

АВТОРСКА СПРАВКА ЗА НАУНИТЕ ПРИНОСИ ОТ ПУБЛИКАЦИИТЕ ИЗВЪН ХАБИЛИТАЦИОННИЯ ТРУД НА

гл. ас. д-р Катерина Иванова Алексиева

по процедура за заемане на академичната длъжност „доцент“

**в професионално направление 4.2. „Химически науки“ и научна специалност
„Химична кинетика и катализ“, Тематично направление „ЕПР спектроскопия и
качество на живот“**

(ДВ бр. 77/ 01.10. 2019)

Общият брой публикации на кандидата е 32, от които 26 са в списания с импакт фактор. Кандидатът участва в конкурса с 27 публикации (от които 1 обзор), като 22 са в списание с импакт фактор (6 от тях са в Q1, 4 в Q2, 7 от тях са в Q3 и 5 в Q4). В 11 от публикациите кандидатът е посочен като първи автор и автор за кореспонденция. Общият брой на забелязаните цитати е 166 (без автоцитати на всички автори). Забелязаните цитати от базата данни на ISI (Scopus и Web of Science) върху публикациите, участващи в конкурса е 87. Индексът по Хирш (H) на кандидата въз основа на всички публикации, включени в базата данни на ISI е 8.

В настоящата Авторска справка извън хабилитационния труд са включени трудове с номера 1, 2, 5, 7, 9-11, 13-18, 20, 22-27, които са представени съгласно номерацията им в Списъка на публикациите за участие в конкурса.

Трудовете, представени от кандидата за участие в конкурса са посветени на приложни изследвания фокусирани върху анализ на хранителни продукти и лекарствени препарати, облъчени с високоенергетично лъчение; адсорбционни свойства на отпадъчни лигноцелулозни материали спрямо йони на метали (биосорбция); изясняване на окислителното състояние на парамагнитни йони в някои каталитични материали. Свързващо звено във всички изследвания е използването на метода на Електронния Парамагнитен Резонанс (ЕПР) спектроскопия.

В настоящата Авторска справка извън хабилитационния труд научните трудове, представени за участие в конкурса са групирани в три основни направления. Основните научни направления са:

1. Идентифициране на гама-облъчени хранителни продукти и лекарства с метода на ЕПР спектроскопия;

2. ЕПР изследване на отпадъчни лигноцелулозни материали като биосорбенти на метали за пречистване на води;
3. ЕПР определяне на окислителното състояние на парамагнитни йони в каталитични материали

Идентифициране на гама-облъчени хранителни продукти и лекарства с метода на ЕПР спектроскопия

Кандидатът работи основно в това направление, което е продължение на приносния характер на трудовете от Хабилитационната справка. В това направление са включени 12 от трудовете [1, 2, 5, 7, 9, 11, 13, 16, 18, 24, 26, 27]

Съвременните теоретични и практически изследвания са доказали, че сублимационното сушене е най-добрият метод за качествено консервиране на бързо развалящи се продукти, като крайните продукти се отличават със запазени цвят, аромат, хранителни свойства, съдържание на витамини, непроменен първоначален обем и бърза рехидратация. Един от основните критерии за качеството на лиофилизираните продукти е техния микробиален статус. Обикновено в процеса на лиофилизация, поради редуцията на свободната вода, една част от вегетативните форми на мезофилните микроорганизми, част от дрождите и рядко от плесените загиват. Не е изключено спорите на бактериите, някои микроскопични гъби и дрожди, които притежават по-висока резистентност на термично и технологично третиране да преживеят след лиофилизация. Ето защо, интерес представлява възможността за комбиниране на тази технология с гама стерилизация. Тази тема я разработваме съвместно с колеги от лабораторията на акад. Цветан Цветков от Института по Криобиология и Хранителни технологии, които са известни в научните среди със създаването и подготовката на родните лиофилизирани храни за извеждането им в Космоса.

Изследвани са лиофилизирани горски плодове [9] и годжи бери [24]. При всички лиофилизирани горски плодове (с изключение на арония) се регистрира единствено синглетна линия, чиито интензитет нараства след облъчване, но промяна в g – фактора не се отчита, т. е. не може да се твърди че пробите са облъчени [9]. При лиофилизирана боровинка освен централната синглетна линия се регистрират в допълнение и шест линии, които се дължат на присъствието на Mn^{2+} йони. При лиофилизираната боровинка

мангановия спектър, който е радиационно нечувствителен може да се използва като вътрешен стандарт за доказване на радиационната обработка. Този подход не е заложен в протоколите на Европейската комисия по стандартизация, но е разработен от кандидата в предишни изследвания и включен в дисертацията за придобиване на ОНС “доктор”. Интензитетът на синглетния сигнал нараства с дозата на облъчване, тъй като тази линия е радиационно чувствителна, докато интензитета на мангановите линии остава постоянен. По този начин съотношението на линиите Mn^{2+} /синглет може да служи за доказване на радиационното третиране. За домати чрез ЕПР спектроскопия е установено, че окислителното състояние на манган в дръжките, листата и плода е Mn^{2+} , а на желязо Fe^{3+} [7]. В почвата се регистрира единствено висока концентрация на желязо. Установи се, че окислителното състояние на манган и желязо в различните части на домати не зависи от използвания тор.

Същите йони се наблюдават и в годжи бери [24], където детектираната широка ЕПР линия се отдава на припокриването на линиите от манган и желязо. При по-ниска концентрация на манган се наблюдава характерния секстетен ЕПР спектър, но при увеличаване на концентрацията линиите се разширяват и се преминава към регистрирането на синглет с насложен върху него секстет и при още по-големи концентрации към синглетна линия поради дипол-диполното взаимодействие. Гама-стерилизацията генерира свободни радикали в целулозата, поради което интензитетът на тясната линия значително нараства. Редът на интензивност на сателитните линии е следния: проба без предварителна обработка < годжи бери след лиофилизация < годжи бери след промиване с етилов алкохол. По този начин промиването с алкохол е най-добрата процедура за приготвяне на пробите от годжи бери за доказване на облъчването, което е възможно в рамките на 50 дни. ЕПР изследването показва, че свободните радикали, получени по време на облъчване, не могат да възпрепятстват или унищожат антирадикаловия капацитет, осигурен от плодовете на годжи бери. Напротив, увеличаването на дозата на облъчване до 10 kGy води до подобряване на антирадикаловата (антиоксидантната) активност на изследваните проби.

Докладвани резултати [13] показват недвусмислено, че присъствието на характерни ЕПР спектри на проби от зърнено-житни култури може да се използва за идентифициране на предходна радиационна обработка. Гама-лъчите генерират свободни радикали в

целулозата и в нищестето на изследваните проби. Кинетичното поведение при различните храни е сходно, като най-стабилни сигнали се получават за бял и кафяв ориз. Тази научна разработка беше финансирана от Европейския социален фонд, в рамките на Оперативна програма “Развитие на човешките ресурси”, Договор BG051PO001-3.3.06-0050.

На радиационна обработка с дози от 10 и 25 kGy са подложени лешници и фъстъци с цел да се изследва как тя влияе върху липидния профил и окислителната стабилност, особено при по-високата доза, която надвишава нормативно признатата. С ЕПР спектроскопия за лешници [26] не е намерена значителна разлика между спектрите на облъчените проби при двете дози и кинетичното поведение на централната и сателитните линии е еднакво за 10 kGy и 25 kGy. Поведението на централната линия и сателитните пикове доказва случая за поне два радиационно-индуцирани сигнала. Наличието на сателитни линии позволи да се идентифицира облъчването дори след 8 месеца. Антирадикаловата (антиоксидантната) активност на облъчените с 10 kGy проби намалява в сравнение с необлъчените, но остава постоянна 6 месеца след обработка с йонизиращи лъчения, докато при облъчените с 25 kGy лешници постепенно намалява за същия период от време. Радиационната обработка не оказва влияние върху съдържанието на мазнини, мастни киселини и окислителната стабилност на масла от облъчени лешници. Тези нови резултати са от значение за практиката, защото те доказват, че дори и при много по-висока доза гама-облъчване (25 kGy), лешниковото масло запазва своите важни липидни характеристики. Резултатите при фъстъци [27] са сходни с тези за лешници. При тях облъчването с 25 kGy индуцира свободни радикали не само в целулозата, но и в нищестето. Не се наблюдава значителна разлика в кинетичните криви за двете дози, също така и разлика в съдържанието на мазнини и мастни киселини. Тези изследвания [26, 27] са финансирани по проект с Фонд „Научни изследвания“, Договор ДН 19/14.

Сравнени са предимствата и недостатъците на ЕПР спектроскопията за идентифициране на гама-облъчени храни с методите на Директна Епифлуоресцентна филтър-техника (ДЕФТ) [1, 2] и Електрофореза на ДНК [5]. Стандартите на Европейската общност EN 13783 EN и EN 13784 за последните два метода са скрийнинг (отсяващи), т.е резултатите задължително трябва да се потвърдят с някои от основните методи, в т.ч. ЕПР спектроскопия. За плодове [1] единствено при кайсии е възможно доказване на облъчването с микробиологичният метод ДЕФТ, докато използваните дози от 1 и 3 kGy не

са достатъчни за идентифициране на сини сливи и праскови. С ЕПР спектроскопия при всички изследвани проби е възможно да се потвърди радиационната обработка. В следващи изследвания [2, 5] на анализ са подложени месни продукти. Стандарт EN 1786 е свързан с приложението на ЕПР спектроскопията за откриване на облъчено месо, съдържащо кости. След облъчване в костите на месо се регистрира асиметричен сигнал с $g_{\perp} = 2.002$ и $g_{\parallel} = 1.997$. Асиметричният сигнал се отдава на генерирани от радиацията свободни радикали от типа $\text{CO}_3^{\cdot-}$, CO_3^{3-} или $\text{CO}_2^{\cdot-}$ в калциевия хидроксиапатит. Необлъчените проби са ЕПР неактивни или са свързани с регистриране на слаб симетричен сигнал. Съгласно стандарт EN 1786 присъствието на асиметричния сигнал в ЕПР спектъра е недвусмислено доказателство за радиационна обработка. С ДЕФТ и Електрофореза на ДНК се идентифицират месните проби като облъчени, но методите са с по-ниска чувствителност. Тази работа беше подкрепена по проект с Фонд „Научни изследвания“, Договор ТК-Х-1604.

По случай годишнината на Институт по катализ в Списанието на БАН също беше публикувана статия, в която са обобщени основните резултати по темата, получени до този момент [11].

Както обществото, така и научните среди са разделени на привърженици и противници на хомеопатията. Затова за нас бяха интересни резултатите, получени за разнообразни хомеопатични лекарства, както на растителна, така и на животинска основа [16]. Преди облъчване хомеопатичните лекарства са ЕПР неактивни, а след радиационна обработка се получава типичен спектър на захароза, използвана като помощно вещество. Това е в съответствие с добре известния факт, че за да се достигнат хомеопатичните концентрации, избрано изходно вещество или съединение серийно се разрежда във вода или етилов алкохол. По този начин не може да се регистрира ЕПР спектър от активна субстанция. На ЕПР анализ са подложени и други таблетки – галантамин, цитизин и бабини зъби [18]. При галантамин и цитизин се детектира типичен спектър на лактоза, използвана като помощно вещество. При бабини зъби се регистрира еднакъв спектър преди и след облъчване- широка синглетна линия, дължаща се на присъствието на кълстери от железен оксид, използван като оцветител във филмовото покритие на таблетката. В двете научни разработки [16, 18] свободните радикали, генерирани съответно в захароза и лактоза са изключително стабилни във времето.

Като заключение на тази част от научните приноси, разглеждаща постигнатите резултати по направление „Идентифициране на гама-облъчени хранителни продукти и лекарства с метода на ЕПР спектроскопия“ могат да се направят изводи, че новите разработки разширяват обхвата на приложимост на Европейските стандарти - EN 1787 и EN 13708 за облъчени храни. За първи път са изследвани някои облъчени храни и лекарства, което е от значение за приложението на изследванията в практиката.

ЕПР изследване на отпадъчни лигноцелулозни материали като биосорбенти на метали за пречистване на води

Методът на ЕПР спектроскопия се характеризира с висока чувствителност, селективност и недеструктивен характер на измерването. Затова той може да даде ценна информация относно окислителното и координационно състояние на парамагнитни йони в изследваните материали. Тези разработки са резултат от съвместна работа с колеги от Институт по Обща и Неорганична химия – БАН и Химикотехнологичен и металургичен университет. Моята работа се състои в охарактеризиране на материалите с ЕПР спектроскопия. В това направление са включени пет от трудовете [10, 15, 17, 22, 25].

Повишеният интерес към производството на биоетанол от растителни суровини поставя въпроса за оползотворяването на отпадъчния хидролизиран лигнин, съдържащ известно количество целулоза. Една възможност за решаване на този проблем е да се изясни потенциалът за използване на такива материали като адсорбенти на метални йони, други елементи и органични съединения от водни разтвори с цел пречистване на отпадъците и природните води. Биосорбцията е перспективен, бързо развиващ се метод за отстраняване на тежки токсични метали от водни разтвори. Тя се базира на способността на различни материали от биологичен произход да свързват метални йони и по този начин да редуцират тяхната концентрация до практически нулеви нива. В основата на адсорбционните свойства на материали на основата на лигнин, стои наличието на различни функционални групи на повърхността на лигнина и възможност за протичане на обменни реакции с повърхностните групи.

Целта на първото проучване [10] е да се изследва адсорбцията на Cu^{2+} йони от проби на хидролизиран лигнин и алкално третиран хидролизиран лигнин, получени от пшенична слама и царевични стъбла. Механизмът на адсорбцията, адсорбционните центрове,

специфичната повърхност и потенциалното практическо приложение на тези материали са анализирани с множество методи, сред които и ЕПР спектроскопия. Бяха регистрирани спектри със следните параметри: $g_{\parallel} = 2.287 \pm 0.004$ и $g_{\perp} = 2.065 \pm 0.004$; $A_{\parallel} = 15.0 \text{ mT} \pm 0.3 \text{ mT}$, които са характерни за комплекси на мед (II). В допълнение при всички проби беше регистрирана и синглетна линия с $g = 2.004 \pm 0.001$, дължаща се на присъствието на свободни радикали. Медните йони се координират към кислородните атоми и образуват тетраедричен комплекс. Детектирането на четири линии в успоредна ориентация в ЕПР спектъра показва, че Cu^{2+} йони са разделени и не се реализира обменно взаимодействие. Затова може да се заключи, че те са разположени на относително далечно разстояние на повърхността на лигнина.

Изследвана е адсорбцията на Mn^{2+} йони в хидролизирани лигноцелулозни материали и алкално третиран хидролизиран лигнин, получени от пауловния, слама и царевични стъбла [15]. С ЕПР спектроскопия беше регистриран спектър, състоящ се от шест свръхфини линии, който е характерен за йони на Mn^{2+} (ядрения спин на ^{55}Mn , който е 100% природно съдържание е 5/2). ЕПР спектърът на Mn^{2+} се характеризира с g фактор 2.021 и константа на свръхфино взаимодействие $A_0 = 9.5 \text{ mT}$. В допълнение беше регистрирана и тясна синглетна линия с $g = 2.004$, дължаща се на присъствието на свободни радикали и припокриваща се с четвъртата линия на манган. Съответно окислителното състояние на адсорбирания манган е Mn^{2+} . Струва си да се отбележи, че откриването на шестте линии на този йон става само когато те са разположени, така че да няма взаимодействие между тях. Това се потвърждава и от заключението направено в съгласие на адсорбционната изотерма на Лангмюир, че количеството на адсорбираните манганови йони не зависи от запълването на повърхността на адсорбента.

Следващият йон, изследван за неговите адсорбционни свойства в лигноцелулозните материали, получени от върба, пауловния, слама и царевични стъбла [17] и бяла топола и бяла акация [22] е Ag^+ . Ag^+ е диамагнитен със запълнена електронна конфигурация $4d^{10}$ и е ЕПР неактивен. Някои от сребърните частици са парамагнитни: Ag^0 (с конфигурация $4d^{10}5s^1$), Ag^{2+} (с електронната конфигурация $4d^9$), както и някои сребърни кълстери от типа Ag_2^+ , Ag_3^{2+} .. Съобщава се, че g -факторът на Ag^0 е изотропен и близък до стойността на свободния електрон 2.0023, докато сигналите на Ag^{2+} , се появяват при $g_{\perp} \sim 2.05$ and $g_{\parallel} \sim 2.35$. При проби от хидролизирани царевични стъбла с ЕПР спектроскопия се регистрира

широка синглетна линия с g фактор 2.0258, която се дължи на сребърни кълъстери от типа Ag_y^{x+} . При всички проби се регистрира и тясна синглетна линия с g фактор 2.0026, която се дължи на Ag^0 . В допълнение при всички проби се детектират ЕПР линии при g фактори 4.1224 и 2.1816, характерни съответно за Fe^{3+} в тетрагонално и октаедрично обкръжение. Резултатите от Рентгеновата фотоелектронна спектроскопия и ЕПР потвърждават комплексния характер на адсорбцията на Ag^+ йони върху хидролизирани лигноцелулозни отпадъчни материали и доказват образуването на метални сребърни кълъстери. Според получените резултати, адсорбцията на Ag^+ йони преминава през няколко етапа както следва: Ag^+ (разтвор) ---- Ag^+ (адсорбат) ---- Ag_y^{n+} (адсорбат) ---- Ag^0 (адсорбат). Тези резултати са потвърдени и от високите антибактериални свойства на лигноцелулозните материали дотирани със сребро [25] където се доказва, че имат висок ефект при унищожаването на вредните бактерии, като грам-положителни *Bacillus subtilis* щам 3563 и грам-отрицателна *Escherichia coli* K12 във водни разтвори.

Основен извод за научните приноси по направление „ЕПР изследване на отпадъчни лигноцелулозни материали като биосорбенти на метали за пречистване на води“ е възможността с ЕПР спектроскопия, да се определи окислителното и координационно състояние на парамагнитните йони в биологичните материали, което е от значение за приложението им в практиката като биосорбенти.

ЕПР определяне на окислителното състояние на парамагнитни йони в каталитични материали

Въпреки, че ЕПР е обемен метод, той може да даде ценна информация относно окислителното и координационно състояние на парамагнитни йони в каталитичните материали. Моята работа се състои в охарактеризиране на катализаторите с ЕПР спектроскопия. ЕПР в катализа е сравнително нова тематика в нашата лаборатория. Затова в това направление са включени три от трудовете [14, 20, 23].

С цел охарактеризиране на окислителното състояние на паладия и кобалта в смесените Pd-Co/Al₂O₃ катализатори, бе извършено сравнително изследване с ЕПР на два вида проби: на изходни проби и такива след каталитичната реакция [14]. Бяха анализирани отделните монометални катализатори (Co/Al₂O₃ и Pd/Al₂O₃) и биметалният (Pd-Co/Al₂O₃). В тази работа бяха определени температурните зависимости на някои ЕПР

параметри, като ширина на ЕПР линията (ΔH_{pp}), g фактор и резонансно отместване ($B-Vr$). С помощта на ЕПР е установено, че при реакция на пълно окисление на метан, активната форма на Co модифицирани паладиеви катализатори са PdO кълстери. Ролята на повърхностно активната фаза на кобалт е да стабилизира паладия в неговото окислително състояние и да служи като резервоар на кислород. Тази научна разработка е финансирана от Европейският социален фонд в рамките на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ (BG051PO001-3.3.06-0050) и Фонд научни изследвания (ДФНИ Т01/6).

Двуфазни $CuO-NiO$ твърди образци са синтезирани, използвайки механично активиране и термично третиране при различни температури – 400, 500, 600 и 700°C [20]. Целта е да се изследва тяхната каталитична активност в окислителни реакции. С ЕПР спектроскопия във всички проби (приготвени при различни температури) се регистрира широка синглетна линия с еднаква ширина на линията. Най-вероятно тя се дължи на припокриването на двете фази – никелов оксид и меден оксид. Никеловият оксид е антиферомагнитно съединение и при стайна температура поради силни обменни взаимодействия между Ni^{2+} йони, линията до толкова се разширява, че ЕПР спектър не се регистрира. ЕПР спектър може да се регистрира от наночастици и твърди разтвори (както в този случай). Медният оксид също показва широка синглетна линия при стайна температура. В наблюдавания ЕПР спектър широката синглетна линия се дължи на формирането на твърди разтвори на мед в никеловия оксид и никел в медния оксид, в резултат на което се получават сигнали от двете фази, които се припокриват и водят до разширяване на линията. Тези резултати са потвърдени и с Рентгенова фотоелектронна спектроскопия.

Цел на следваща работа [23] е да се изследва каталитичната активност на лантанов и цериев оксиди нанесени върху γ -алуминиев оксид по отношение директното разлагане на азотен оксид. Създаването на катализатори за директно разлагане на азотен оксид, основен замърсител на атмосферата от ДВГ и редица промишлени производства, до азот и кислород е важна съвременна задача с оглед решаването на този екологичен проблем. Катализаторите са охарактеризирани с ЕПР спектроскопия. При $LaAl$ се наблюдава синглетната линия и за двата спектъра – на изходен и работил катализатор при $g = 2.0482$. Този сигнал се дължи на La^{2+} йони в кубична или тригонална симетрия.

Сравнявайки двата ЕПР спектъра може да се твърди, че в отработения $\text{La}/\text{Al}_2\text{O}_3$ има висока концентрация на La^{2+} йони в сравнение с изходния $\text{La}/\text{Al}_2\text{O}_3$, т.е. в изходния $\text{La}/\text{Al}_2\text{O}_3$ вероятно повече лантанови йони са с друга степен на окисление, напр. под формата на La^{3+} . La^{3+} йон е с конфигурация $4f^0$, поради което е диамагнитен и не се регистрира с ЕПР. За образеца CeAl ЕПР сигналът (който се отнася и за двата спектъра – изходен и отработен) при $g_{\perp}=1.9570$ и $g_{\parallel} = 1.9407$ се дължи Ce^{3+} йони в тригонално обкръжение. В същия спектър е обозначено наличието на O_2^- частици и шестте линии на йоните на Mn^{2+} . ЕПР линията отнесена към Ce^{3+} йони в тригонално обкръжение е регистрирана в цериев диоксид, който съдържа следи от примеси на Mn^{2+} . Тригоналното място на Ce^{3+} йон може да бъде лесно осъществимо близо до кислородна ваканция. Предполагано е, че мангановите йони насърчават образуването на ваканции и спомагат за детектирането на Ce^{3+} йони в тригонално обкръжение. Доказано е, че появата на сигнали от O_2^- частици показва наличието на важен брой електрони, вероятно възникващи от Ce^{3+} йони в решетъчни позиции, способни да бъдат прехвърлени на O_2 молекули и така O_2^- частици се намират на повърхностни Ce^{4+} йони с двете кислородни ядра на равни разстояния от повърхността.

Основен извод за научните приноси по направление „ЕПР определяне на окислителното състояние на парамагнитни йони в каталитични материали“ е възможността с ЕПР спектроскопия, да се определи окислителното и координационно състояние на парамагнитните йони в катализаторите, което е от значение за обясняване на каталитичната им активност.