

СТАНОВИЩЕ

Относно дисертационен труд за присъждане на ОНС „доктор“ на тема „Хистологично, физикохимично и микробиологично изследване на мускулатура от пресни и замразени шаран (*Cyprinus carpio*) и дъгова пъстърва (*Oncorhynchus mykiss*)“;

Автор на дисертационния труд Марияна Пеева Стратева, асистент към катедра „Ветеринарна анатомия, хистология и ембриология“, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет;

Изготвил становището проф. Александър Павлов, д-р, определен за член на научното жури със заповед на Ректора на Тракийския университет № 2863/03.11.2021 г.

Структура на дисертационния труд. Дисертацията е написана на 190 страници, и включва всички общоприети раздели, характерни за такъв научен труд. Уводът е написан на 2 страници, литературният преглед обхваща 27 стр., собствени изследвания – 126 стр., от които 31 стр. заема обсъждане на резултатите, изводите са представени на 2 страници. Трудът е онагледен с 24 таблици и 92 фигури и представеният материал е съобразен с изискванията за такъв вид научни ръкописи. Библиографската справка включва 275 литературни източника, от които 8 на кирилица и 267 на латиница.

Актуалност на проблема. Диференцирането на прясно охладени от замразени и след това размразени животински продукти в повечето случаи е много трудно да бъде извършено само по органолептичните признаци, които са възможни при рутинно изследване на хранителни продукти. Въпреки, че има редица показатели, които са приложими при някои части на трупа на животните, то те не са с висока степен на достоверност и не са релевантни при някои видове месо. Правилно размразеното месо не е непременно по-малощно и некачествено от охладеното такова, но при всички случаи то трябва да бъде етикетирано съгласно нормативните документи, иначе ставаме свидетели на груба фалшификация и вредни търговски практики, които ощетяват потребителите. Опитите за диференциране на прясно/размразено месо са особено актуални при морските продукти, някои от които са с твърде висока цена на пазара. Има редица публикации, които очертават проблема, както и факта, че все още няма лесно достъпен лабораторен кит, който да различи достатъчно категорично охладено от замразявано месо. Това ме кара да бъда уверен, че проблемът, който са си поставили за разрешаване ас. Стратева и научния ѝ ръководител е изключително

актуален. По мое мнение тази дисертация и публикациите, базирани на нея ще намерят сериозен отзвук в научната общественост.

След целенасочен *увод* авторът е представил *литературните данни* по въпроса. Обзорът на литературата е структуриран правилно и показва добрата осведоменост на автора по разглежданите проблеми. Направено е задълбочено проучване на източниците, което показва, че има различни методи, прилагани за различаване на прясно и размразено месо, но повечето от тях са трудно приложими, бавни, скъпи и трудоемки. Данните в литературата сочат, че хистологичният анализ е с висока степен на достоверност, сравнително евтин и може да се използва в рутинната практика.

Дисертантът демонстрира отлично познание относно морфологичните особености на мускулатурата на рибите, която се различава от тази на бозайниците по редица признаци. Много важно е, че при рибите размерът на мускулните влакна не е постоянен, а нараства през целия живот на рибата, което може да се отрази на хистологичната находка при мускулатура от един и същ вид на различна възраст. Понататък в литературния обзор са разгледани законодателните изисквания за охладени и размразени продукти и е направена връзката между размразяването на рибите и преснотата им. Цитирани са и литературни данни за влиянието на цикъла замразяване/размразяване върху някои физикохимични и микробиологични показатели на мускулатура от риби.

Стъпвайки на данните в литературния обзор Стратева си поставя конкретна *цел*, а именно да проучи влиянието на еднократно и двукратно замразяване и последващо размразяване върху хистоструктурата, физикохимичните и микробиологичните показатели на мускулатура на шаран (*Cyprinus carpio*) и дъгова пъстърва (*Oncorhynchus mykiss*). Тази цел е ясно формулирана и е постигната чрез разработване на осем задачи.

По време на работата по темата на дисертационния труд са проведени и описани три отделни експеримента, за които са използвани 39 шарана и 45 пъстърви. В раздела „Материал и методи“ изчерпателно са описани експерименталните процедури и методите за изследване, като са избрани рутинни и доказани стандартни методики, които предполагат достоверни резултати. Представянето на този раздел показва, че дисертанта отлично познава и прилага описаните изследователски техники.

Резултати. Получените резултати са представени ясно и прегледно в логична последователност. Хистологичната структура на месо от пресни и размразени риби е представена изключително добре, с подходящи фигури с високо качество. Добро

хрумване е диференцирането на гръбна и коремна мускулатура, както и напречните и надлъжните срезове на изследваните проби.

Изключително интересни са морфометричните данни, които потвърждават видяното в хистологичните препарати. Много добро обяснение имат и различията в диаметъра на мускулните влакна при различните изследователи. Доказано е, че замразяването води до нарушаване на структурната връзка между мускулните влакна и съединителната тъкан, променя се отчетливо морфологията на мускулните влакна и при двата вида риби. Потвърждава се заложената работна хипотеза, че хистологичното изследване е достоверен метод за диференциране на прясна от замразена и размразена риба. Резултатите от физикохимичните изследвания показват промени във водната активност, водното съдържание, протеини и мазнини, които са значителни след двукратен цикъл замразяване/размразяване. Не са установени съществени промени в микробиологичните показатели при отделните групи изследвани риби.

Обсъждането е направено зряло и чрез цитиране на авторите на точното място, което прави много по-лесно възприемането на тезата на автора и направените по-нататък изводи. Личи доброто познаване на литературните данни и умелото интерпретиране на собствените резултати, което обосновава заключенията на дисертанта. Дисертацията е изключително добре онагледена с висококачествени фигури и добре структурирани таблици.

Въз основа на проучванията са направени 12 извода, които вярно отразяват постигнатите резултати. Справката за приносите е подготвена коректно и аз напълно я приемам.

По данните от дисертационния труд са публикувани три научни публикации в престижни издания, които вероятно ще се радват и на добра цитируемост от страна на изследователите. От представеното в дисертационния труд и приложената документация личи активното участие и личния принос на ас. Марияна Стратева в разработването на темата. Регистрирано е участие с доклад на научна конференция (2020 г.), приложена е справка с цитиранията, от която личи че статиите във връзка с дисертацията са цитирани общо четири пъти.

Като критични бележки бих могъл да отбележа, че някои методи на изследване са представени доста подробно и биха могли да се съкратят. В дисертацията се твърди, че замразяването не влияе на микробиологичните показатели, но липсват данни какво би станало след 24 или 48 часово съхранение? Тези няколко бележки не намаляват стойността на предложението на нашето внимание материал, който е отражение на нагласите, вижданията и желанията на дисертанта и научния ръководител. Те трябва да

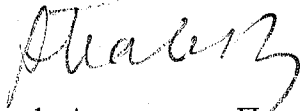
бъдат поздравени за избора на темата и за начина на разработването ѝ. Бих препоръчал по-нататък този проект да бъде продължен и в други насоки.

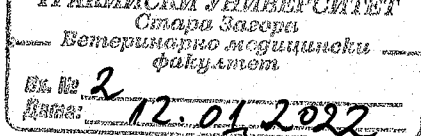
Заклучение:

Представеният дисертационен труд е първо по рода си широкообхватно изследване на хистологичните промени при два вида риби при еднократно и двукратно замразяване. Той е актуален, правилно структуриран и изцяло завършен и напълно покрива критериите, залегнали в Закона за Развитие на Академичния Състав в Република България и Правилника за РАС на Тракийския университет. Извършена е сериозна по обем работа, като от нея са произлезли конкретни резултати, публикувани в периодични издания. Давам своята положителна оценка на представените материали и предлагам на Почитаемите членове на Научното да гласуват за присъждане на ас. Марияна Пепова Стратева на Образователна и научна степен „доктор“ по научната специалност „морфология“, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на висше образование 6. Аграрни науки и ветеринарна медицина.

Стара Загора
декември 2021 г.

Изготвил становището


Проф. Александър Павлов, двмн



OPINION

Concerning dissertation paper for awarding PhD educational and scientific degree on „Histological, physicochemical and microbiological studies of the muscles of fresh and frozen carp (*Cyprinus caprio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”

Author of the dissertation paper Mariana Pepova Strateva, Assistant professor at the Department of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University.

Opinion prepared by prof. Alexander Pavlov, DSc, appointed as member of the scientific jury by order of the Rector of Trakia University No. 2863/03 Nov 2021.

Structure of the dissertation paper. The dissertation is written on 190 pages, and includes all generally accepted sections, characteristic for such scientific work. The introduction is written on 2 pages, the literature review covers 27 pages, own research - 126 pages, of which 31 pages is discussion of the results, the conclusions are presented on 2 pages. The paper is illustrated with 24 tables and 92 figures and the presented material complies with the requirements for this type of scientific manuscripts. The bibliographic reference includes 275 literary sources, of which 8 in the Cyrillic and 267 in the Latin alphabet.

Relevance of the problem. The differentiation of freshly chilled from frozen and then thawed animal products is in most cases very difficult to do only on the basis of organoleptic characteristics, which are possible in routine food testing. Although there are a number of indicators that are applicable to some parts of the carcass of animals, they are not highly reliable and are not relevant for some types of meat. Properly thawed meat is not necessarily less valuable and of poorer quality than chilled meat, but in any case it must be labelled in accordance with regulations, otherwise we are witnessing gross counterfeiting and harmful commercial practices that harm consumers. Attempts to differentiate fresh/thawed meat are particularly relevant for seafood, some of which are very expensive on the market. There are a number of publications that outline the problem, as well as the fact that there is still no easily accessible laboratory kit that can distinguish sufficiently between chilled and frozen meat. This makes me sure that the problem set by Assist. prof. Strateva and her scientific supervisor is extremely relevant. In my opinion, this dissertation paper and the publications based on it will find a serious response among the scientific community.

Following a purposeful *introduction*, the author has presented the *literature data* on the subject. The review of the literature has been structured correctly and shows the author's

good awareness on the issues under consideration. An in-depth study of the sources has been done which shows that there are different methods used to distinguish between fresh and thawed meat, but most of them are difficult to implement, slow, expensive and laborious. Evidence from the literature indicates that histological analysis is highly reliable, relatively inexpensive, and can be used in routine practice.

The author of the dissertation paper demonstrates excellent knowledge on the morphological features of fish muscles, which differs from that of mammals in a number of ways. It is very important that in fish the size of muscle fibers is not constant, but increases throughout the life of the fish, which may affect the histological finding in muscles of the same species at different ages. Further in the literature review, the legal requirements for chilled and thawed products have been considered and the connection between thawing of fish and their freshness has been made. Literature data on the influence of the freeze/thaw cycle on some physicochemical and microbiological parameters of fish muscles have also been cited.

Based on the data in the literature review, Strateva has set herself a specific objective, namely to study the effect of freezing once and twice and subsequent thawing on the histostructure, physicochemical and microbiological parameters of carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). This objective has been clearly stated and achieved through the development of eight goals.

During the work on the topic of the dissertation paper, three separate experiments had been conducted and described, for which 39 carp and 45 trout specimens had been used. The Material and Methods section comprehensively describes the experimental procedures and study methods, selecting routine and proven standard methodologies that provide reliable results. The presentation of this section shows that the author of the dissertation paper is well acquainted with and applies the described research techniques.

Results. The results obtained are presented clearly and concisely in a logical sequence. The histological structure of fresh and thawed fish meat is extremely well presented, with suitable high quality figures. It is a good idea to differentiate dorsal and abdominal muscles, as well as the transverse and longitudinal sections of the studied samples.

The morphometric data, which confirm what had been seen in the histological preparations, are extremely interesting. Differences in the diameter of muscle fibers in different researchers also have a very good explanation. Freezing has been shown to disrupt the structural connection between muscle fibers and connective tissue, and the morphology of muscle fibers in both fish species changes markedly. The established working hypothesis that histological examination is a reliable method for differentiating fresh from frozen and thawed

fish has been confirmed. The results from the physicochemical studies show changes in water activity, water content, protein and fat, which are significant after double freeze/thaw cycle. No significant changes in microbiological parameters have been found in the individual groups of studied fish.

The discussion is made maturely and by quoting the authors in the right place, which makes it much easier to perceive the author's thesis and the conclusions made later. There is good knowledge of the literature data and skillful interpretation of their own results, which justifies the conclusions of the author of the dissertation paper. The dissertation paper is extremely well illustrated with high quality figures and well-structured tables.

Based on the research, 12 conclusions have been made, which accurately reflect the results achieved. The reference about the contributions has been prepared correctly and I fully accept it.

From the data achieved in the dissertation paper three scientific publications have been published in prestigious journals, which will probably meet good citation rate by researchers. The active participation and personal contribution of Assist.prof. Mariana Strateva in the development of the topic is evident from the data presented in the dissertation paper and the documentation enclosed. Participation has been registered with a report at a scientific conference (2020), a reference about the citations has been enclosed, which shows that the articles related to the dissertation paper have been cited a total of four times.

As critical remarks I could point out that some research methods have been presented in great detail and could be shortened. The dissertation paper asserts that freezing does not affect microbiological parameters, but there are no data on what would happen after 24 or 48 hours of storage? These few remarks do not diminish the value of the material offered to our attention, which is a reflection of the attitudes, views and desires of the author of the dissertation paper and the scientific supervisor. They should be congratulated on the choice of the topic and on the way of its development. I would recommend this project to be further continued in other directions.

Conclusion:

The presented dissertation paper is the first of its kind comprehensive study of histological changes in two species of fish in freezing once and twice. It is relevant, properly structured and fully completed and totally complies with the criteria set out in the Law on the development of academic staff in the Republic of Bulgaria and the Rules for development of the academic staff at Trakia University. Serious work has been done, and specific results have been obtained from it and published in periodicals. I give my positive assessment of the

presented materials and invite the Honored members of the Scientific jury to vote for awarding Assist.prof. Mariana Pepova Strateva with PhD educational and scientific degree in the scientific specialty "Morphology", professional area 6.4. Veterinary medicine, field of higher education 6. Agrarian sciences and veterinary medicine.

Stara Zagora

December 2021

Opinion prepared by

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Alexander Pavlov", written in a cursive style.

Prof. Alexander Pavlov, DSc