклоняваща се морфология на клетките – D5, D7 и F16. На базата на получените резултати от проведеният таксономичен анализ, подобрите бактериални изолати от зимния сезон могат да бъдат систематично отнесени както следва – резултатите са представени в Таблицы 4 и 5:

Таблица 4. Таксономичен статус на подобрите Грам (+) изолати, зимен сезон

Грам положителни изолати		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
D3, D16, D23, Z3, Z6, Z15, Z17, Z19, F2, F5, F9, F12	Род <i>Bacillus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Bacillales/ Bacillaceae</i>
D10, D24, F3	Род <i>Microbacterium</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
D18, D21, Z4, F1, F17	Род <i>Arthrobacter</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
D22, Z11, Z18	Род <i>Cellulomonas</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Micrococcales/ Cellulomonadaceae</i>
Z12, Z16,	Род <i>Gordonia</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Corynebacteriales/ Nocardiaceae</i>
F11, F13	Род <i>Aeromicrobium</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Propionibacteriales/Nocardioideaceae</i>
D9, D13, F14	Род <i>Staphylococcus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Bacillales/ Staphylococcaceae</i>
D11, D12, D20, F4, F7	Род <i>Micrococcus</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Micrococcales/ Micrococcaceae</i>
Z1, Z7, Z2, Z20	Род <i>Aerococcus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Lactobacillales/ Aerococcaceae</i>
D14, Z8	Род <i>Enterococcus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Lactobacillales/ Enterococcaceae</i>
D5	Род <i>Streptomyces</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Streptomycetales/ Streptomycetaceae</i>
D7, F16	Род <i>Actinomyces</i>	<i>Actinobacteria/ Actinobacteria/ Actinomycetales/ Actinomycetaceae</i>

Таблица 5. Таксономичен статус на подобрите Грам (-) изолати, зимен сезон.

Грам отрицателни изолати		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
D1, D8, Z10, F8, F21	Род <i>Pantoea</i>	<i>Proteobacteria/ Gammaproteobacteria/ Enterobacteriales/ Enterobacteriaceae</i>
D2, Z9, F18	Род <i>Acinetobacter</i>	<i>Proteobacteria/ Gammaproteobacteria/ Pseudomonadales/ Enterobacteriaceae</i>
D6	Род <i>Ralstonia</i>	<i>Proteobacteria/ Betaproteobacteria/ Burkholderiales/ Burkholderiaceae</i>
D19, F6	Род <i>Sphingomonas</i>	<i>Proteobacteria/ Alphaproteobacteria/ Sphingomonadales/ Sphingomonadaceae</i>
D17, Z5, Z13, F10, F20, Z14	Род <i>Pseudomonas</i>	<i>Proteobacteria/ Gammaproteobacteria/ Pseudomonadales/ Pseudomonadaceae</i>
F19	Род <i>Enterobacter</i>	<i>Proteobacteria/ Gammaproteobacteria/ Enterobacteriales/ Enterobacteriaceae</i>
D15, D4, F15	Род <i>Paracoccus</i>	<i>Proteobacteria/ Alphaproteobacteria/ Rhodobacteriales/ Rhodobacteraceae</i>

б) Пролетен сезон, месеци: Март 2021, Април 2021, Май 2020

За идентификация на доминантната бактериална контаминация във въздуха на локацията през пролетния сезон от мониторинговото проучване, са подбрани общо 58 изолата, както следва: м. Март (24 изолата, означения МТ1-МТ24); м. Април (14 изолата, означения А1 – А14); м. Май (20 изолата, означения М1 – М20).

42 от изследваните бактериални изолата са Грам (+), 16 от изолатите са Грам (-). Пръчковидна форма е установена при 30 от изследваните изолати. 16 от изолатите са с коковидна форма. Изолати МТ1, МТ23, М1, М6 и М15 са с нишковидна морфология на клетката. По отношение на микроформациите: 5 от изолатите (МТ16, МТ21, М2, М8, М20) са диплококи, 3 от изолатите (МТ22, М3 и М16) са тетракоки, 3 от изолатите (А2, М17 и М19) са определени като стафилококи.

На базата на получените резултати от проведенният таксономичен анализ, подбраните бактериални изолати от пролетния сезон могат да бъдат систематично отнесени както следва – резултатите са представени в таблици б и 7.

Таблица 6. Таксономичен статус на подбраните Грам (-) изолати, пролетен сезон.

Б. Грам отрицателни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
МТ4, МТ11, МТ19, АРР9, М14	Род <i>Pseudomonas</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Pseudomonadales/Pseudomonadaceae</i>
МТ16, МТ21, АРР7	Род <i>Paracoccus</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/Rhodobacterales/Rhodobacteraceae</i>
МТ7, МТ17	Род <i>Sphingomonas</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/Sphingomonadales/Sphingomonadaceae</i>
МТ18, МТ20	Род <i>Pantoea</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>
МТ14, М18	Род <i>Ralstonia</i>	<i>Proteobacteria/Betaproteobacteria/Burkholderiales/Burkholderiaceae</i>
МТ24, АРР6	Род <i>Enterobacter</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>

Таблица 7. Таксономичен статус на подобраните Грам (+) изолати, пролетен сезон.

А. Грам положителни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
MT3, MT5, MT8, MT9, MT15, APR4, A4, M11	Род <i>Bacillus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Bacillales/ Bacillaceae</i>
MT6, APR2, APR3, A3, M4, M5, M8	Род <i>Kocuria</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Micrococcaceae</i>
MT13, APR8, M2, M7, M17	Род <i>Micrococcus</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Micrococcaceae</i>
A1, M2, M19, M20	Род <i>Staphylococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Bacillales/Staphylococcaceae</i>
M10, M9, M13	Род <i>Gordonia</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae/</i>
MT22, M3, M16	Род <i>Aerococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Lactobacillales/Aerococcaceae</i>
MT2, MT12, APR1	Род <i>Arthrobacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
MT23, M1	Род <i>Streptococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Lactobacillales/Streptococcaceae</i>
MT1, M6	Род <i>Rhodococcus</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae</i>
A4	Род <i>Rathayibacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
APR5	Род <i>Exgiobacterium</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Bacillales/ incertae Sedis - Family III</i>
M12	Род <i>Cellulomonas</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Cellulomonadaceae</i>
M10	Род <i>Enterococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Lactobacillales/Enterococcaceae</i>
M15	Род <i>Nocardia</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae</i>

в) Летен сезон, месеци: Юни 2020, Юли 2020, Август 2020

За периода обект на изследване са общо 54 бактериални изолата, доминантно откривани при мониторинговите опробвания на въздуха в района на локацията. За месец Юни са подобрани 24 изолата, с означения J1-J24. През месец Юли са подобрани 24 изолата с означения JL1 -JL 24, съответно за м. Август 6 изолата (AT1 -AT6).

37 от общия брой изолати от периода са Грам (+). Групата на Грам-отрицателните е от 17 изолата. При 39 от изолатите се наблюдава пръчковидна форма на клетката, докато коковидни са 13 от изолатите. При изолати JL13 и JL24 се установява филиментозна морфология на клетката. По отношение на

наблюдаваните микроформации – тетради (JL13 и JL23), стафилококи (J3, J19, J22, JL4, JL18, JL20), стрептобацили (J6).

В групата на изследваните изолати 44% от тях са Грам (+) с пръчковидна форма, 28% са Грам (-) пръчковидни. На трета позиция се Грам положителните изолати с коковидна форма. Слабо застъпени са Грам отрицателните коковидни изолати, както и изолатите с нишковидна клетъчна форма.

На базата на получените резултати от проведенният таксономичен анализ, подобрените бактериални изолати от пролетния сезон могат да бъдат систематично отнесени както следва – резултатите са представени в Таблицы 8 и 9.

Таблица 8. Таксономичен статус на подобрените Грам (+) изолати, летен сезон.

А. Грам положителни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
J1, J2, J5, J6, J9, J14, JL1, JL7, JL16, JL17	Род <i>Bacillus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Bacillales/Bacillaceae</i>
J4, J10, JL2, JL5, JL22	Род <i>Gordonia</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Corynebacteriales/Nocardiaceae/</i>
J7, J16, J22, J23	Род <i>Micrococcus</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Micrococcales/Micrococcaceae</i>
J8, J11, JL8, AT1	Род <i>Arthrobacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Micrococcales/Microbacteriaceae</i>
J17, JL4, JL11	Род <i>Kocuria</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Micrococcales/Micrococcaceae</i>
JL9, JL18, JL20	Род <i>Staphylococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Bacillales/Staphylococcaceae</i>
J18, JL10	Род <i>Rathayibacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Micrococcales/Microbacteriaceae</i>
J13, J24	Род <i>Streptomyces</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Streptomycetales/Streptomycetaceae</i>
JL12	Род <i>Exgiobacterium</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Bacillales/incertae Sedis - Family III</i>
J19	Род <i>Aerococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Lactobacillales/Aerococcaceae</i>
JL3	Род <i>Microbacterium</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Micrococcales/Microbacteriaceae</i>
JL21	Род <i>Aeromicrobium</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/Propionibacteriales/Nocardioideaceae</i>

Таблица 9. Таксономичен статус на подобраните Грам (-) изолати, летен сезон

Б. Грам отрицателни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
JL6, JL14, AT2, AT3, AT5	Род <i>Enterobacter</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>
J15, JL13, JL19	Род <i>Acinetobacter</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Pseudomonadales/Moraxellaceae</i>
J20, J23, AT4	Род <i>Pantoea</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>
JL21, JL24	Род <i>Pseudomonas</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/Pseudomonadales/Pseudomonadaceae</i>
JL15, AT6	Род <i>Sphingomonas</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/Sphingomonadales/Sphingomonadaceae</i>
J3, J12	Род <i>Paracoccus</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/Rhodobacterales/Rhodobacteraceae</i>

з) Есенен сезон, Месеци: Септември 2020, Октомври 2020, Ноември 2020

През есенния сезон по време на провеждания количествен микробиологичен мониторинг, за определяне на таксономична принадлежност са подбрани 71 бактериални изолата, доминантно откривани при седмичните опробвания. Изолатите са както следва: м. Септември (24 изолата, S1 – S24); м. Октомври (23 изолата, O1 – O23); м. Ноември (24 изолата, N1 – N24).

51 от изследваните изолати са Грам (+), като Грам (-) са 20 от изолатите. Пръчковидна форма се установява при 42 от изолатите, коковидна при 20 и филаментозна клетъчна морфология при 9 от изолатите. По отношение на микроформациите – 7 изолатите (S21, O8, O16, O20, O22, N8, N14) са стафилококи, 3 изолата (O2, O6 и N3) са диплококи, 2 изолата (N12 и N21) – тетракоки, 2 изолата (O21 и O23) – стрептобацили.

В изследваната група изолати, преобладаващ дял имат Грам положителните изолати с пръчковидна форма – 39%, следвани от Грам положителните изолати с коковидна форма – 20% и Грам-отрицателните пръчки – 20%. Изолатите с нишковидна морфология са 13%. Най-малък е дялът на Грам отрицателните бактерии с коковидна форма – 8%.

На базата на получените резултати от проведения таксономичен анализ, подобраните бактериални изолати от пролетния сезон могат да бъдат систематично отнесени както следва – резултатите са представени в Таблицы 10 и 11.

Таблица 10. Таксономичен статус на подобрните Грам (+) изолати, есенен сезон.

А. Грам положителни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
S3, S5, S11, S13, S22, S24, O10, O11, O14, O15, O21, O23, N1, N16, N23	Род <i>Bacillus</i>	<i>Firmicutes/ Bacilli/ Bacillales/ Bacillaceae</i>
S9, S19, O19, N10, N19	Род <i>Arthrobacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
S6, S7, O2, O22, N2	Род <i>Micrococcus</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Micrococcaceae</i>
S21, O16, N11, N21	Род <i>Staphylococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Bacillales/Staphylococcaceae</i>
S10, S12, N17, N20	Род <i>Streptomyces</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Streptomycetales/Streptomycetaceae</i>
O5, O12, N4	Род <i>Exgiobacterium</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/Bacillales/ incertae Sedis - Family III</i>
S4, N15, N22	Род <i>Rhodococcus</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae</i>
O6, O8	Род <i>Streptococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Lactobacillales/Streptococcaceae</i>
S16, O1	Род <i>Gordonia</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae/</i>
N5, N18	Род <i>Nocardia</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Corynebacteriales/Nocardiaceae</i>
O18, N13	Род <i>Rathayibacter</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/ Microbacteriaceae</i>
O7	Род <i>Enterococcus</i>	<i>Firmicutes/Bacilli/ Lactobacillales/Enterococcaceae</i>
S23	Род <i>Microbacterium</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Microbacteriaceae</i>
N24	Род <i>Aeromicrobium</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Propionibacteriales/Nocardioidaceae</i>
O9	Род <i>Kocuria</i>	<i>Actinobacteria/Actinobacteria/ Micrococcales/Micrococcaceae</i>

Таблица 11. Таксономичен статус на подобрните Грам (-) изолати, есенен сезон.

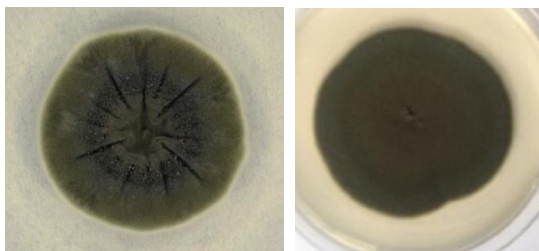
Б. Грам отрицателни бактерии		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
S2, S15, S19, S20, O3, O17	Род <i>Enterobacter</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/ Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>
S1, O20, N3, N8, N12, N14	Род <i>Paracoccus</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/ Rhodobacteriales/Rhodobacteraceae</i>
S8, O13, N6	Род <i>Pseudomonas</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/ Pseudomonadales/Pseudomonadaceae</i>
S17, N7, N9	Род <i>Sphingomonas</i>	<i>Proteobacteria/Alphaproteobacteria/ Sphingomonadales/Sphingomonadaceae</i>
S14, O4	Род <i>Pantoea</i>	<i>Proteobacteria/Gammaproteobacteria/ Enterobacteriales/Enterobacteriaceae</i>

В резултат на проведените таксономични изследвания, всичките 248 бактериални изолата, са отнесени към 25 рода:

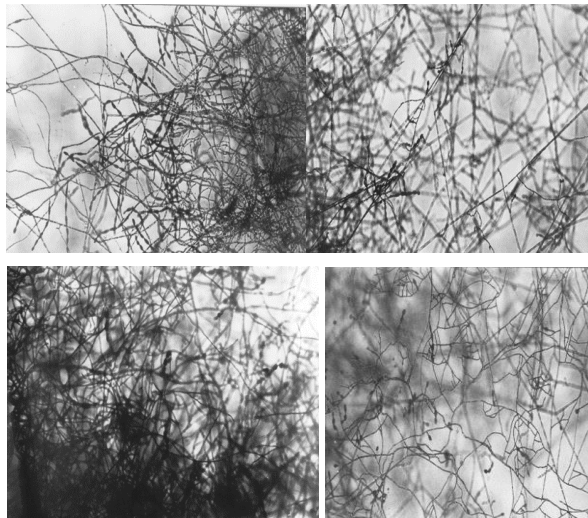
- А) Грам-положителните изолати са 174 (70.2%) и са отнесени към 18 рода.
- В) Грам-отрицателните изолати са 74 (29.8%) и са отнесени към 7 рода.

2.2. Идентификация на фунгиалните изолати

Обект на таксономично определяне са общо 35 изолата, разделени в четири групи по сезони. След серия от процедури за изолиране на чисти култури, от всичките 35 изолата са получени едноспорови колонии (фиг. 21). За тяхното охарактеризиране са използвани макроскопски и микроскопски методи (фиг. 22).



Фигура 21. Макроскопски изглед на избрани фунгиални колонии



Фигура 22. Микроскопски изглед на избрани фунгиални изолати

На базата на проведените макроскопски и микроскопски изследвания, подобранияте доминантни фунгиални изолати могат да бъдат таксономично отнесени в 4 рода (табл. 12).

Таблица 12. Таксономичен статус на подобранияте фунгиални изолати

Фунги		
Изолат	Родова принадлежност	Таксономичен статус на рода
ZF1, ZF2, ZF4, P7, E8 (5 изолата)	Род <i>Cladosporium</i>	<i>Fungi/Ascomycota/Dothideomycetes/Capnodiales/Cladosporiaceae</i>
P3, P1, SF1, SF4, E1, E2, E5, E7 (8 изолата)	Род <i>Alternaria</i>	<i>Fungi/Ascomycota/Dothideomycetes/Pleosporales/Pleosporaceae</i>
ZF5, ZF6, P2, P4, P5, P8, SF2, SF5, SF7, E3, E4, E9 (12 изолата)	Род <i>Penicillium</i>	<i>Fungi/Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales/Aspergillaceae</i>
ZF3, ZF7, P6, SF3, SF6, SF8, SF9, SF10, E6, E10 (10 изолата)	Род <i>Aspergillus</i>	<i>Fungi/Ascomycota/Eurotiomycetes/Eurotiales/Aspergillaceae</i>

Четири рода принадлежат към отдел *Ascomycota*. Това са в повечето случаи почвени и въздушно преносими гъби. Най-висок дял в групата на изследваните фунгиални изолати имат представителите на род *Penicillium* - 12 изолата (34.2%), следвани от изолатите, отнесени към род *Aspergillus* - 10 изолата (28.5%). Родът *Alternaria* е представен от 8 изолата (22.8%). Най-малък брой изолати са отнесени към род *Cladosporium* – 5 изолата (14.2%).

От изолатите, отнесени към род *Cladosporium* (общо 5 изолата), 3 изолата са събрани през зимния сезон, съответно 1 изолат (м. Март, Пролет) и 1 изолат (м. Ноември, Есен). През летния сезон не се установява доминиращо присъствие на фунги от род *Cladosporium* във въздуха на локацията. Това потвърждава изразено психрофилния потенциал на този таксон, чийто представители могат да понесат изключително ниски температури.

От изолатите отнесени към род *Alternaria* (общо 10 изолата), половината са събрани през есенния сезон, като липсват изолирани представители на рода през зимните опробвания. Изолатите от родовете *Penicillium* (12 изолата) и *Alternaria* (10 изолата) са получени и по време на четирите сезона, като най-голям брой

изолати от род *Penicillium* са събрани през пролетния сезон, респективно най-голям брой от изолатите на род *Aspergillus* са получени през летния сезон.

3. Метагеномен анализ на микробното биоаерозолно присъствие във въздуха на избраната локация

За изясняване на разнообразието на некултивируемата микробиота, откривана във въздуха на локацията в настоящия дисертационен труд са използвани две проби, събрани през топлата, респ. студената част на обследваната година, а именно: Проба 1 (м. Май, 2020) и Проба 2 (м. Януари, 2021). (Незначителното фунгиално присъствие във въздуха на локацията през м. Януари е причина за недостатъчното количество събрана тотална ДНК, което не позволи проучването на плесенните гъби в Проба 2).

3.1. Резултати от проведено секвениране от следващо поколение

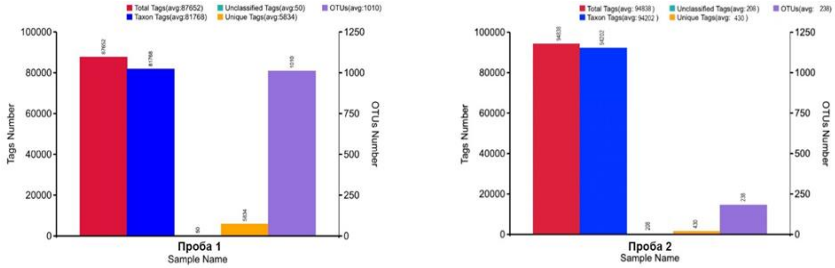
Първоначално е извършен анализ на получените данни от секвенирането от ново поколение на определените бактериални последователности в хипервариабилния регион V3-V4 от гена за 16S рPHK, като и ITS2 региона за идентификация на фунгиалните представители (само в Проба 1). Резултатите са обобщени и представени в таблица 13.

Таблица 13. Резултат от секвениране на V3-V4 региона на 16S рPHK и ITS2 региона

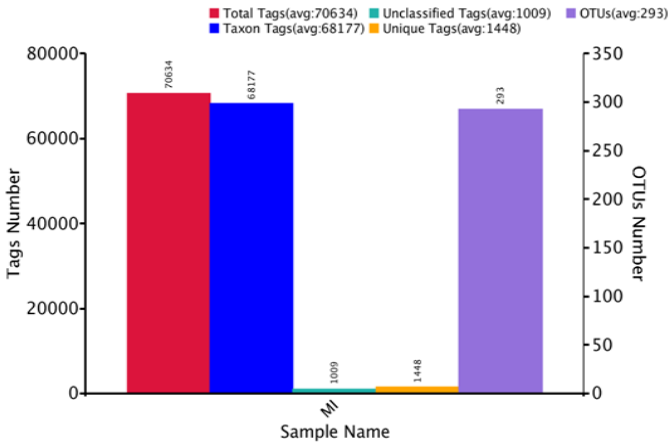
Име на пробата	Брой прочити на необработените словени краища	Брой на необработените етикети	Брой чисти етикети	Брой ефективни етикети	Брой бази на ефективните етикети (nt)
Проба 1 (м. Май) V3-V4 регион	130,004	117,914	116,763	87,652	36,131,624
Проба 2 (м. Януари) V3-V4 регион	104,356	100,202	98,567	94,838	40,375,719
Проба 1 (м. Май) ITS2 регион	101,180	98,942	98,753	70,634	21,318,585
	Средна дължина на ефективните етикети (nt)	Стойност на Q20	Стойност на Q30	Проценто съдържание на GC в ефективните етикети	Процент на ефективните етикети в необработените словени краища
Проба 1 (м. Май) V3-V4 регион	412	98.60	95.26	55.07	67.42
Проба 2 (м. Януари) V3-V4 регион	426	98.28	94.24	52.19	90.88
Проба 1 (м. Май) ITS2 регион	302	98.81	96.58	51.01	69.81

3.2. Определяне на броя на оперативните таксономични единици (ОТЕ)

Броят на оперативни таксономични единици е определен и резултатите са показани на фигури 23 и 24.



Фигура 23. Обобщение на резултатите от етикетите и броя на бактериалните OTUs в проба 1 и проба 2.



Фигура 24. Обобщение на резултатите от етикетите и броя на гъбните OTUs в проба 1.

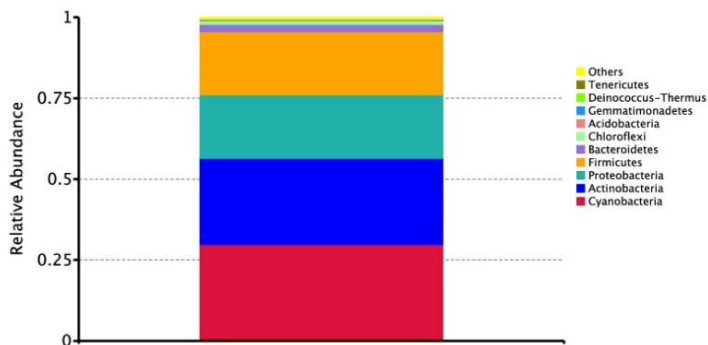
За пролетния сезон показателите са: ефективни етикети (Total tags) – 87652; анотирани етикети (Taxon tags) – 81768; неклассифицирани етикети (Unclassified tags) – 50 и уникални етикети (Unique tags) – 5834. Те са обединени в оперативни таксономични единици (OTUs) като общият им брой е 1010. За зимния сезон

резултатите са: 94838 ефективни етикети; 94202 анотирани етикети; 206 неklasифицирани етикети и 430 уникални етикети. Те са обединени в 238 OTUs.

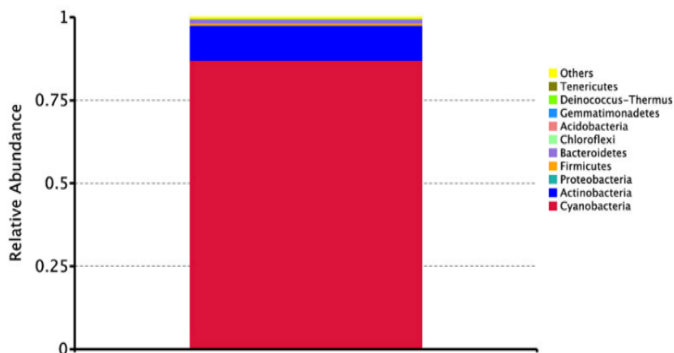
За плесенните гъби в Проба 1, стойностите след анализа на ITS2 участъка са: ефективни етикети (Total tags) – 70634; анотирани етикети (Taxon tags) – 68177; неklasифицирани етикети (Unclassified tags) – 1009 и уникални етикети (Unique tags) – 1448. Те са обединени в 293 OTUs.

3.3. Таксономична анотация на OTUs

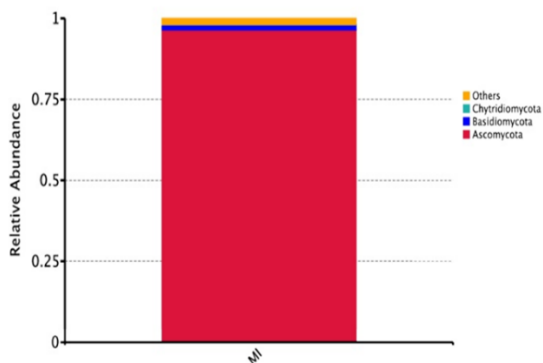
Относителното изобилие по отношение на застъпеност на бактериалните и фунгиални типове в изследваните проби е представено на фигури 25, 26 и 27.



Фигура 25. Доминантно присъстващи бактериални типове в проба 1.



Фигура 26. Доминантно присъстващи бактериални типове в проба 2.

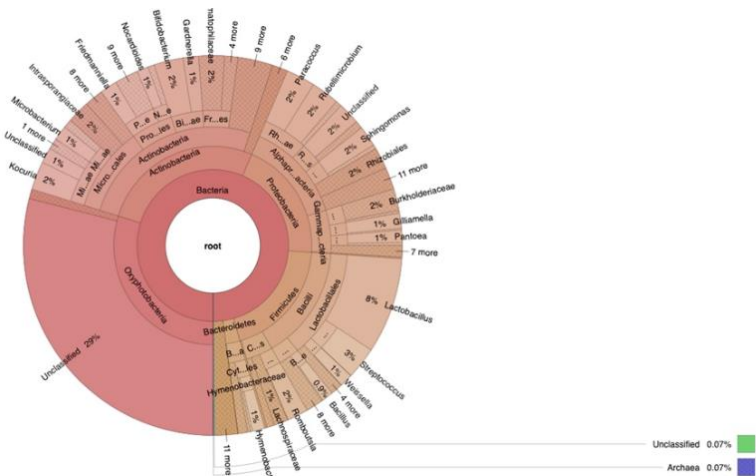


Фигура 27. Доминантно присъстващи фунгиални отдели в проба 1

За визуализация и изследване на резултата от анализа на таксономичната анотация е използван интерактивен инструмент – Krona, който позволява полезна визуализация на състава на метагеномите в уеб браузър.

a) Таксономично еубактериално и археално разнообразие в Проба 1 (м. Май)

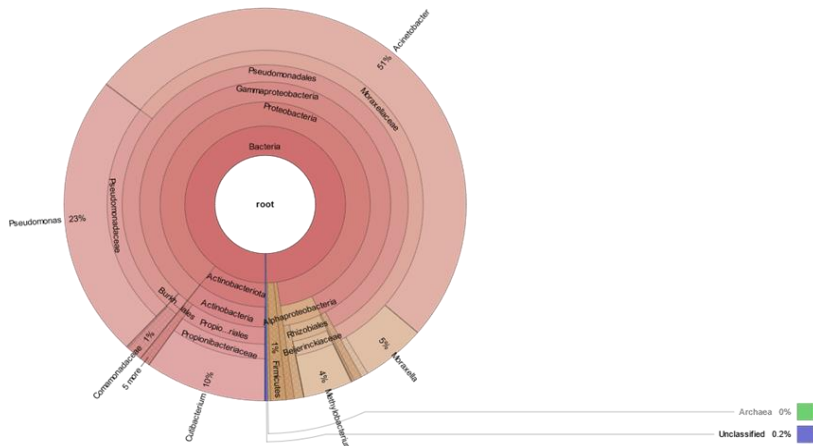
Информацията от метагеномното секвениране в Проба 1 показва доминиращо присъствие на представителите на домейн *Bacteria* (99.93%) и слабо присъствие на представители на домейн *Archaea* (0.07%) (фиг. 28).



Фигура 28. Таксономичен състав на бактериалното присъствие в Проба 1 (м. Май).

б) Таксономично еубактериално разнообразие в Проба 2 (м. Януари)

За разлика от Проба 1 (м. Май), информацията от метагеномното секвениране от Проба 2 (м. Януари) показва, че се откриват само представителите на домейн *Bacteria*, но не и такива на царство *Archaea* (фиг. 29).



Фигура 29. Таксономичен състав на бактериалното присъствие е в Проба 2

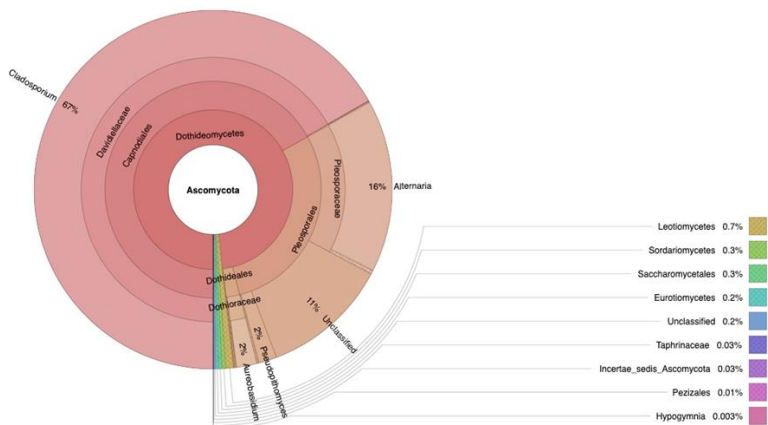
При сравнителния анализ на бактериалното разнообразие в Проба 1 и Проба 2 могат да бъдат идентифицирани десетте най-силно застъпени бактериални рода в въздуха на локацията при двете пробоземания (Табл. 14).

Таблица 14. Доминиращи бактериални таксони във въздуха на локацията, установени чрез метагеномен анализ.

Проба 1 (м. Май) род	Застъпеност (%)	Проба 2 (м. Януари) род	Застъпеност (%)
<i>Lactobacillus</i>	8	<i>Acinetobacter</i>	51
<i>Streptococcus</i>	3	<i>Pseudomonas</i>	23
<i>Kocuria</i>	2	<i>Cutibacterium</i>	10
<i>Bifidobacterium</i>	2	<i>Moraxella</i>	5
<i>Paracoccus</i>	2	<i>Methylobacterium-Methylorubrum</i>	4
<i>Rubellimicrobium</i>	2	<i>Comamonas</i>	0.8
<i>Sphingomonas</i>	2	<i>Corynebacterium</i>	0.6
<i>Romboutsia</i>	2	<i>Staphylococcus</i>	0.6
<i>Friedmanniella</i>	1	<i>Georgenia</i>	0.5
<i>Pantoea</i>	1	<i>Sphingomonas</i>	0.4

в) Таксономично фунгиално разнообразие в Проба 1 (м. Май)

Метагеномният анализ на ITS2 региона за идентификация на фунгиалните представители, показва че 98% от всички секвенции са отнесени към отдел *Ascomycota* (фиг. 30).



Фигура 30. Таксономичен състав на фунгиалното присъствие е в Проба 1 (м. Май)

Най-широко застъпеният фунгиален род в Проба 1 е *Cladosporium*, към който са отнесени 64% от всички фунгиални секвенции в пробата. Към род *Alternaria* са отнесени 15% от всички секвенции, 2% към *Pseudopithomyces*, 2% *Aureobasidium*, а 11% са неклассифицирани. От отдел *Ascomycota* до вид е доказано също присъствие в Проба 1 на: *Aureobasidium pullulans*, *Periconia byssoides*, *Phoma macrostoma*, *Sawadaea bicornis*, *Rutstroemia firma*, *Candida humilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Fusarium solani* и *Khuskia oryzae*.

4. Охарактеризиране на абиотичната компонента на замърсяванията във въздуха в района на избраната локация

4.1. Лидарно охарактеризиране на аерозолното прахово замърсяване в района на локацията

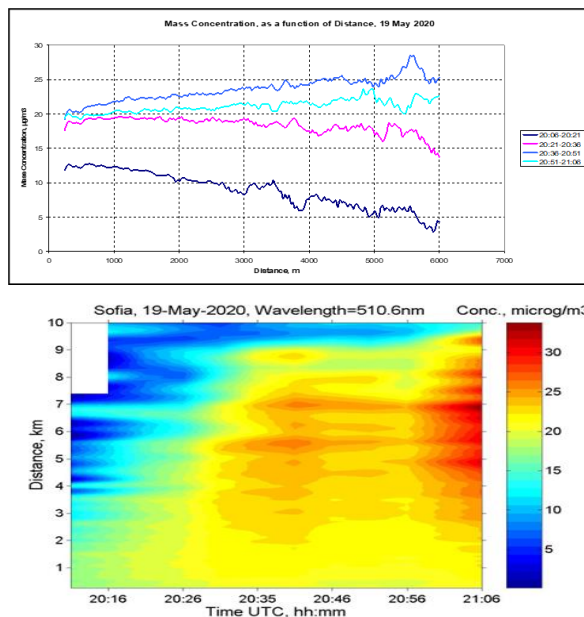
От решаващо значение за охарактеризиране на праховото замърсяване е адекватната и прецизна количествена детекция. Към настоящия момент са разработени и съществуват различни подходи и методи за определяне на

концентрацията на ФПЧ в реално време. Един от най-обещаващите методи към момента е лидарното картографиране. Ключов момент в експерименталната схема е сравняване и съпоставяне на детекционния потенциал на а) лидарния метод; б) мобилен сензор за ФПЧ10/2.5 (тип Nova PM sensor SDS011 High precision laser PM2.5/10.0); в) подвижен аспирационен прибор тип Хигитест; г) лицензирана станция на ИАОС в кв. Лозенец (частта около БФ на СУ).

В основната локация – БФ, СУ сравнителното проучване върху праховото замърсяване е осъществено двукратно – през месец Май (19.05.2020 г.) и месец Октомври (07.10.2020 г.). Подбраните периоди, отговарят на сравнително ниски нива на прахово замърсяване през топлата част от годината и респективно, отчитаното повишение в запрашаването през зимния период.

- опробване м. Май, 2020

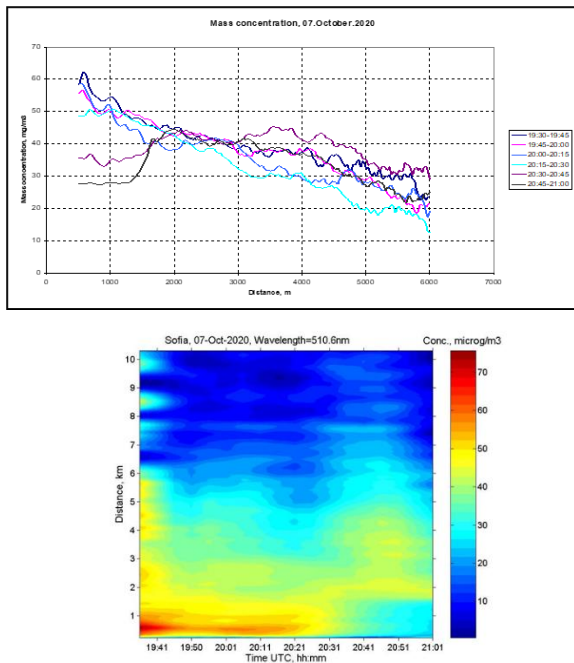
Фигура 31 илюстрира данните от Лидарното измерване през месец май, които отразяват преходния сезон пролет-лято.



Фигура 31. Лидарен мониторинг извършен на 19.05.2020 с хоризонтално сканиране от 19.30 до 21.00 ч.) 3D Лидарно картографиране в точка 5.5 km.

- *опробване м. Октомври, 2020*

Фигура 32 илюстрира измерванията направени на 07.10.2020 – есенно-зимен преходен сезон.



Фигура 32. Лидарен мониторинг извършен на 07.10.2020 и в) 3D Лидарно картографиране в точка 5.5 km

На базата на получените резултати, може да бъде направен следния извод: Експресното откриване и локализиране, по всяко време на денонощието, на плътни аерозолни струпвания, е постижимо единствено с помощта на лазерните локатори (лидарите), които са системи за дистанционно и безконтактно активно оптично сондиране на газовата и аерозолната фаза в атмосферата, в големи пространствени мащаби (десетки и стотици километри) и с висока пространствена (метри и дециметри) и времева (милисекунди) разделителна способност. Съществуващата система в гр. София за контрол на замърсяването с ФПЧ с помощта на лицензирани станции на ИАОС е акуратна, но недостатъчна по отношение на ФПЧ2.5. Системата

не е в състояние да определи достатъчно точно географските координати на замърсяването.

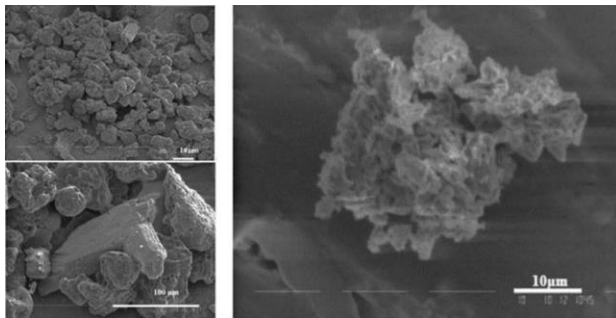
4.2. Физико-химично охарактеризиране на праховото замърсяване (ФПЧ2.5/10)

Праховото замърсяване на въздуха е предпоставка за асоциирането на микробна компонента към него. Това налага и детайлен анализ на откриваните във въздуха прахови частици по отношение на: размер, елементен и фазов състав, структура и морфология на праховите частици, сравнително проучване на повърхност/обем на праховите частици.

4.2.1. Структура и морфология на праховото замърсяване (ФПЧ2.5)

На анализ е подложена проба с фракция от аспирирани, чрез подвижен аспиратор тип Хигитест, ФПЧ2.5 събрани в района на БФ, СУ през месец Октомври, 2020 г.

Изображенията, получени със сканиращ електронен микроскоп са показани на фиг. 33. Много добре може да се види, че праховите частици силно се различават по размер от нанометри до няколко десети микрометра. Повечето прахови частици всъщност представляват агрегати от много малки частици.

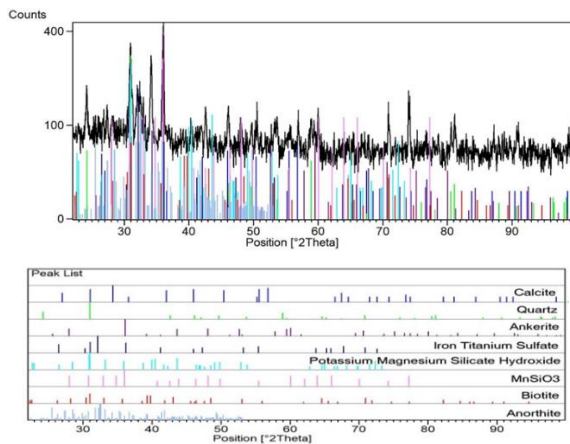


Фигура 33. СЕМ снимки на проба от ФПЧ при различни увеличения.

4.2.2. Елементен и фазов състав на праховото замърсяване (ФПЧ2.5)

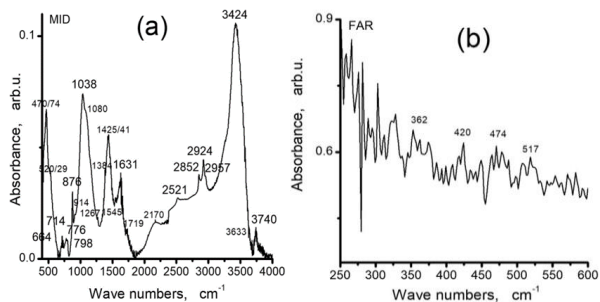
Праховата рентгенова дифрактограма на материала (фиг. 34) показва наличието на нискоинтензивни и широки рентгенови дифракционни пикове, разположени върху рентгеноаморфно хало. Основните кристални фази, регистрирани в

рентгеновата дифрактограма са: силикатни, алумосиликатни, карбонатни и сулфатни фази. Характерните линии на кварц SiO₂ (78-1252), анортит (73-0264), Mn силикат (12-0215), калцит CaCO₃ (03-0596) и K-Mg силикатен хидроксид (26-1322) бяха идентифицирани при анализа. Допълнително са намерени и по-малки количества анкерит (79-1348), Fe-Ti сулфат (28-0500) и биотит (42-1414).



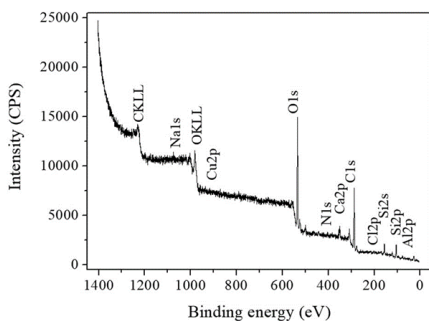
Фигура 34. Прахови рентгенови дифрактограми на проби от прахови частици (a) анализ на регистрираните фази (b) с легенда на идентифицираните линии спрямо JCPDS стандарти.

Анализът на спектрите показва наличието на неорганични карбонати (714, 876, 1425 cm⁻¹) и повърхностни карбонатни групи (714, 876, 1038, 1441, 1545, 1640, 1660, 1719 cm⁻¹). За наличието на неорганичен фосфат/фосфатни остатъци може да се съди от ивиците при 529, 914, 1038, 1080 cm⁻¹, тъй като диапазонът около 1000 cm⁻¹ е типичен за вибрациите на групата PO₄. Съдържащите сярва компоненти в изследваната проба са регистрирани по характеристичните ивици на сулфати (621, 1080 cm⁻¹) и органични съединения, съдържащи тиолова група S-H (664, 697, 1267, 2521 cm⁻¹). Въпреки ниската интензивност на ивицата при 2521 cm⁻¹ тя се счита за показателна (фиг. 35).



Фигура 35. Инфрачервени спектри на прахови частици в средната (а) и в далечните инфрачервени области (б).

Анализът показва, че повърхността на изследваната проба от прахови частици се състои главно от силикатни, алумосиликатни съединения, както и от органични и неорганични въглеродни фази.

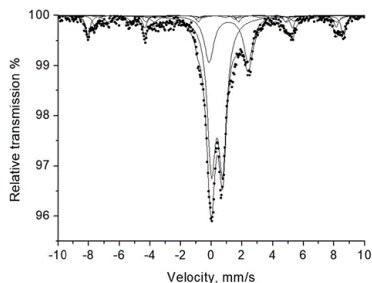


Фигура 36. Общ рентгенов фотоелектронен спектър на проба от прахови частици.

Поради определените относително големи количества на желязо от данните на елементния анализ на пробата (фиг. 36) е приложена ^{57}Fe Мьосбауерова спектроскопия за по-задълбочено изследване и характеризиране на ФПЧ.

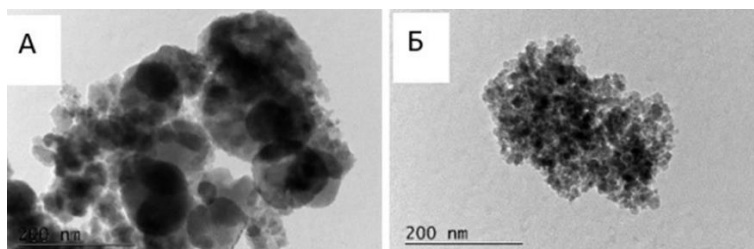
Мьосбауеровите спектри на пробата (фиг. 37) показват фазовия състав и дисперсността на наличните желязосъдържащи фази. Четири секстетни (Sx) и два дублетни компонента (Db) са използвани за математична обработка на спектъра. Първият компонент Sx1 има върхфини параметри, характерни за хематитна фаза - $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Изчислената стойност на N_{eff} е по-ниска от типичната за добре кристализиран хематит (52 T), което показва, че размерът на частиците е около 20 nm. Секстети Sx2 и Sx3 са характерни за Fe_3O_4 и съответстват на

железни йони в тетраедрична (подрешетка А) и октаедрична (подрешетка В) конфигурация, характерна за шпинелна фаза.



Фигура 37. Мьосбауеров спектър на проба от фини прахови частици.

Регистрирани са и ТЕМ изображения на пробата от локацията, събрана през есен – зима 2020 г. (фигура 38). Получените изображения показват, че при използване на големи увеличения се установява, че голяма част от наблюдаваните частици са агрегати, съставени от по-малки и наноразмерни кристалити.



Фигура 38. ТЕМ изображения на образци ФПЧ10 (А) и ФПЧ2.5 (Б)

Направените физикохимични анализи показват, че фините прахови частици не са стабилни, нямат постоянен състав и размер и химическата им природа може да бъде модифицирана от различни физикохимични процеси.

ИЗВОДИ

1. Констатирана е ясно изразена месечна динамика в нивата на микробна контаминация във въздуха на централната част на град София, която е комплексно обусловена от климатичните, географските и антропогенни характеристики на населеното място.

2. Пролетният сезон се характеризира с повишаване в нивата на микробиална въздушна контаминация, с особено силно изразена динамика в количеството на фунгиалните биоаерозоли.
3. През първата половина на летния сезон се регистрира значително повишение в нивата на микробна биоаерозолна контаминация, докато през втората половина на летния сезон се наблюдава понижаване в нивата и на двата типа изследвани биоаерозоли.
4. В началото на есенния сезон от годината се наблюдава повишение на микробната контаминация, последвано от съществена редукция в последния есенен месец.
5. През зимния сезон микробната биоаерозолна контаминация във въздуха на района в централната градска част е силно редуцирана.
6. Регистрира се отличаващ се годишен ход в динамиката на числеността на изследваните групи микроорганизми (бактерии и fungi) – максимално фунгиално присъствие се отчита през месеците Юни, Юли и Октомври, докато бактериалната контаминация достига максимални стойности през месеците Май, Юли и Септември. Минимални стойности и за двата типа биоаерозоли се регистрират в периода Декември-Февруари.
7. Дневната динамика в концентрациите на изследваните биоаерозоли във въздуха е с изразен сезонен характер и следва промените в антропогенния натиск. Установяват се значително високи нива в сутрешните часове, последвани от редукция в стойностите в обедните часове и вторично повишение в биоаерозолните концентрации в следобедните часове.
8. Седмичната динамика в концентрациите на изследваните биоаерозоли, независимо от сезона, е обусловена до голяма степен от антропогенните дейности – покачване в стойностите в началото на работните дни, достигане на максимални стойности в средата на седмицата, редукция към края на работната седмица.

9. Повишеното прахово съдържание (ФПЧ10/2.5) във въздуха е свързано с повишаване на микробното присъствие, докато валежите от дъжд и сняг водят до неговата редукция.
10. Таксономичното разнообразие на култивируемата бактериална микробиота във въздуха на локацията е силно изразено. Доминиращите бактериални изолати са отнесени към 25 рода, като най-много изолати са отнесени към родовете *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* и *Paracoccus*.
11. По отношение на култивируемите представители фунгиалното присъствие във въздуха на локацията е със значително по-слабо изразено таксономично разнообразие. Изолатите са отнесени към четири рода на отдел *Ascomycota* – *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* и *Cladosporium*.
12. Проведеният метагеномен анализ разкрива изключително високо таксономично разнообразие в изследваните проби – откриват се представители на типовете *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Cyanobacteria* и отделите *Ascomycota* и *Basidiomycota*.
13. Изследването на морфологията на ФПЧ в района на локацията доказва, че техният вид и концентрация са сезонно зависими. Преобладаващата част от частиците са агрегати от множество малки частици, включително такива в нанометричната скала.
14. По отношение на химичния състав на установеното прахово замърсяване (ФПЧ10/2.5) във въздуха на района, основните фази са силикатни, алумосиликатни и сулфатни съединения, както и органични и неорганични (карбонатни и въглищни) въглеродни фази. Регистрира се и високо съдържание на железни оксиди.

ПРИНОСИ

1. Проведеният едногодишен микробиологичен мониторинг върху количественото микробно присъствие във въздуха на централната част на град София, се явява първото по рода си проучване в национален мащаб и едно от най-продължителните за територията на Европа.

2. Изследванията са принос в изучаването на откриваните във въздуха микроорганизми и в частност във въздуха на силно урбанизирани райони.
3. Проследена е зависимостта между качеството на въздуха, присъствието на различни замърсители (физични и химични), а също състава и концентрацията на микробните биоаерозоли във въздуха на град София.
4. Получена е информация относно дневната, седмична, месечна и годишна динамика на микробното биоаерозолно замърсяване на въздуха на град София.
5. Получена е информация за таксономичното разнообразие на въздушната микробна контаминация, като са определени доминиращите бактериални и фунгиални таксони.
6. Осъществено е първото по рода си в национален мащаб комплексно изследване на фини прахови частици в атмосферата чрез лидарно локализиране на време-пространственото им разпределение, характеризирани по състав, структура и морфология.
7. Получените данни са съществен принос за разработването на стратегия за контрол и оценка на замърсяването на въздуха на територията на град София и вземането на правилни управленски решения за опазване на чистотата на въздуха.

ПРЕПОРЪКИ

1. Съществуващата система в гр. София за контрол на замърсяването с ФПЧ с помощта на лицензирани станции на МОСВ е акуратна, но не предоставя данни за асоциираното микробно замърсяване. Препоръчително е нейното оптимизиране с включването на анализи на нивата на микробна биоаерозолна контаминация.
2. Препоръчително е използването на протокол за комбиниран анализ включващ лидарното картиране и *in situ* пробовземане за следене на

масовата концентрация на ФПЧ 2.5/10 и биоаерозолното присъствие по трасето на лидарния лъч.

3. С оглед на динамично променящата се градска инфраструктура и нарастващо население в град София, препоръчително е въвеждането на регулярен микробиологичен мониторинг, за да бъдат отчетени промените настъпващи с времето. Данните от в настоящата работа, могат да послужат за сравнение при последващи мониторингови проучвания на въздуха в град София.

ПУБЛИКАЦИИ

1. Iliev M., Ilieva R., **Angelova B.**, Paneva D., Cherkezova-Zhelev Z., Groudeva V., Nedkov I. (2021) FEATURES OF PARTICULATE MATTER AND MICROBIOTA IN THE LOWEST ATMOSPHERIC LAYER ABOVE DENSELY POPULATED URBAN AREAS. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 74 (12), pp. 1739 - 1748, **Q2, SJR 0.244** (2020)
2. Grigorov I., Ghelev C., Kolarov G., Iliev M., **Angelova B.**, Ilieva R., Groudeva V., Cherkezova-Zheleva Z., Stoyanov D., Nedkov I. (2021) LIDAR MONITORING AND *IN SITU* SAMPLING OF PARTICULATE MATTER IN LOWEST ATMOSPHERIC LAYERS OVER URBAN AREA. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*, 74 (9), pp. 1296 - 1304, **Q2, SJR 0.244** (2020).

УЧАСТИЯ НА НАУЧНИ ФОРУМИ

1. Zara P. Cherkezova-Zheleva, Daniela G. Paneva, **Boyanka N. Angelova**, Ralitsa V. Ilieva, Ivan I. Nedkov “MÖSSBAUER INVESTIGATION OF PARTICULATE MATTER IN THE LOWEST ATMOSPHERIC BIOAEROSOL“ 36-th International Conference on the Applications of the Mössbauer Effect, ICAME 2021. 05/09-10/09 2021 (постер).
2. Zara Cherkezova-Zheleva, Daniela Paneva, Boris Kunev, **Boyanka Angelova**, Ralitsa Ilieva, Ivan Nedkov “AIR POLLUTION INVESTIGATION OF SOFIA URBAN AREAS DURING THE COVID-19 LOCKDOWN PERIOD: A

COMPARATIVE STUDY“ 30th International Conference ECOLOGY & SAFETY, 16-19 August 2021. (постер).

3. Stoyanov D, Grigorov I, Kolarov G., Iliev M., **Angelova B.**, Ilieva R., Groudeva V., Cherkezova-Zheleva Z. , Nedkov I. “Possibilities for application of mobile in situ sampling and lidar monitoring of particulate matter in lowest atmospheric bioaerosol” International Black sea coastline countries scientific research symposium VI. April 28-30, 2021/ Giresun, Turkey (секционен доклад).
4. Nedkov I., **B. Angelova**, M Iliev, R.Ilieva, D. Stoyanov,V. Groudeva, Z. Cherkezova-Zheleva. “Atmospheric particulate matter pollution over residential urban areas during COVID-19 Quarantine.” 1st Surface Engineering for Biomedical Applications Workshop – Webinar, 11.11.2020 (секционен доклад)
5. **B. Angelova**, M Iliev, R. Ilieva, Nedkov I., V. Groudeva “Characteristic of airborne microbiota in highly urbanized locations in Sofia city, Bulgaria“ Научна конференция „Климентови дни 2020 г. (постер)
6. **B. Angelova**, M Iliev, R. Ilieva, Nedkov I., D. Stoyanov, V. Groudeva „AIRBORNE MICROBIOTA IN URBANIZED LOCATIONS IN SOFIA CITY, BULGARIA“ FEMS ONLINE Conference on Microbiology 2020. (постер)
7. Nedkov I., D. Stoyanov, M. Iliev, R. Ilieva, **B. Angelova**, V. Grudeva. “Lidar monitoring and *in situ* sampling of particulate matter in atmosphere”, COST in Dust Training School 27-29 January 2020, Sofia “ (секционен доклад)
8. **B. Angelova**, R. Ilieva, M Iliev, Nedkov I., D. Stoyanov, V. Groudeva “Investigation of microbiota in atmospheric aerosols during LIDAR monitoring of highly urbanised area in Sofia city” Научна конференция „Климентови дни“ 2019 (постер)

УЧАСТИЯ В ПРОЕКТИ

1. Комплексно изследване на фини прахови частици в атмосферата чрез лидарно локализиране на време-пространственото им разпределение, характеризирани по състав, структура, морфология и микробно

съдържание.“ Договор №: ДН18/16/ от 20.12.2017 г. (с удължение до 06.12.2021 г.) Ръководител: д-р проф. Иван Недков.

2. “Анализ на култивируемата микробиота, асоциирана с праховите замърсявания на въздуха в централната част на град София и оценка на риска”, ръководител: доц. д-р Михаил Илиев
3. “Метагеномни изследвания на микрофлората около Българската антарктическа база на о-в Ливингстън и определяне с помощта на молекулярно-генетични методи на различни видове безгръбначни животни.“. Договор № 70-25-72 от 03.08.2021 г., ръководител: доц. д-р Светослав Димов.