

СТ А Н О В И Щ Е

от доц. д-р Илиян Радев Костов - зам. директор на ЦОРХВ, гр. София, бул. „Цар Борис III“) 136, съгласно заповед № 1046 от 11.05.2021 г. на Ректора на Тракийския университет - гр. Стара Загора

Относно: оценка на дисертационен труд на тема „Проучвания върху качеството и безопасността на пчелни продукти“, представен от доц. д-р Динко Христов Динков за придобиване на НС „Доктор на науките“ по научна специалност "Ветеринарно - санитарна експертиза", област на висшето образование 6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина

На първото заседание на научното жури, проведено на 18.05.2021 г. се взе решение да изготвя Становище по приложената документация и материалите по конкурса.

В посочения конкурс за придобиване на НС „Доктор на науките“ по научна специалност "Ветеринарно - санитарна експертиза" е допуснат за участие доц. д-р Динко Христов Динков, който е единствен кандидат. Темата на дисертационния труд е „Проучвания върху качествата и безопасността на пчелни продукти“.

На разширен катедрен съвет, проведен на 24.04.2021г. се извърши обсъждане на дисертационния труд и след изслушване на предварителните рецензии и станалите след това разисквания и дебати единодушно бе взето решение, че трудът е завършен и може да бъде представен за официална защита пред 7 членно научно жури.

Биографични данни за дисертанта

Доц. д-р Динко Христов Динков е роден 26.08.1968 г. в гр. Димитровград, Хасковска област. Основното си образование завършва в родния си град. През 1987 г. завършва средното си образование в Техникум по ветеринарна медицина гр. Стара Загора. След успешно издържан кандидат-студентски изпит и отбиване на военната си служба през 1989 г. той е приет за студент по ветеринарна медицина във Ветеринарномедицински факултет на Тракийски Университет (тогава ВИЗВМ) гр. Стара Загора. Дипломира през 1995 г. и получава квалификационна степен “ветеринарен лекар”. През същата година с конкурсен изпит е приет за асистент в катедра “Хигиена, технология и контрол на хранителните продукти от животински произход, ветеринарно законодателство и мениджмънт” при Ветеринарномедицински факултет, Тракийски Университет, гр. Стара Загора. През 1999 г. след успешна атестация е повишен в длъжност “старши асистент”, а през 2002 г. – в “главен асистент”. През декември 2005 г. успешно защитава дисертация на тема “Проучвания върху оптимизирането на ветеринарно-санитарния контрол на пчелен мед” и му е присъдена образователна и научна степен “доктор” по научна специалност 04.03.11 “Ветеринарно-санитарна експертиза”. През 2012 г. е избран за доцент в катедра „Хигиена, технология и контрол

на хранителните продукти, ветеринарно законодателство и мениджмънт“.

Дисертантът участва в конкурса с общо 19 научни публикации свързани с дисертацията, от които 8 бр. научни публикации в списания с Импакт фактор (IF) и Импакт ранг (SJR), а в реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни с научна информация: 1 бр. публикувана в списание с Импакт фактор (IF = 0.22), и 7 бр. публикувани в списания с Импакт ранг (SJR) с общ Импакт ранг (SJR) = 1.425.

От представената справка за цитиранията на научните трудове на доц. д-р Динко Христов Динков е видно, че те са 13 на брой, като цитирания в списания с IF – 7 бр. и общ IF на цитиранията е 8.6088, а цитирания в списания без IF – 7 бр.

Идеите за реализиране на неговите научни търсения са резултат от практическата му и успешната професионална реализация. Тези факти ги оценявам по достойнство, като прибавям и високото ниво на дисертационния труд.

Основната част от проведените научни изследвания са свързани с проучвания върху качеството и безопасността на пчелни продукти. Дисертацията е написана на 366 страници и е онагледена с 49 таблици и 21 фигури, като в нея са формулирани три цели:

1. Извършване на проучвания на видовите и качествените характеристики, както и условията за преработка и съхранение на получен при спазване на изискванията за сертифицирано биопроизводство и конвенционално произведен пчелен мед от различни райони на България.

2. Проучвания на критериите за биологично и конвенционално производство, качествените изисквания и показателите, свързани с безопасността на цветен пчелен прашец от 8 района на България.

3. In vitro определяне на антибактериалната активност на прополис, различни видове пчелен мед и пчелно млечице.

В изпълнение на трите цели и свързаните с тях задачи на дисертационния труд са изследвани общо 1139 броя проби от пчелни продукти (пчелен мед, цветен пчелен прашец, пчелно млечице и прополис).

Приносите в научните трудове на доц. Динков са обособени в три раздела, които отговарят на изпълнението на 1-та, 2-та и 3-та поставени цели. От направения от мен преглед е видно, че поставените задачи са изпълнени успешно с което Доц. Динко Христов Динков прави следните оригинални и потвърдителни приноси:

По 1-ва цел:

Оригинални приноси в научни проучвания повече от 11 вида пчелен мед; разработване и апробиране на трансформирана техника за пробоподготовка; изброяване и изчисляване на поленовите зърна в 10 g пчелен мед, посредством камера на Bürker и установяване на критерии за преработка и съхранение на биологично произведен пчелен мед.

Потвърдителни приноси във видовият състав и качествените характеристики на произведения мед съгласно изискванията за биопроизводство пчелен мед от

района на гр. Калофер и качествените показатели на българския рапичен пчелен мед

По 2-ра цел:

Оригинални приноси в конкретизиране на изискванията за преработка, съхранение и реализация на цветен пчелен прашец, произведен при изискванията за конвенционално и сертифицирано биологично производство, определяне на водното съдържание и общия минерален състав на цветен пчелен прашец от 8 района на България; микробиологичните изследвания на неизсушен и изсушен пчелен прашец от 8 района на България; установяване на по-високи стойности на микроорганизмите от сем. *Enterobacteriaceae* при неизсушения (1.32 x 10⁴- 5 x 10⁴CFU/g), в сравнение с изсушения пчелен прашец (7.5 x 10²- 8.5 x 10³CFU/g); не са констатирани регламентирани в законодателството за изследване на продуктите от животински произход (Регламент „ЕС“ №1441/2007), причинители на заболявания при хората от сем. *Enterobacteriaceae*; установяване на контаминация от *Pantoea* spp (*P. agglomerans* и *P. agglomerans* bgrp6) в най-висока степен на при всички изследвани проби (100%), разработване на ветеринарно-санитарна преценка, с оглед превенция от *E. coli* на цветния пчелен прашец и установяване на в изсушен пчелен прашец при едногодишно хладилно съхранение (0-4°C) във вакуумирано състояние *Prot. mirabilis*, който не е бил констатиран при допълнително съхранение на продукта за 1 година при същите условия.

Потвърдителен принос относно водната активност при неизсушения пчелен прашец е показала стойности между 0.715 и 0.725, което според литературните източници способства развитието на плесени при продължителното съхранение на продукта (Rahman, 2010).

По 3-та цел:

Оригинални приноси включват сравнение чрез паралелно провеждане на микробиологичния и спектрофотометричния методи за определяне на %-те на инхибиция като при 20% (v/v) манов, рапичен мед и смеси на пчелно млечице и рапичен мед (1:100 w/w) са констатирани по-високи стойности по спектрофотометричния (82%, 66.4%, 98.7%), в сравнение с микробиологичния метод (< 40%, < 40%, 46.5%); установяване на реалните бактерицидни концентрации (Real Bactericidal Concentration, (RBC), след инкубация за 24 h при 37°C спрямо *E. coli* (ATCC 25922) възлизащи на 30% v/v при пчелно млечице и манов мед и на 45% (v/v) при смес на пчелно млечице и рапичен мед (1:100 w/w); определяне на реалните бактерицидни концентрации (Real Bactericidal Concentration, (RBC), след инкубация за 24 h при 37°C върху патогенен щам на *E. Coli* възлизащи на 40% (v/v) при рапичен мед, смеси на пчелно млечице и рапичен мед (1:100 w/w), и на средно 11.6 % (v/v) пчелно млечице, установяване на реалната бактерицидна концентрация (Real Bactericidal Concentration, RBC) възлизаща на 8 mg/ml етанолов екстракт на прополис спрямо *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7965), след 24 h инкубиране при


28°C; установяване на реалните бактерицидни концентрации (Real Bactericidal Concentration, RBC) след 24 h и 48 h инкубиране при 28°C спрямо *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7965) на пчелно млечице (средно 8.3% v/v), рапичен мед и смеси на пчелно млечице и рапичен мед (1:100 w/w) – 30 % (v/v), показване на по-висок антибактериален ефект на пчелното млечице и рапичния мед в съотношение 1:100 (w/w) спрямо *S. aureus* (MRSA), в сравнение със самостоятелното използване на рапичен мед; установяване на реалната бактерицидна концентрация (Real Bactericidal Concentration, RBC) възлизаща на 13.3 % (v/v) пчелно млечице спрямо *S. aureus* (MRSA), след 24 h и 48 h инкубиране при 35°C – оригинален принос; установяване на реалната бактерицидна концентрация (Real Bactericidal Concentration, RBC) на средно 15 % (v/v) пчелно млечице спрямо *C. albicans* (ATCC 10231), след 24 h и 48 h инкубиране при 37°C в Sabourand 2% Dextrose Broth – оригинален принос и установяване, че като Реални Бактерицидни Концентрации (РБК, Real Bactericidal Concentration, RBC), следва да се интерпретират онези концентрации на пчелно млечице, манов и рапичен пчелен мед, комбинация на пчелно млечице и рапичен пчелен мед (1:100 w/w) или спиртен екстракт на прополис, при които след 24-часови и 48-часови инкубации в специфични за съответните микроорганизми обогатителни бульони и субкултивиране на селективни хранителни среди не се установява дори една колония (0 CFU/ml или 100%-ово инхибиране).

Потвърдителни приноси относно определяне на антимикробната активност е използван метода на Molan (Molan, 1992a), проведен с известни промени, изразяващи се в предварително тестване на антибиотичната чувствителност на изолат от плазмокоагулаза положителен *Staphylococcus spp.*, последвано от изолиране на чиста култура на кръвен агар, посяване в обикновен бульон и инкубация при 37°C за 24 часа за постигане на по-плътен растеж, за разлика от оригиналната методика, при която инкубацията е за 5 часа при 37°C (Molan, 1992a); установяване, че между различните проби манов мед има различия по отношение на тяхната обща антибактериална активност – потвърдителен принос; при определяне на антимикробната активност на манов мед за първи път в нашата страна е констатирано наличие на двойни зони на потискане растежа на плазмокоагулаза положителен *Staphylococcus spp.* като непосредствено около кладенчетата на накапване на разтворите е установена ясна зона на пълна липса на колонии (бактерициден ефект), а около нея е наблюдавана втора зона на частична липса на растеж на микроорганизма (бактериостатичен ефект) – потвърдителен принос; доказване на специфична непероксидазна антимикробна активност еквивалентна на 14.07 UMF (unique manuka factor) при проба манов мед, добит през 2006 г. в пчелин, разположен в околностите на гр. Маджарово, съгласно утвърдената методология за интерпретация на непероксидазната антимикробна активност на пчелния мед.

В професионалните, социалните и публичните си изяви доц. Динков се отличава с доказано професионално отношение към служебните си задължения и изключителна принципност. Той е сред най-активните и е истински професионалист в системата на Ветеринарномедицинския факултет на Тракийския университет. Това са моите лични впечатления от дългогодишното ни познанство. Студентите и магистрите винаги са изразявали и споделяли това мое становище. Изключително трудолюбив, самостоятелен, дори малко повече отколкото е необходимо.

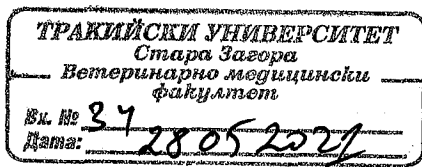
В заключение считам, че доц. Динко Христов Динков е изграден учен и има нях и способности на изследовател. Ползва се с авторитет в научните ветеринарномедицински среди. Всичко това ми дава основание да препоръчам на Научното жури да вземе положително решение и предложи на Научния съвет да присъди на доц. Динко Христов Динков академичната степен „Доктор на науките“ по научна специалност "Ветеринарно - санитарна експертиза", област на висшето образование б.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление б.4. Ветеринарна медицина към ТРУ – Ст. Загора.

Дата 27.05.2021г.

X 

доц. д-р Илиян Костов

Signed by: Iliyan Radev Kostov



OPINION

by Assoc. Prof. Dr. Ilian Radev Kostov - Deputy Director of the Risk Assessment Center on Food Chain, Sofia, 136 Tsar Boris III Blvd.

Subject: evaluation of a dissertation work on "Studies on the quality and safety of bee products", presented by Assoc. Prof. Dr. Dinko Hristov Dinkov for the acquisition of SD"Doctor of Science" in the scientific work "Studies on the quality and safety of bee products", field of higher education 6.0. Agricultural sciences and veterinary medicine, professional field 6.4. Veterinary Medicine

At the first meeting of the scientific jury, held on 18.05.2021, it was decided that I am supposed to prepare an Opinion on the attached documentation and materials for the competition.

Assoc. Prof. Dr. Dinko Hristov Dinkov, who is the only candidate, has been admitted to the competition for the acquisition of the Doctor of Science. The name of the scientific work is "Studies on the quality and safety of bee products".

At an extended Departmental Council meeting held on 24.04.2021, where the dissertation work was discussed and after hearing the preliminary reviews and the subsequent discussions and debates, it was unanimously decided that the work is completed and can be presented for official defense in front of a 7-member scientific jury.

Biographical data about the dissertant

Assoc. Prof. Dr. Dinko Hristov Dinkov was born on August 26, 1968 in the town of Dimitrovgrad, Haskovo region. He completed his primary education in his hometown. In 1987 he completed his secondary education at the Professional School of Veterinary Medicine in Stara Zagora. After successfully passing the candidate-student exam and completing his military service in 1989, he was enrolled as a student of veterinary medicine at the Faculty of Veterinary Medicine of the Thracian University (then VIZVM) in Stara Zagora.

He graduated in 1995 and received the qualification of "veterinarian". In the same year, passing a competitive exam, he was accepted as an assistant in the Department of Hygiene, Technology and Control of Food Products of Animal Origin, Veterinary Legislation and Management at the Faculty of Veterinary Medicine, Thracian University, Stara Zagora.

In 1999, after a successful attestation, he was promoted to the position of "senior assistant", and in 2002 - to "chief assistant".

In December 2005 he successfully defended his dissertation on "Studies on the optimization of veterinary and sanitary control of honey" and was awarded the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty 04.03.11 "Veterinary and sanitary expertise".

In 2012 he was elected associate professor in the Department of Hygiene, Technology and Food Control, Veterinary Legislation and Management.

The dissertant's work participates in the competition with a total of 19 scientific publications related to the dissertation, of which 8 pcs. of scientific publications are in journals with Impact Factor (IF) and Impact Rank (SJR), and in referenced and indexed in world-famous databases with scientific information: 1 pc. was published in a journal with Impact Factor (IF = 0.22), and 7 pcs. were published in journals with Impact Rank (SJR) with total Impact Rank (SJR) = 1.425.

From the presented reference for the citations of the scientific works of Assoc. Prof. Dr.

Dinko Hristov Dinkov, it is evident, that they are 7 from 13 citations in journals with IF and the total IF of the citations is 8.6088, as the citations in journals without IF - 7 pcs.

The ideas for realization of his scientific researches are a result of his practical and successful professional realization. I appreciate these facts with dignity and adding the high level of the dissertation work.

The main part of the conducted research is associated to a research on the quality and safety of bee products. The dissertation work is written on 366 pages and is illustrated with 49 tables and 21 figures, and three goals are formulated in it:

1. Carrying out studies of the species and quality characteristics, as well as the conditions for processing and storage of honey obtained in compliance with the requirements for certified organic production and conventionally produced honey from different regions of Bulgaria.

2. Studies of the criteria for organic and conventional production, quality requirements and indicators related to the safety of pollen from 8 regions of Bulgaria.

3. In vitro determination of the antibacterial activity of propolis, various types of honey and royal jelly.

In fulfillment of the three goals and the related tasks of the dissertation work, a total of 1139 samples of bee products (honey, pollen, royal jelly and propolis) were studied.

The contributions in the scientific works of Assoc. Prof. Dinkov are divided into three sections, which correspond to the implementation of the 1st, 2nd and 3rd set goals. From the review made by me, it is evident, that the set tasks have been successfully completed with which Assoc. Prof. Dinko Hristov Dinkov resulting in the following scientific original and confirmatory contributions:

Goal 1:

Original scientific contributions to scientific research more than 11 types of honey; development and testing of transformed equipment for sample preparation, enumeration and calculation of pollen grains in 10 g of honey, using a Bürker camera and establishing criteria for processing and storage of organically produced honey.

Confirmatory contributions in the species composition and quality characteristics of the produced honey according to the requirements for organic honey production from the region of Kalofer and the quality indicators for the Bulgarian rapeseed honey=

Goal 2:

Original scientific contributions in specifying the requirements for processing, storage and sale of pollen, produced under the requirements for conventional and certified organic production; determination of water content and total mineral composition of pollen from 8 regions of Bulgaria; microbiological studies of undried and dried bee pollen from 8 regions of Bulgaria; detection of higher values of microorganisms of the family *Enterobacteriaceae* in non-dried (1.32×10^4 - 5×10^4 CFU / g), compared to dried bee pollen (7.5×10^2 - 8.5×10^3 CFU / g); no causative agents of diseases of animal origin (Regulation (EU) 1441 / 2007) have been found to cause disease in humans of the family *Enterobacteriaceae*; detection of contamination by *Pantoea* spp. (*P. agglomerans* and *P. agglomerans* BGP6) in the highest degree in all tested samples (100%); development of veterinary assessment, with a view to prevention of *E. coli* pollen detection of dried bee pollen in one-year refrigerated storage (0-4 ° C) in vacuum state *Prot. mirabilis*, which has not been found in additional storage of the product for 1 year under the same conditions.

A confirmatory contribution to water activity in undried bee pollen has shown values

between 0.715 and 0.725, which according to the literature contributes to the development of mold during long-term storage of the product (Rahman, 2010).

Goal 3:

Original scientific contributions include a compared by parallel microbiological and spectrophotometric methods for determination of % inhibition as in 20% (v / v) manna, rapeseed honey and mixtures of royal jelly and rapeseed honey (1: 100 w / w) are found higher values by spectrophotometric (82%, 66.4%, 98.7%), compared to the microbiological method (<40%, <40%, 46.5%); establishment of Real Bactericidal Concentration (RBC) after incubation for 24 h at 37 ° C against *E. coli* (ATCC 25922) amounting to 30% v / v for royal jelly and manna honey and 45% / v) in a mixture of royal jelly and rapeseed honey (1: 100 w / w); determination of real bactericidal concentrations (RBC), after incubation for 24 hours at 37 ° C on a pathogenic strain of *E. coli* amounting to 40% (v / v) for rapeseed honey, mixtures of royal jelly and rapeseed honey (1: 100 w / w), and an average of 11.6% (v / v) royal jelly; establishing the real bactericidal concentration (RBC) of 8 mg / ml ethanol extract of propolis versus *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7965) after 24 h incubation at 28 ° C; determination of Real Bactericidal Concentration after 24 h and 48 h incubation at 28 ° C against *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7965) of royal jelly (average 8.3% v / v), rapeseed honey and mixtures of royal jelly royal jelly and rapeseed honey (1: 100 w / w) - 30% (v / v), showing a higher antibacterial effect of royal jelly and rapeseed honey in a ratio of 1: 100 (w / w) compared to *S. aureus* MRSA), compared to the use of rapeseed honey alone; establishment of Real Bactericidal Concentration (RBC) of 13.3% (v / v) royal jelly against *S. aureus* (MRSA), after 24 h and 48 h incubation at 35 ° C - original contribution; establishment of the real Bactericidal Concentration (RBC) of an average of 15% (v / v) royal jelly against *C. albicans* (ATCC 10231), after 24 h and 48 h incubation at 37 ° C in Sabourand 2% Dextrose Broth - original contribution and finding that Real Bactericidal Concentration (RBC) should be interpreted as those concentrations of royal jelly, manna and rapeseed honey, a combination of royal jelly and rapeseed honey (1: 100 w / w) or an alcoholic extract of propolis in which, after 24 hours and 48 hours of incubation in microorganism-specific enrichment broths and subculturing of selective culture media, not a single colony is found (0 CFU / ml or 100% inhibition).

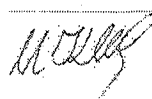
Confirmatory contributions on the determination of antimicrobial activity used the method of Molan (Molan, 1992a), carried out with some changes, expressed in preliminary testing of antibiotic susceptibility of plasmacoagulase isolate positive *Staphylococcus* spp., followed by isolation of pure blood culture agar inoculation in plain broth and incubation at 37 ° C for 24 hours to achieve denser growth, in contrast to the original method, in which the incubation was for 5 hours at 37 ° C (Molan, 1992a); finding that there are differences between the different samples of manna honey in terms of their total antibacterial activity - confirmatory contribution; In determining the antimicrobial activity of manna honey for the first time in our country was found the presence of double zones of inhibition of growth of plasma coagulase positive *Staphylococcus* spp. as a clear zone of complete absence of colonies (bactericidal effect) was established immediately around the wells of dripping the solutions, and a second zone of partial lack of growth of the microorganism (bacteriostatic effect) was observed around it - a confirmatory contribution; demonstration of specific non-peroxidase antimicrobial activity equivalent to 14.07 UMF (unique manuka factor) in a sample of manna honey obtained in 2006 in an apiary located in the vicinity of Madzharovo, according to the approved methodology for interpretation of non-peroxidase antimicrobial activity of bee.

In his professional, social and public appearances, Assoc. Prof. Dinko Dinkov is

distinguished by a proven professional attitude towards his official duties and exceptional principledness. He is among the most active and is a true professional in the system of the Faculty of Veterinary Medicine of the Thracian University. These are my personal impressions from our long acquaintance. Students and master students have always expressed and shared this opinion of mine. Extremely hardworking, independent, even a little more than necessary.

In conclusion, I believe that Assoc. Prof. Dinko Hristov Dinkov is a experienced scientist and has the flair and abilities of a researcher. He enjoys authority in the scientific veterinary medical circles. All this gives me a reason to recommend to the Scientific Jury to make a positive decision and proposed to the Scientific Council to award to Ass. Prof. Dr. Dinko Hristov Dinkov the SD"Doctor of Science", field of higher education 6.0. Agricultural sciences and veterinary medicine, professional field 6.4. Veterinary Medicine.

27.05.2021

X 

Ass. Prof. Dr. Iliyan Kostov

Signed by: Iliyan Radev Kostov