

**Резюмета на рецензираните публикации  
на гл.ас. д-р Галина Ивайлова Йотова на български език  
и на един от езиците, които традиционно се ползват  
в съответната научна област (английски език)**

**НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ - ХАБИЛИТАЦИОНЕН ТРУД**

**(Група от показатели В)**

1. **Yotova, G., Lazarova, S., Kudlak, B., Zlateva, B., Mihaylova, V., Wiczerzak, M., Venelinov, T., Tsakovski, S.** “Assessment of the Bulgarian Wastewater Treatment Plants’ Impact on the Receiving Water Bodies”, *Molecules*, 2019, 24(12), 2274.

Deterioration of water quality is a major problem world widely according to many international non-governmental organizations (NGO). As one of the European Union (EU) countries, Bulgaria is also obliged by EU legislation to maintain best practices in assessing surface water quality and the efficiency of wastewater treatment processes. For these reasons studies were undertaken to utilize ecotoxicological (Microtox<sup>®</sup>, Phytotoxkit F<sup>™</sup>, Daphtoxkit F<sup>™</sup>), instrumental (to determine pH, electrical conductivity (EC), chemical oxygen demand, total suspended solids (TSS), total nitrogen (N) and phosphorus (P), chlorides, sulphates, Cr, Co, Cu, Cd, Ba, V, Mn, Fe, Ni, Zn, Se, Pb), as well as advanced chemometric methods (partial least squares–discriminant analysis (PLS-DA)) in data evaluation to comprehensively assess wastewater treatment plants’ (WWTPs) effluents and surface waters quality around 21 major Bulgarian cities. The PLS-DA classification model for the physicochemical parameters gave excellent discrimination between WWTP effluents and surface waters with 93.65% correct predictions (with significant contribution of EC, TSS, P, N, Cl, Fe, Zn, and Se). The classification model based on ecotoxicological data identifies the plant test endpoints as having a greater impact on the classification model efficiency than bacterial, or crustaceans’ endpoints studied.

Според много международни неправителствени организации (НПО) влошаването на качеството на водите е основен проблем в световен мащаб. Като страна от Европейския съюз (ЕС), България също е длъжна, прилагайки законодателството на ЕС, да поддържа най-добрите практики при оценката на качеството на повърхностните води и ефективността на процесите на пречистване на отпадъчните води. Поради тези причини е проведено проучване за комплексна оценка на отпадъчните води на изхода на пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ) и качеството на повърхностните води около 21 големи български града чрез използването на екотоксикологични (Microtox<sup>®</sup>, Phytotoxkit F<sup>™</sup>, Daphtoxkit F<sup>™</sup>), инструментални (за определяне на рН, електропроводимост (ЕС), химично потребление на кислород, неразтворени вещества (НВ), общ азот (N), общ фосфор (P), хлориди, сулфати, Cr, Co, Cu, Cd, Ba, V, Mn, Fe, Ni, Zn, Se, Pb), както и усъвършенствани хемометрични методи за анализ (метод на частично най-малките квадрати с дискриминантен анализ – PLS-DA). Класификационният модел, получен чрез PLS-DA на базата на физикохимичните параметри

показва отлично разграничаване на отработените отпадъчни води от ПСОВ и повърхностните води с 93.65% правилни прогнози (значими за класификацията са параметрите ЕС, НВ, Р, N, хлориди, Fe, Zn и Se). Класификационният модел, базиран на данните от екотоксикологичните тестове за анализ, идентифицира теста, използващ растителни видове като по-значим за класификацията, в сравнение с тестовете, използващи бактериални и разкообразни видове.

2. **Yotova, G., Venelinov, T., Tsakovski, S.** „Chemometric Assessment of Bulgarian Wastewater Treatment Plants’ Effluents”, *Molecules*, 2020, 25(19), 4408.

Surface water quality strongly depends on anthropogenic activity. Among the main anthropogenic sources of this activity are the wastewater treatment plant (WWTP) effluents. The discharged loads of nutrients and suspended solids could provoke serious problems for receiving water bodies and significantly alter the surface water quality. This study presents inventory analysis and chemometric assessment of WWTP effluents based on the mandatory monitoring data. The comparison between the Bulgarian WWTPs and previously reported data from other countries reveals that discharged loads from investigated WWTPs are lower. This is particularly valid for total suspended solids (TSS). The low TSS loads are the reason for the deviations of the typical calculated WWTP effluent ratios of Bulgarian WWTPs compared to the WWTPs worldwide. The performed multivariate analysis reveals the hidden factors that determine the content of WWTP effluents. The source apportioning based on multivariate curve resolution analysis provides detailed information for source contribution profiles of the investigated WWTP effluent loads and elucidate the difference between WWTPs included in this study.

Качеството на повърхностните води силно зависи от антропогенната дейност. Сред основните антропогенни източници са ефлуентите от пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ). Заустваните товари от биогенни елементи и неразтворени вещества могат да предизвикат сериозни проблеми за приемащите водни тела и значително да променят качеството на повърхностните води. Това проучване представя анализ на събраните данни от задължителния мониторинг на отпадъчните води от ПСОВ и хеометричната им оценка. Сравнението между българските ПСОВ и докладваните преди това данни от други страни показва, че заустваните товари от изследваните ПСОВ са по-ниски. Това е валидно особено за неразтворените вещества (НВ). Ниските товари на НВ са причината за отклоненията на типичните изчислени отношения в отработените отпадъчни води на българските ПСОВ спрямо ПСОВ по света. Извършеният многовариационен статистически анализ разкрива скритите фактори, които определят съдържанието на отпадъчните води от ПСОВ. Проведеното пропорциониране на идентифицираните източници, базирано на метода за идентифициране на компоненти (MCR), разкрива подробна информация за приноса на източниците към изследваните товари от отпадъчните води от ПСОВ и изяснява разликата между включените в това проучване ПСОВ.

3. **Yotova, G., Varbanov, M., Tcherkezova, E., Tsakovski, S. “Water quality assessment of a river catchment by the composite water quality index and self-organizing maps”, *Ecological Indicators*, 2021, 120, 106872**

The river catchment management is a complex problem, which requires analysis of massive amounts of mandatory monitoring data on analytical, spatial, and temporal level. The present study deals with the application of a novel water quality assessment approach combining water quality index (WQI) developed by the Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME) and self-organizing maps of Kohonen (SOM). The study is carried out by using long-term water quality monitoring data (2008–2018) collected from 10 sampling stations located in the Mesta River catchment, Bulgaria. In the first step, the assessment of annual water quality categories of each sampling station was estimated by the calculation of CCME WQI modified according to the Bulgarian legislation. In the next step, all annual water quality categories ( $n = 105$ ) characterized by the factors used for CCME WQI calculation (scope, frequency, amplitude) underwent SOM analysis. The results of implementation of the WQI factors in SOM calculations reveal similar groups of annual water quality categories with specific CCME WQI patterns among the whole river catchment. The obtained patterns represent different water quality situations, which could be treated by different management activities. Additionally, the visualization advantages of the SOM algorithm allowed for detection of the water quality temporal changes and similarity between sampling stations among river catchment. Thus, the combination between integral CCME WQI assessment and multivariate technique SOM made it possible to achieve a precise river catchment water quality assessment, which could be used by water management authorities.

Управлението на речния водосбор е сложен проблем, който изисква анализ на огромно количество данни от задължителния мониторинг на аналитично, пространствено и времево ниво. В представеното проучване се прилага нов подход за оценка на качеството на водите, съчетаващ индекса за качеството на водите, разработен от Канадския съвет на министрите по околната среда (WQI) и самоорганизиращи се карти на Кохонен (SOM). Проучването се извършва с помощта на данни от дългосрочен мониторинг на качеството на водите (2008–2018 г.), събрани от 10 пробовземателни пункта, разположени във водосбора на река Места, България. В първата стъпка е извършено определяне на категорията за качество на водите на всяка пробовземателна станция за дадена година чрез изчисляването на WQI, като категоризацията е видоизменена съгласно българското законодателство. В следващата стъпка е проведен SOM анализ като са използвани данните за факторите, на които е базиран WQI (диапазон, честота, амплитуда) за всяка една от 105 пробовземателни ситуации (пробовземателен пункт за дадена година от анализирания период). Резултатите от прилагането на факторите от WQI в изчисленията на SOM разкриват подобни групи от пробовземателни ситуации със специфични профили на WQI в целия речен водосбор. По този начин могат да бъдат очертани различни профили на WQI, представящи конкретни ситуации, свързани с качеството на водата. Освен това могат да бъдат открити времеви промени в качеството на водата и сходство между пробовземателните пунктове в речния водосбор. Комбинацията между интегралната оценка на WQI и многовариационната техника SOM прави възможно постигането на прецизна оценка на качеството на водите в речния водосбор, която може да се използва от органите за управление на водите.

4. **Mihaylova, V., Yotova, G., Kudlak, B., Venelinov, T., Tsakovski, S. “Chemometric Evaluation of WWTPs’ Wastewaters and Receiving Surface Waters in Bulgaria”, *Water*, 2022, 14(4), 521**

Wastewater treatment plant (WWTP) installations are designed and operated to reduce the quantity of pollutants emitted to surface waters receiving treated wastewaters. In this work, we used classical instrumental studies (to determine chemicals and parameters under obligations put with Directive 91/271/EEC), ecotoxicological tools (*Sinapis alba* root growth inhibition (SA-RG) and *Heterocypris incongruens* mortality (MORT) and growth inhibition (GRINH)) and multivariate statistical analysis to gain information on feature profiles of WWTPs’ effluents and the possible burden of surface water bodies receiving treated wastewaters in eleven locations of Bulgaria. Initial screening of results has shown that only phosphorus content exceeds the admissible level in 5 out of 11 WWTP effluents, while As, Cr, Cu, Mn, and Zn show exceedance at several locations. The multivariate statistical analysis reveals the discriminating water quality parameters and outlines the ability of *Heterocypris incongruens* to evaluate the ecotoxicological potential of different groups of waters.

Пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ) са проектирани и експлоатирани така, че да намалят количеството на замърсителите, изпускани в повърхностните води, в които се заустват отработените отпадъчни води. В представеното проучване са използвани класически инструментални изследвания (за определяне на химични и физикохимични параметри, определени съгласно Директива 91/271/ЕЕС), екоотоксикологични тестове (потискане на растежа на корените на *Sinapis alba* (SA-RG); и смъртността (MORT) и потискане на растежа (GRINH) на *Heterocypris incongruens*) и многовариационен статистически анализ за разкриване на профила на отработените отпадъчни води от 11 ПСОВ в България и възможното натоварване на повърхностните водни тела, в които те заустват. Резултатите показват, че само за фосфор се наблюдават превишения над пределно допустимите концентрации в 5 от 11 проби отпадъчни води от ПСОВ, докато As, Cr, Cu, Mn и Zn показват превишение само на отделни места. Многовариационният статистически анализ разкри параметрите за качеството на водите, които са значими за класификацията на пробите и очерта способността на *Heterocypris incongruens* да оценява екоотоксикологичния потенциал на водите.

5. **Wieczerezak, M., Kudlak, B., Yotova, G., Nedyalkova, M., Tsakovski, S., Simeonov, V., Namieśnik, J. “Modeling of pharmaceuticals mixtures toxicity with deviation ratio and best-fit functions models”, *Science of the Total Environment*, 2016, 571, 259-268.**

The present study deals with assessment of ecotoxicological parameters of 9 drugs (diclofenac (sodium salt), oxytetracycline hydrochloride, fluoxetine hydrochloride, chloramphenicol, ketoprofen, progesterone, estrone, androstenedione and gemfibrozil), present in the environmental compartments at specific concentration levels, and their mutual combinations by couples against Microtox® and XenoScreen YES/YAS® bioassays. As the quantitative assessment of ecotoxicity of drug mixtures is a complex and sophisticated topic in the present study we have used two major approaches to gain specific information on the mutual impact of two separate drugs present in a mixture. The first approach is well documented in many toxicological studies and follows the procedure for assessing three types of models, namely concentration addition (CA), independent action (IA) and simple interaction (SI) by calculation of a model deviation ratio (MDR) for each one of the experiments carried out. The second approach used was based on the assumption that the mutual impact in each mixture of two drugs could be described by a best-fit model function with calculation of weight (regression coefficient or other model parameter) for each of the participants in the mixture or by correlation analysis. It was shown that the sign and the absolute value of the weight or the correlation coefficient could be a reliable measure for the impact of either drug A on drug B or, vice versa, of B on A. Results of studies justify the statement, that both of the approaches show similar assessment of the mode of mutual interaction of the drugs studied. It was found that most of the drug mixtures exhibit independent action and quite few of the mixtures show synergic or dependent action.

Представеното изследване извършва екотоксикологична оценка на 9 лекарства (диклофенак (натриева сол), окситетрациклин хидрохлорид, флуоксетин хидрохлорид, хлорамфеникол, кетопрофен, прогестерон, естрон, андростендион и гемфиброзил), присъстващи в околната среда при специфични концентрационни нива, и техните взаимни комбинации по двойки, чрез биотестове Microtox® и XenoScreen YES/YAS®. Тъй като количествената оценка на екотоксичността на лекарствените смеси е сложна тема, в настоящото изследване са използвани два подхода, за да се оцени взаимното въздействие на лекарствата в сместа. Първият подход е добре описан в множество токсикологични проучвания и следва процедурата за оценка на три типа модели – концентрационно-адитивен модел (CA), модел на независимо действие (IA) и модел на директно взаимодействие (SI), чрез изчисляване на коефициента на отклонение на моделите (MDR) спрямо експериментално получените резултати. Вторият подход се основава на предположението, че взаимното въздействие на лекарствата в сместа може да бъде описано чрез най-адекватната функция (модел) с изчисляване на теглото (регресионен коефициент или друг параметър на модела) за всеки от компонентите в сместа или чрез корелационен анализ. Забелязва се, че стойността и

знакът на теглото или корелационния коефициент могат да бъдат относителна мярка за въздействието на лекарство А върху лекарство Б или обратно, на Б върху А. Забелязва се, че и двата подхода показват сходна оценка на начина на взаимно взаимодействие на изследваните лекарства. Установено е, че повечето от лекарствените смеси проявяват независимо действие и само някои от смесите показват възможно антагонистично или синергично действие.

6. **Szczepańska, N., Kudlak, B., Yotova, G., Tsakovski, S., Namieśnik, J. “Assessing Acute Toxicity of Selected Packages Internal Layers Extracts using Microtox®”, *Packaging Technology and Science*, 2017, 30(7), 347-357.**

In the scientific literature related to the widely understood issue of packaging materials designed to have contact with food (food contact materials), there is much information on raw materials used for their production, as well as their physiochemical properties, types and parameters. Unfortunately, not much attention is given to the issues concerning migration of toxic substances from packaging and its actual influence on the health of the final consumer, even though health protection and food safety are the priority tasks. The goal of this study was to estimate the impact of particular foodstuff packaging type, food production and storage conditions on the degree of leaching of potentially toxic compounds to foodstuffs with the use of the acute toxicity test Microtox®. From all simulants studied, the 3% acetic acid in water proved to cause significant migration of toxic compounds with increase of time and temperature of extraction and justified the hypothesis that food products with low pH values (stored in cans) cause significant damage to cans internal resin filing and is a reason of increased migration rate of package material to foodstuff.

В научната литература, свързана с изключително важния въпрос за опаковъчните материали, предназначени за контакт с храни, има много информация за суровините, използвани за тяхното производство, както и техните физикохимични свойства, видове и параметри. За съжаление не се отделя много внимание на въпросите, свързани с миграцията на токсични вещества от опаковките и тяхното реално влияние върху здравето на крайния потребител, въпреки че опазването на здравето и безопасността на храните са задачите с висок приоритет. Целта на това проучване е да се оцени влиянието на конкретния тип опаковка на храните, условията на производство и съхранението им, върху степента на извличане на потенциално токсични съединения в хранителните продукти с помощта на теста за остра токсичност Microtox®. Доказа се, че от всички изследвани симуланти, 3%-ният воден разтвор на оцетна киселина причинява значителна миграция на токсични съединения с увеличаване на времето и температурата на екстракция и оправдава хипотезата, че хранителните продукти с ниски стойности на рН (съхранени в консервни кутии) причиняват значителни увреждания на вътрешната облицовка на консервните кутии и е причина за по-високата скорост на миграция от материала на опаковката към хранителния продукт.

7. **Wieczerzak, M., Kudlak, B., Yotova, G., Tsakovski, S., Simeonov, V., Namieśnik, J. “Impact of inorganic ions and pH variations on toxicity and endocrine potential of selected environmentally relevant pharmaceuticals”, *Environmental Pollution*, 2018, 237, 549-558.**

Assessment of the impact of pharmaceutical residues on living organisms is a very complex subject. Apart from taking into account the toxicity of individual compounds, environmental factors should also be taken into account. In this paper, attempts were made to assess the impact of coexisting inorganic ions and changes in pH on the toxicity of ten selected pharmaceuticals. Two bioassays were used to measure the estrogenic and androgenic effects (XenoScreen YES/YAS e *Saccharomyces cerevisiae*) and acute toxicity (Microtox<sup>®</sup> e *Vibrio fischeri*).

The Microtox<sup>®</sup> test gave the most definitive outputs concerning the determination of interaction type between drugs and chemical species. Synergism was proven for almost all drugs and chemical species, and only two cases of antagonism were found. Significant drug/pH interactions were rare.

Regarding the XenoScreen YES/YAS bioassay, when estrogenic and androgenic agonistic effects (YES+ and YAS+, respectively) were studied, many cases of well-expressed synergism for all inorganic ions with limited number of drugs (diazepam, fluoxetine, estrone, chloramphenicol for the YES+ test and diazepam, progesterone, androstenedione, and estrone for the YAS+ test) were found. Antagonism was also proven for the YES+ test, especially for diclofenac and androstenedione interacting with cations. On the other hand, the YES- and YAS- tests (estrogenic and androgenic, respectively, antagonistic effects) did not indicate cases of synergetic interaction except for the couples Br<sup>-</sup>/diazepam and NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/ketoprofen. Antagonistic drug/ion interactions were detected only with diclofenac and fluoxetine. It is interesting that well-expressed (antagonism or synergism) drug/pH interactions were rare.

Both tests were found utilizable in performing studies on impact of ions/pH fluctuations on drugs mixtures' toxicity confirming in most cases synergic impact of parameters studied on toxicity. The approach proposed in the paper seems to be proven as a reliable tool in assessing impact of abiotic factors on toxicity and endocrine potential of complex mixtures of pharmaceuticals' mixtures.

Оценката на въздействието на фармацевтичните отпадъци върху живите организми е много сложна тема. Освен отчитането на токсичността на отделните съединения, трябва да се вземат предвид и факторите на околната среда. В тази публикация са направени опити да се оцени въздействието на съвместно съществуващите неорганични йони и промените в рН върху токсичността на десет избрани фармацевтични продукта. Използвани са два екотоксикологични теста за измерване на естрогенните и андрогенните ефекти (XenoScreen YES/YAS<sup>®</sup> - *Saccharomyces cerevisiae*) и острата токсичност (Microtox<sup>®</sup> - *Vibrio fischeri*).

Тестът Microtox<sup>®</sup> дава най-категоричните резултати по отношение на определянето на типа взаимодействие между лекарствата и химичните видове. Доказан е синергизмът за почти всички лекарства и химични видове и са открити само два случая на антагонизъм. Рядко се наблюдават значими взаимодействия лекарство/pH.

При изследването на естрогенни и андрогенни агонистични ефекти (съответно YES+ и YAS+) чрез екотоксикологичния тест XenoScreen YES/YAS<sup>®</sup>, са открити много случаи на добре изразен синергизъм за всички неорганични йони с ограничен брой лекарства (дiazepam, флуоксетин, естрон, хлорамфеникол за теста YES+; и diazepam, прогестерон, андростендион

и естрон за теста YAS+). Доказан е и антагонизъм за теста YES+, особено за диклофенак и андростендион, при взаимодействието с катиони. От друга страна, тестовете YES- и YAS- (съответно естрогенни и андрогенни антагонистични ефекти) не показват случаи на синергично взаимодействие с изключение на двойките Br<sup>-</sup>/диазепам и NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/кетопрофен. Антагонистични взаимодействия лекарство/йон са открити само при диклофенак и флуоксетин. Интересно е да се отбележи, че добре изразените (антагонизъм или синергизъм) взаимодействия лекарство/pH са редки.

Установено е, че и двата екотоксикологични теста са приложими при извършване на проучвания за въздействието на флукуациите на йони/pH върху токсичността на лекарствените смеси, потвърждавайки в повечето случаи синергичното въздействие на изследваните параметри върху токсичността. Подходът, предложен в тази публикация, изглежда като надеждно средство при оценката на въздействието на абиотичните фактори върху токсичността и ендокринния потенциал на сложни смеси от фармацевтични продукти.

8. **Szczepańska, N., Kudlak, B., Tsakovski, S., Yotova, G., Nedyalkova, M., Simeonov, V., Dołęga, A., Namieśnik, J. “Modeling and MANOVA studies on toxicity and endocrine potential of packaging materials exposed to different extraction schemes”, *Environmental Research*, 2018, 165, 294-305.**

The stability of the linings of packaging that is in contact with the goods stored has been of major concern during decades of the development of packaging materials. In this work, an attempt was undertaken to assess the applicability of using two bioassays (Microtox® and XenoScreen YES/YAS) in estimating the stability of packaging (cans, caps, multilayer material) and the impact of their degradation on the toxicity of some simulated media. The assessment of the impact of packaging storage conditions (temperature, disinfection, preservation, extracting and washing solvents) was planned and performed with i) regression modeling of the experimental effects on the ecotoxicity readings, ii) ANOVA and MANOVA estimation of the experimental conditions as significant factors affecting the toxicity results and iii) FTIR analysis of the packages. It is shown that the effects of temperature and extraction solvents could be quantitatively assessed by the agreement between all methods applied. It can be stated that temperature and acidity as well as the alcohol content in the sensitive media have the greatest impact on the toxicity of the extract and thus on the stability of the internal lining and the extractability of xenobiotics.

Стабилността на вътрешната облицовка на опаковките, които са в контакт със съхраняваните стоки, е от особено значение през десетилетията на развитие на опаковъчните материали. В това проучване е направен опит да се оцени приложимостта на два екотоксикологични теста (Microtox® и XenoScreen YES/YAS®) при определянето на стабилността на опаковките (консервни кутии, чаши, многослоен композитен материал) и въздействието на тяхното разграждане върху токсичността на определена симулирана среда. Оценката на въздействието на условията за съхранение на опаковката (температура, дезинфекция, консервиране, разтворители за екстрахиране и измиване) беше планирана и изпълнена чрез i) регресионно моделиране на експерименталните ефекти върху екотоксикологичните показатели, ii) оценка чрез ANOVA на експерименталните условия като



значими фактори, влияещи върху резултатите от токсичността и iii) анализ на опаковките с инфрачервена спектроскопия с преобразуване на Фурие. Установено е, че ефектите, които оказват температурата и разтворителите за екстракция, могат да бъдат количествено оценени чрез съвместното използване на всички приложени методи. Може да се отбележи, че температурата и киселинността, както и съдържанието на алкохол в средата, оказват най-голямо влияние върху токсичността на екстракта и по този начин върху стабилността на вътрешната облицовка и екстрахируемостта на ксенобиотиците.

9. **Yotova, G., Zlateva, B., Ganeva, S., Simeonov, V., Kudlak, B., Namiešnik, J., Tsakovski, S. Phytoavailability of potentially toxic elements from industrially contaminated soils to wild grass**, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164, 317-324.

Topsoil and grass samples from 14 sites located in different distances from three copper mining factories and a copper smelter were collected in Srednogorie, Bulgaria. The paper discusses results of studies on the mobility of potentially toxic elements (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) from contaminated soils to wild grass *Cynodon dactylon* in terms of transfer (TF: soil to plant) and phytoavailability (PF: EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)-soluble to plant) factors. Soils located close to mine and smelter factories were heavily contaminated by As and Cu reaching levels up to 500 mg/kg and 2400 mg/kg, respectively for As and Cu. At seven sites arsenic and copper in grass were over the normal levels (1 mg/kg As; 20 mg/kg Cu). The content of Cu in grass averaged 63 mg/kg exceeding the maximum allowable for sheep. Relationship between PF and TF values was found for As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn but not for Mn and Cr. To some extent the soil pH, TOM (total organic matter) and CaCO<sub>3</sub> content are related to the phytoavailability of As, Cd and Cu since for Zn and Pb this relation is attributed to Al and Fe-content of soil. Statistically significant correlation coefficients were determined between the EDTA-soluble fraction of soil and content in grass in the case of As, Cd, Cr, Cu, Mn and Pb indicating the suitability of the short procedure for phytoavailability studies of those elements. The application of hierarchical cluster analysis and self-organizing maps of Kohonen made it possible to reveal specific hidden relationships between the soil variables and transfer factors as well as between the sampling locations. This additional information helps in more detailed interpretation of phytoavailability and transfer processes in the region of interest.

The novelty in this study is achieved by careful consideration of the possibility of using EDTA extracts of the toxic metals in investigating of the phytoavailability and transfer processes soil/plant. Additionally, chemometric expertise used makes it possible to differentiate the behavior of each toxic metal in the processes studied. The combination of easy option for rapid extraction and intelligent data analysis gives a new perspective for contributions in explanation of the complex interactions between soils and plants when assessing pollution events in a certain environment.

Събрани са проби от повърхностния почвен слой и тревата от 14 пробовземателни места, разположени на различни разстояния от три мини за добив на мед и медодобивен завод в Средногорието, България. Публикацията разглежда резултатите от проучвания върху мобилността на потенциално токсични елементи (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) от замърсени почви към дива трева *Cynodon dactylon* по отношение на фактори на пренос (почва към растение) и биодостъпност (EDTA (етилендиаминтетраоцетна киселина)-почвен извлек към

растение). Почвите, разположени в близост до мините и медодобивния завод, са силно замърсени с As и Cu, достигайки нива до 500 mg/kg и 2400 mg/kg, съответно. На седем места арсенът и медта в тревата са над нормалните нива (1 mg/kg As; 20 mg/kg Cu). Съдържанието на Cu в тревата е средно 63 mg/kg, превишавайки максимално допустимото за овце. Открита е връзка между стойностите на двата фактора за As, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, но не и за Mn и Cr. До известна степен рН на почвата, ТОМ (общо съдържание на органични вещества) и съдържанието на CaCO<sub>3</sub> са свързани с биодостъпността на As, Cd и Cu, докато за Zn и Pb тази връзка се определя от съдържанието на Fe и Al в почвата. Статистически значими коефициенти на корелация са определени между разтворимата в EDTA фракция на почвата и съдържанието в тревата за елементите As, Cd, Cr, Cu, Mn и Pb, което показва възможността за използване на кратката процедура за изследвания на биодостъпността на тези елементи. Прилагането на йерархичен клъстерен анализ и самоорганизиращите се карти на Кохонен разкрива специфични скрити връзки между параметрите на почвата и факторите на пренос, както и между пробовземателните места. Тази допълнителна информация помага за по-подробно тълкуване на биодостъпността и процесите на пренос в изследвания регион.

Това изследване предлага нов начин за оценка на биодостъпността и процесите на пренос в сложната система почва/растение като разглежда възможността да се използват почвени екстракти на токсичните метали с EDTA. Изполваната хеометрична експертиза дава възможност да се разграничи поведението на всеки токсичен метал в изследваните процеси. Комбинацията от лесна възможност за бърза екстракция и интелигентен анализ на данни предлага нова перспектива в обяснението на сложните взаимодействия между почвата и растенията при оценка на замърсяването в околната среда.

- 10. Yotova, G., Padareva, M., Hristova, M., Astel, A., Georgieva, M., Dinev, N., Tsakovski, S. “Establishment of geochemical background and threshold values for 8 potential toxic elements in the Bulgarian soil quality monitoring network”, *Science of the Total Environment*, 2018, 643, 1297-1303.**

Establishment of geochemical background and threshold values of potentially toxic elements is essential for soil management activities. Available topsoil data collected in the Bulgarian soil quality monitoring network are explored for the concentrations of the potentially toxic elements (PTEs) of As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb and Zn. The ‘median + 2MAD’ and TIF methods for obtaining geochemical threshold values, which differentiate sampling sites with background from those with unusually high element concentrations, are presented. Comparison of the derived national geochemical threshold values with those obtained in European studies outlines the specificity of the Bulgarian PTE background concentrations among the other southern European countries. The threshold values for Cd, Cu, Ni, Pb and Zn are more similar to those derived from the northern European countries since the As and Cr ones are more close to the values derived for southern Europe. The geochemical threshold of Hg is almost one order of magnitude as high as the southern European derived value. The usage of geochemical threshold values for soil risk assessment is suggested by comparison with soil quality guideline values adopted in other countries. The combination of threshold values based on 90th percentile with geochemical mapping identifies the priority areas for further assessment. Regions with more than 2 PTEs (2.26% of the Bulgarian territory) are suggested for detailed (eco)toxicological assessment.

Установяването на геохимичния фон и прагови стойности на потенциално токсични елементи (ПТЕ) е от съществено значение за управлението на почвите. От наличните данни от българската национална мрежа за почвен мониторинг е съставена база данни за концентрациите на потенциално токсичните елементи As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb и Zn в повърхностния почвен слой. Представени са методите „медяна + 2MAD“ и „TIF (Tukey inner fence)“, базиран на бокс-плот диаграмата, за изчисляване на геохимичните прагови стойности, които да определят пробовземателните места с необичайно високи концентрации на изследваните ПТЕ. Сравнението на изчислените национални прагови стойности с тези, получени в други европейски проучвания, очертава особеностите на българските фонове концентрации на ПТЕ сред другите южноевропейски страни. Праговите стойности за Cd, Cu, Ni, Pb и Zn са по-близки до тези, получени от северноевропейските страни, докато тези за As и Cr са по-близки до стойностите, получени за Южна Европа. Геохимичният праг на Hg е по-висок с почти един порядък от стойността, получена в Южна Европа. Изчислените прагови стойности за ПТЕ могат да се използват за оценка на риска за почвите. Комбинирането на установените прагови стойности на ПТЕ, основаващи се на 90-ия перцентил с геохимично картографиране, идентифицира местоположенията на приоритетните зони за по-нататъшна оценка. Регионите, в които се наблюдават превишения на геохимичните прагови стойности за 3 или повече ПТЕ (2.26% от територията на България) са предложени за специфична оценка на риска за околната среда въз основа на екотоксикологични анализи.

11. Kudlak, B., Jatkowska, N., Kubica, P., Yotova, G., Tsakovski, S. “Influence of storage time and temperature on the toxicity, endocrine potential, and migration of epoxy resin precursors in extracts of food packaging materials”, *Molecules*, 2019, 24(23), 4396.

The aim of the present study was to establish a standard methodology for the extraction of epoxy resin precursors from several types of food packages (cans, multi-layered composite material, and cups) with selected simulation media (distilled water, 5% ethanol, 3% dimethyl sulfoxide, 5% acetic acid, artificial saliva) at different extraction times and temperatures (factors). Biological analyses were conducted to determine the acute toxicity levels of the extracts (with *Vibrio fischeri* bacteria) and their endocrine potential (with *Saccharomyces cerevisiae* yeasts). In parallel, liquid chromatography-tandem mass spectrometry was performed to determine levels of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), bisphenol F diglycidyl ether (mixture of isomers, BFDGE), ring novolac glycidyl ether (3-ring NOGE), and their derivatives. The variation induced by the different experimental factors was statistically evaluated with analysis of variance simultaneous component analysis (ASCA). Our findings demonstrate the value of using a holistic approach to best partition the effects contributing to the end points of these assessments, and offer further guidance for adopting such a methodology, thus being a broadly useful reference for understanding the phenomena related to the impacts of food packaging materials on quality for long- and short-term storage, while offering a general method for analysis.

Целта на представеното изследване е да се установи стандартна методология за извличане на прекурсори на епоксидна смола от няколко вида хранителни опаковки (консерви, многослоен композитен материал и чаши) с избрана симулирана среда (дестилирана вода, 5% етанол, 3 % диметилсулфоксид, 5% оцетна киселина, изкуствена слюнка) при различни време за екстракция и температура (фактори). Проведени са екотоксикологични анализи, за да се определят нивата на остра токсичност на екстрактите (с бактерии *Vibrio fischeri*) и техния ендокринен потенциал (с дрожди *Saccharomyces cerevisiae*). Успоредно с това е извършен анализ чрез течна хроматография-тандемна масспектрометрия за определяне на нивата на бисфенол А диглицидилов етер (BADGE), бисфенол F диглицидилов етер (смес от изомери, BFDGE), тример на новолак глицидилов етер (тример NOGE) и техните производни. Вариациите, предизвикани от различните експериментални условия, са оценени статистически чрез вариационен анализ с разлагане по главни компоненти (ASCA). Получените резултати могат да служат като полезна справка за разбиране на явленията, свързани с въздействието на материалите за хранителни опаковки върху качеството за дългосрочно и краткосрочно съхранение, като демонстрират и стойността на използването на холистичен подход и предлагат допълнителни насоки за приемане на такава методология.

**12. Yotova, G., Lazarova, S., Mihaylova, V., Venelinov, T. “Water Quality Assessment of Surface Waters and Wastewaters by Traditional and Ecotoxicological Indicators in Ogosta River, Bulgaria”, *International Journal Bioautomation*, 2021, 25(1), 25-40.**

Surface water samples in Ogosta River, Bulgaria and wastewater samples at the inlet and outlet of WWTP–Montana were tested for the traditional parameters and ecotoxicological effect. The river and Dam surface waters comply with category A1 of Directive 75/440/EEC for pH, EC, COD, TSS,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , B, Ba, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V and Zn; with category A2 for  $\text{BOD}_5$ ,  $\text{NH}_4^+$ -N and Fe; and with category A3 for TNb and As. The average annual concentrations of Al, Cr (III), Cr (VI) and U are lower than the set limits in the Water Framework Directive. All the levels of the studied parameters in the outlet wastewater samples are lower than the limits, set in Directive 91/271/EEC and in the complex permit of the WWTP. The results of the biotest Phytotoxkit F™ show low ecotoxicity of the water samples. Optimization of the sample pretreatment prior to this ecotoxicological test is analyzed and discussed.

Проби от повърхностни води в река Огоста, България и проби от отпадъчни води на входа и изхода на ПСОВ–Монтана са изследвани за традиционните параметри за качество на водите и екотоксикологичния ефект. Повърхностните води на реката и язовира отговарят на категория А1 от Директива 75/440/ЕЕС за рН, електропроводимост, ХПК, НВ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , В, Ва, Со, Сr, Сu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V и Zn; на категория А2 за БПК<sub>5</sub>,  $\text{NH}_4^+$ -N и Fe; и на категория А3 за TNb и As. Средните годишни концентрации на Al, Cr (III), Cr (VI) и U са по-ниски от максимално допустимите концентрации, определени в Рамковата директива за водите. Всички изследваните параметри в пробите от отпадъчни води на изхода на ПСОВ са под границите, определени в Директива 91/271/ЕЕС и в комплексното разрешително на ПСОВ. Резултатите от екотоксикологичния тест Phytotoxkit F™ показват ниска екотоксичност на водните проби. Анализирана е оптимизация на процедурата за пробоподготовка за използвания екотоксикологичен тест.

13. Venelinov, T., Yotova, G., Mihaylova, V., Lazarova, S., Tsakovski, S. “Impact Assessment of the Wastewater Treatment Plants’ Discharges on Maritsa River”, *International Journal Bioautomation*, 2021, 25(2), 169-182.

Data analysis of wastewater samples at the outlets of wastewater treatment plants (WWTPs) of Pazardzhik, Plovdiv and Svilengrad, which discharge into the Maritsa River is presented. Total monthly loads for 2017 at the outlets are calculated using the monthly averages for the concentrations of chemical oxygen demand, biochemical oxygen demand, total phosphorus and total nitrogen (TN) and the monthly averages for the flow rates. The contributions of the WWTPs to the total river loads emphasize that the impact of WWTPs of Pazardzhik and Plovdiv is significantly greater than WWTP of Svilengrad. Additionally, river water samples were collected before and after the discharge points of the WWTPs in August 2018 and analyzed for water quality parameters listed in Directive 75/440/EEC. Comparison between the river concentrations before the outlet of WWTP – Pazardzhik and after the last sampling point (the outlet of WWTP – Svilengrad) indicates an increase for all the studied parameters, except for Al and Cu. Based on the results obtained for TN, the category of the surface water is significantly deteriorated after discharge of the WWTP – Plovdiv. Wastewater effect on the river surface water is also estimated by using a battery of ecotoxicological tests. The results are presented and compared by the classical approach using categorization based on water quality indicators.

Представен е анализ на данни от проби от отпадъчни води на изходите на пречиствателните станции за отпадъчни води (ПСОВ) на Пазарджик, Пловдив и Свиленград, които се заустват в р. Марица. Общите месечни товари за 2017 г. в отработените от ПСОВ отпадъчни води са изчислени, като са използвани средномесечните стойности за концентрациите на химична потребност от кислород, биологична потребност от кислород, общ фосфор и общ азот и средните месечни стойности за речния отток. Допринасянето на ПСОВ към общите натоварвания в реката подчертава, че въздействието на ПСОВ-Пазарджик и ПСОВ-Пловдив е значително по-голямо от това на ПСОВ-Свиленград. В допълнение, през м. август 2018 г. е извършено пробовземане от реката преди и след точките за заустване на ПСОВ и е проведен анализ на параметрите за качество на водите, включени в Директива 75/440/ЕЕС. Сравнението между концентрацията в реката преди заустването на ПСОВ–Пазарджик и след заустването на ПСОВ–Свиленград (последната пробовземателна точка) показва повишение за всички изследвани параметри, с изключение на Al и Cu. Въз основа на получените резултати за общ азот, категорията на повърхностните води значително се влошава след заустване на ПСОВ–Пловдив. Въздействието на отпадъчните води върху качеството на водите в реката е оценено и чрез използване на набор от екотоксикологични тестове. Използван е класически подход за представяне и сравняване на резултатите чрез използване на категоризацията, основаваща се на показателите за качество на водите.

14. Venelinov, T., Mihaylova, V., Peycheva, R., Todorov, M., Yotova, G., Todorov, B., Lyubomirova, V., Tsakovski, S. “Sediment Assessment of the Pchelina Reservoir, Bulgaria”, *Molecules*, 2021, 26(24), 7517.

The temporal dynamics of anthropogenic impacts on the Pchelina Reservoir is assessed based on chemical element analysis of three sediment cores at a depth of about 100–130 cm below the surface water. The  $^{137}\text{Cs}$  activity is measured to identify the layers corresponding to the 1986 Chernobyl accident. The obtained dating of sediment cores gives an average sedimentation rate of 0.44 cm/year in the Pchelina Reservoir. The elements' depth profiles (Ti, Mn, Fe, Zn, Cr, Ni, Cu, Mo, Sn, Sb, Pb, Co, Cd, Ce, Tl, Bi, Gd, La, Th and Unat) outline the Struma River as the main anthropogenic source for Pchelina Reservoir sediments. The principal component analysis reveals two groups of chemical elements connected with the anthropogenic impacts. The first group of chemical elements (Mn, Fe, Cr, Ni, Cu, Mo, Sn, Sb and Co) has increasing time trends in the Struma sediment core and no trend or decreasing ones at the Pchelina sampling core. The behavior of these elements is determined by the change of the profile of the industry in the Pernik town during the 1990s. The second group of elements (Zn, Pb, Cd, Bi and  $U_{\text{nat}}$ ) has increasing time trends in Struma and Pchelina sediment cores. The increased concentrations of these elements during the whole investigated period have led to moderate enrichments for Pb and Unat, and significant enrichments for Zn and Cd at the Pchelina sampling site. The moderately contaminated, according to the geoaccumulation indexes, Pchelina Reservoir surface sediment samples have low ecotoxicity.

Времевата динамика на антропогенните въздействия върху язовир Пчелина е оценена въз основа на химичен елементен анализ на три седиментни ядки на дълбочина около 100–130 cm под повърхността на водата. Измерена е активността на  $^{137}\text{Cs}$ , за да се идентифицират слоевете, съответстващи на аварията в Чернобил през 1986 г. Полученото датироване на седиментни ядки дава средна скорост на утаяване от 0,44 cm/година в язовир Пчелина. Дълбочинните профили на елементите (Ti, Mn, Fe, Zn, Cr, Ni, Cu, Mo, Sn, Sb, Pb, Co, Cd, Ce, Tl, Bi, Gd, La, Th и  $U_{\text{nat}}$ ) очертават река Струма като основен антропогенен източник за седиментите от яз. Пчелина. Анализът на главните компоненти разкрива две групи химични елементи, свързани с антропогенните въздействия. Първата група химични елементи (Mn, Fe, Cr, Ni, Cu, Mo, Sn, Sb и Co) проявява нарастваща времева тенденция в седиментната ядка на река Струма и намаляваща или отсъствие на времева тенденция в ядката на язовир Пчелина. Поведението на тези елементи се определя от промяната индустриалната дейност в гр. Перник през 90-те години. Втората група елементи (Zn, Pb, Cd, Bi и  $U_{\text{nat}}$ ) има нарастваща времева тенденция в седиментните ядки на река Струма и язовир Пчелина. Повишената концентрация на тези елементи през целия период на изследване са довели до умерено обогатяване с Pb и  $U_{\text{nat}}$  и значително обогатяване с Zn и Cd в пробовземателната точка от язовир Пчелина. Умерено замърсените, според индексите на геоакумулация, проби от повърхностни седименти на язовир Пчелина, проявяват ниска екотоксичност.

15. Angelova, I., Yotova, G., Mihaylova, V., Venelinov, T. “Distribution of Aluminium in the Water Supply System of Sofia City, Bulgaria”, *International Journal Bioautomation*, 2022, 26(3), 241-254.

Elevated concentrations of aluminium have been found at the outlets of the Drinking Water Treatment Plants (DWTPs) of Sofia city, Bulgaria and in separate sampling points in the water supply network. Cluster analysis is performed for multivariate data interpretation of the distribution of Al concentrations during 2019 at 19 water sampling points (2 DWTPs outlets and 17 points within the city water supply system). Although the concentration of aluminium in the outlet of the treatment plants differ significantly, both of them fall into the same cluster, as the concentrations during the year change in the same manner. The formed cluster of both the treatment plants and most of the studied sampling points indicate the mixed origin of the purified water and proves that the concentration of Al in tap water is dominated by the qualities and quantities from the different sources of the supplied water, rather than by the secondary processes in the network for areas with predominant steel and polyethylene (PE) pipes. A distinct exception are the areas with old asbestos cement pipelines where potential release of the metal from the cement affects the Al distribution in the water supply system.

Установени са повишени концентрации на алуминий на изходите на пречиствателните станции за питейни води (ПСПВ) на гр. София, България и в отделни пробовземателни пунктове във водоснабдителната мрежа. Проведен е клъстерен анализ с цел многовариационен анализ и интерпретация на данните за разпределението на концентрацията на Al през 2019 г. в 19 пробовземателни пункта (2 от изхода на ПСПВ и 17 точки в градската водоснабдителна мрежа). Въпреки, че концентрацията на алуминий на изхода на пречиствателните станции се различава значително, и двете ПСПВ попадат в един и същи клъстер, тъй като се наблюдават сходни изменения в концентрацията на алуминий през годината. Клъстерът, формиран както от пречиствателните станции, така и от по-голямата част от пробовземателните пунктове, показва смесения произход на пречистената вода и доказва, че концентрацията на Al в чешмяната вода в по-голяма степен се определя от качеството и количеството вода, доставено от различните източници, отколкото от вторичните процеси, протичащи в тръбопроводите в районите с преобладаващи стоманени и полиетиленови (PE) тръби. Отчетливо изключение са районите със стари тръбопроводи от азбестоциментови тръби, където потенциалното отделяне на метала от цимента влияе върху разпределението на Al във водоснабдителната мрежа.

19.01.2024 г.

гр. София