СЕЛСКОСТОПАНСКА АКАДЕМИЯ
СОФИЯ
Вх. № НУ1-32
16.02.2024 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на образователната и научна степен „Доктор" в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.12. Хранителни технологии, докторска програма „Технология на месните и рибните продукти"

Тема и автор на дисертационния труд: Иновативна технология за преработка на месо и месни продукти, разработен от маг. инж. Пепа Живкова Нацариду

Член на научното жури: чл.-кор. проф. д.т.н. инж. Стефан Георгиев Драгоев, катедра „Технология на месото и рибата", Технологичен факултет, Университет по хранителни технологии, гр. Пловдив, професор по 5. Технически науки, 5.12. Хранителни технологии (специализация „Технология на месните и рибните продукти"), назначен за член на научното жури със заповед № РД05-192/13.11. 2023 г. на Председателя на ССА.

I. Кратко представяне на докторанта (важни биографични данни и научно развитие)

Докторант Пепа Живкова Нацариду е родена на 11.03. 1969 г. в гр. Елхово. Средно образование получава в Икономически техникум, гр. Бургас през 1988 г. През 1990 г. завършва полувисшето си образование в Полувисшия институт по химични технологии и биотехнологии, гр. Разград. През 2006 г. придобива ОКС „Бакалавър" със специалност „Технология на храните", а през 2010 г. ОКС „Магистър" със специалност „Екология и опазване на околната среда в хранителната индустрия" от Университета по хранителни технологии, гр. Пловдив. Професионалното развитие на докторанта е започнало през 1999 г. От тогава до сега тя е работила като: помощник технолог при производството на компоти от праскови във фирма „Мелиса" ООД, Гърция; инженер-технолог, консултант по технология и оборудване във фабрика за сушене и замразяване на дивораствящи гъби "G –Foods" ООД , гр. София; отговорник за НАССР контрол и контакти с доставчици на суровини фирма за производство на месни продукти „Деком" ООД, гр. София; стажант-лаборант по химичен и биологичен анализ на битови отпадни води към компания за пречистване на битови отпадни води, гр. Бургас; експерт в дирекция „Биологично земеделие и растениевъдство" към Министерство на земеделие и храните, гр. София; инспектор по планиране, организация и координиране на акредитационните дейности към Изпълнителна агенция „Българска служба по акредитация" , гр. София; инженер-технолог към фирма „Аквабар" ООД, гр. София; докторант – лаборант в Лабораторията по микробиология на Университета по хранителни технологии, гр. Кардитца, филиал на Университета на Тесалия, Гърция; експерт регулации към компания за производство и търговия с пробиотици „Фло Спайс" ООД, гр. София - подизпълнител на "Bio care Copenhagen", Дания; Експерт по устойчивост на риболова и аквакултурите към Министерство на земеделието, гр. София.

Инж. Пепа Нацариду е зачислена като редовен докторант към Института по криобиология и хранителни технологии към ССА, гр. София със заповед № НП-08-09 от 25.01.2018 г. по докторска програма „Технология на месните и рибните продукти" в

професионално направление 5.12. „Хранителни технологии“. Съгласно Заповед № РД05 от 16.01.2019 г. преминава в задочна форма на обучение. Отчислена е с право на защита през 2021 г. със Заповед №РД05-174 от16.09.2021 г. Маг.-инж. Пепа Нацариду владее писмено и говоримо гръцки, английски и руски език.

II. Обща характеристика на дисертацията и автореферата – обем и структура

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е в обем от 113 стандартни машинописни страници. В дисертационни труд са обособени следните раздели: Увод – 2 стр.; Литературен обзор – 30 стр.; Цел и задачи на работата - 2 стр.; Материали и методи - 10 стр.; Резултати и обсъждане - 49 стр.; Изводи - 3 стр., Приноси - 2 стр. и Използвана литература - 12 стр.

Авторефератът е представен на български и английски език, и е с обем 46 стр. Той включва 14 таблици и 25 фигури. Авторефератът ясно отразява целите и задачите на дисертацията, получените резултати и направените изводи и приноси.

III. Актуалност на изследвания проблем

Един от най-важните приоритети за месопреработвателната промишленост през последното десетилетие е създаването на нови иновационни технологии, които да гарантират производството на безопасни месни продукти с високо качество. Една подобна иновация се оказва обработката на месото с високо хидростатично налягане (HPP). При нея без промяна на показателите за качество при съвместно въздействие на естествени антиоксиданти и антимикробни агенти може да се постигне удовлетворително дълъг срок на съхранение на месните продукти, гарантиращ тяхната безопасност. Обработката под високо налягане или студена пастьоризация за разлика от конвенционални процеси на обработка на месото не зависи от размера и геометрията на продукта, което намалява времето за въздействие. Дисертационният труд на докторант Пепа Нацариду озаглавен „Иновативна технология за преработка на месо и месни продукти“ в значителна степен отговаря и много хармонично се вписва в тези нови тенденции от изследвания в науката за месото и технологиите за неговата преработка. Настоящият дисертационен труд е насочен върху прилагането на високо хидростатично налягане при преработката на месо. Изучено е влиянието на този вид обработка в комбинация с приложение на редица натурални антиоксиданти. Основавайки се от една страна на актуалността на изследвания проблем, целите и задачите на дисертацията, използваните съвременни аналитични методи и статистическата обработка, и от друга страна - значителната по обем експериментална работа, коректно направените заключения и точно формулираните приноси считам, че дисертационният труд на докторант Пепа Нацариду има елемент на необходимата за този вид дисертации научна новост и е актуален.

IV. Литературна осведоменост и теоретична подготовка на кандидата

В дисертационния труд са цитирани 180 литературни източника, в т.ч. 5 на кирилица. Четиридесет и седем от цитираните референции са от последните 10 години.

В литературния обзор, който е структуриран в три раздела е направен задълбочен преглед на съществуващите технологии за консервиране на месо - термична обработка,

нетоплинно третирани месни продукти и пр. Вниманието на авторката е насочено към методите за контролиране на водната активност, микробиологичните и химични методи.

Детайлно са представени възможностите за използване на естествени антиоксиданти, които синергични агенти усилват действието на основния използван метод за консервиране на месото. Представеното състояние на проблема логически прелива към към третата част от литературния обзор – прилагането на високо хидростатично налягане като основна технологична обработка в месопреработващата промишлена практика. Авторката прави задълбочен теоретичен анализ на въпросната технологията като поставя акцент на влиянието на високото хидростатично налягане (HPP) върху състоянието на патогенната и гнилостната микрофлора. Добре е проследен и ефектът, който оказва високото хидростатично налягане (HPP) върху структурата на мускулните белтъци, качествените характеристики и хранителната стойност на месото.

Маг.-инж. Пепа Нацариду демонстрира добра осведоменост, удовлетворително познаване и боравене с литературните източници, не само в литературния обзор на дисертацията, но и при обсъждане на получените резултати. Изразявам становище, че в резултат от разработката на дисертационния труд, докторант Пепа Нацариду е придобила необходимата теоретична подготовка и умения да провежда научни експерименти, като прилагане на съвременни методи на анализ, използва модерна аналитична апаратура, умело представя и интерпретира получените резултати и сравнително точно и ясно формулира произтичащите от данните изводи.

V. Методичен подход

Целта на дисертационния труд е фокусирана върху подобряване на физикохимичните, биохимичните, микробиологичните и органолептични свойства на говеждо месо и продуктите произведени от него чрез приложение на иновативна HPP технологията, самостоятелно и в комбинация с разнообразни биологично активни вещества. За осъществяване на така поставената цел са формулирани две групи задачи.

През първия етап от разработката е проучено комбинираното влияние на високото хидростатично налягане и водни екстракти от мащерка и риган върху качествените характеристики на говежди *m. Longissimus dorsi* и *m. Semimembrranosus*. За целта са проследени pH стойността, водозадържаща способност, цветовите характеристики, показатели за миоглобиновото, липидното и протеиново окисление, мастно киселинния профил на месото и микробиологичния му статус. Проведен е и адекватен органолептичен анализ.

През втория етап е проучено влиянието на високото хидростатично налягане при два режима на технологична обработка - стандартен и с удължено време за въздействие. В допълнение е установен и ефектът на HPP третирането в комбинация с добавката на определени натурални антиоксиданти в проби от мляно месо добито от *m. Semimembranosus*. Прави впечатление значителния брой и разновидността на проследените микробиологични показатели в мляното месо при двата режима. Освен общия брой микроорганизми, е определен броя аеробни мезофилни микроорганизми, колиформи, *Salmonella* spp., плесени и дрожди, наличие на *Staphylococcus aureus*, сулфит-редуциращи клостридии, млечнокиселите бактерии, ентеробактериите (сем.

Enterobacteriacae), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* и *Campylobacter jejuni*. В перидо на 40 дневно хладилно съхранение на мляното месо са проследени и множество физикохимичните и биохимични свойства на месото. Определен е оптимален режим за обработка на мляното месо с високо хидростатично налягане спрямо микробиологичния статус и инокулиран микс от патогени. В анализите са използвани съвременни методи и апаратура, гарантиращи получаването на надеждни резултати. Резултатите са обработени с адекватни статистически методи и програмния пакет JMP v.7. Приложеният методически подход за провеждане на експериментите е съответстващ на целта и задачите на дисертацията, което ми дава основание да го оценя по достойнство.

VI. Значимост и убедителност на получените резултати, интерпретации и изводи

Получените резултати и техния обзор кореспондират с основната теза на дисертационния труд – създаване на иновативна технология за HPP обработка на месо и получаване на висококачествени и гарантирано безопасни месни продукти с удължен срок на годност. В резултат на методически правилно извършената изследователска работа и установеното въздействието на високото хидростатично налягане (HPP) - самостоятелно или в комбинация с приложение на естествени антиоксидантни добавки, са получени значим голям брой данни за промените в редица физикохимични, биохимични, микробиологични показатели на два мускула характерни представители на оксидативния и гликолитичен тип мускулатура. Успоредно с това са представени данни са промени в гореспоменатите групи показатели и в мляно месо съхраняван в продължение на 40 дни при 4°C. Получените резултати са убедителни и правилно интерпретирани в сравнение с постигнатото от други изследователи в научната област на дисертационния труд.

Добро впечатление оставя опитът на докторантката да формулира рецептура на полуфабрикат, както и сравнението което прави между традиционната технология и новата иновативна технология за обработка на месото с високо хидростатично налягане в комбинация със сух препарат от червена репичка. Направена е и адекватна икономическа оценка относно приложената иновативна технология.

На база на получените резултати са формулирани единадесет извода, които представляват интерес, както за науката, така и за практиката.

VII. Приноси на дисертационния труд

Резултатите от дисертационния труд и формулираните изводи са позволили да се изведат няколко приноса с научно-фундаментален и приложен характер, както следва:

Научно-фундаментални приноси

1. HPP обработеното говеждо месо съхранява своето pH по-ниско от 6,00 – стойности, които гарантират че в месото развитието на гнилостната микрофлора ще бъде възпрепятствано.

2. Установено е стабилизиращо действие на високото хидростатично налягане (HPP) върху водозадържащата способност на говежди m. *Longissimus dorsi* с добавки на мащерка и риган, и на говежди m. *Semimembrranosus* с добавка на риган. В резултат месните емулсии се стабилизират, редуцират се тегловните загуби при готвене и се

повишава рандемана на готовата продукция. Успоредно с водозадържащата способност, при обработката на говеждо месо под високо хидростатично налягане (HPP) се установява нарушения в мускулната структура и подобрена крехкост, сочност и вкус.

3. Установено е, баропротекторно действие върху общият брой микроорганизми на обработеното под високо хидростатично налягане (HPP) месо с добавка на 0,3% от препарата „Medoliva Plus". Препаратът „Medoliva Plus" и другите две приложени антиоксидантни добавки проявяват антимикробно действие спрямо развитието на представители на грам (-) бактерии от сем. *Enterobacteriaceae* и удължават срока на годност на HPP обработеното говеждо месо до 38-ия ден от хладилното съхранение при 4°C.

Научно-приложни приноси

1. Установен е оптимален режим за обработката на говеждо месо под високо хидростатично налягане (HPP) (налягане 580 MPa, температура 4°C и време на задръжка 4 min), при който ефективно се елиминират представителите на патогенната микрофлора: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp. и *Campylobacter jejuni* и в значителна степен се редуцира общия брой микроорганизми. Прилагането на същото налягане, с време на задръжка 8 min не е икономически ефективно. Този оптимален режим позволява да се удължи срока на годност на охладеното мляно говеждо месо.

2. Установено е, че 0,3% добавка на 60%-ен воден разтвор на натриевият лактат редуцира, както общия брой микроорганизми, така и този на млечнокиселите бактерии в HPP мляно говеждо месо (обработено под налягане 580 MPa, при температура 4°C и време на задръжка 4 min) и позволява удължаване на срока на годност до 38-ия ден от хладилното съхранение при 4°C.

3. Разработена е рецептура и технология за нов иновативен продукт – мляно говеждо месо с добавка на червена репичка на прах, обработено под високо хидростатично налягане (HPP) със характерни органолептични характеристики.

4. Предложена е екологично и икономически целесъобразна замяна на синтетичните консерванти чрез обработка на говедо месо под високо хидростатично налягане (HPP), самостоятелно или в комбинация с натурални антиоксидантни препарати, което би позволило предлагане на пазара на прясно месо под марката „Clean label" .

VIII. Оценка на качеството на научните публикации, отразяващи резултатите в дисертацията

Резултатите от дисертационния труд са отразени в три научни публикации.

Първата: **„Alternative technology for beef meat shelf life"** е публикувана в списание ***Bulgarian Journal of Agricultural Science*** **(Web of Science -** Emerging Sources Citation Index (ESCI) Journal Impact Factor™ $(JIF)_{2022} = 0,4$ – **Q4**; **Scopus** $CiteScore_{2022} = 1,3$ – **Q3**) –

Втората: **„Influence of high pressure processing at 580 MPa and other antimicrobials on minced beef"** е публикувана в списание ***Животновъдни науки [Bulgarian Journal of Animal Husbandry]*** **(Web of Science -** CABI и FSTA; **Scopus** – не е индексирано) –

Третата: **„Application of HPP technology in meat-processing production“** е публикувана в магазинно списание ***ХВП [Food Processing Industry Magazine]*** (**Web of Science** - FSTA; **Scopus** – не е индексирано).

В публикации втора и трета докторантката е самостоятелен автор, а в публикация 1 - е първи автор. Това демонстрира личният й принос в представените научни резултати.

Формираният брой точки от публикации във връзка с дисертационния труд е 93,33 т., при необходими 30,00 т.. По този критерии, показателите на маг. инж. Пепа Живкова Нацариду напълно удовлетворяват изискванията за придобиване на ОНС „Доктор“ в професионално направление 5.12 Хранителни технологии. Няма данни за забелязани цитирания на трите представени научни публикации.

IX. Критични бележки, въпроси и препоръки към кандидата

Към дисертационния труд имам следните забележки, въпроси и препоръки:

Забележки:

1) Не приемам онази част от Научно-приложен принос 1., формулиран на авторката, която по нейни думи касае „...подобрение на колориметричните показатели при използване на подходящи натурални антиоксиданти…“. Както става ясно от снимките представени на фиг. 15 след 5-дневно хладилно съхранение на HPP мляно говеждо месо (обработено под налягане 580 MPa, при температура 4°C и време на задръжка 4 min) не се демонстрира подобно развитие на червената компонента на цвета, както не се понижава жълтата компонента и яркостта на цвета. При по-нататъшно хладилно съхранение на пробите до 40-я ден (виж данните представени в таблици 8, 9 и 10) инструментално заснетите цветови характеристики на пробите мляно говеждо месо в най-добрия случай запазват нивата си, когато се използват добавки на 0,1 % препарата „Medoliva Plus“, червено цвекло (*Beta vulgaris*) на прах, червена репичка (*Raphanus sativus*) на прах и масло от розмарин (*Rosmarinus officinalis*).

2) Не приемам за коректен последният научно-приложен принос, формулиран на дисертантката, относно баропротекторния ефект, свързан с барорезистеността на млечнокиселите бактерии под въздействието на добавката на препарата „Medoliva Plus“ в HPP обработеното говеждо месо.

Първо, тъй като препаратът „Medoliva Plus“ е търговски продукт със запазена марка и състав, той не може да се използва за научни изводи, още повече да се формулират приноси относно неговото действие. Допустимо е изследването му под формата на сравнителна контрола, за доказване на ефективността на сродни натурални антиоксидантни добавки или консерванти.

Второ, в дисертацията не са представени изследвания върху ферментирали храни или ферментирали месни продукти? Вероятно става въпрос за терминологична несъстоятелност, когато се говори за ферментирали храни (с антимикробни метаболитни организми)?

В списъка на публикациите във връзка с дисертацията са допуснати редица технически несъответствия, които не правят добро впечатление. Така например:

3) Наименованието на списание ***Bulgarian Journal of Agricultural Science*** е неточно представено като *Bulgarian Journal of acriculture*;

4) Наименованието на списание ***Животновъдни науки [Bulgarian Journal of Animal Husbandry]*** е неточно представено като *Animal Sciences*;

5) Наименованието на списание ***ХВП [Food Processing Industry Magazine]*** е неточно представено като *Food Processing Magazine*.

6) В списъка на публикациите във връзка с дисертацията неточно е показано, че списание ***ХВП [Food Processing Industry Magazine]*** е реферирано от **Web of Science** – CABI. То е реферирано от базата данни **Web of Science** – Food Science and Technology Abstracts (FSTA).

7) При формулиране на целта на дисертационния труд, авторката много претенциозно е записала, цитирам: „Иновативен подход в приложението на HPP технологията за обработка на говеждо месо (самостоятелно и в комбинация с биологично активни вещества), за подобряване на физикохимичните, биохимичните, микробиологичните и органолептични качества на сурово говеждо месо и продукти от него.“, край на цитата.

Въпрос: **В какво се изразява иновацията в подхода по приложение на HPP технологията в обработката на месото?**

Според текст на цял абзац от стр. 23, цитирам дословно: „ HPP технологията (high pressure processing - HPP) е открита преди повече от 100 години, но не е намерила приложение поради технически проблеми. Нейното развитие започва в началото на 90-те години на миналия век (Ledward and all. 1995). Първите успешни експерименти за ефекта при упражняване на налягане върху микроорганизми са регистрирани през 1899 г., когато Hite за пръв път прилага хидростатично налягане за инактивиране на микроорганизми с цел предотвратяване на развалата на мляко, без да се влагат антисептици и да се промени вкуса. Първоначално техниката е внедрена в САЩ и Япония. Prof. Rikimaru Hayashi от 1980 в Япония, използва потенциала на HPP обработката за нетермична пастьоризация на храни. Първата страна, която продава храни обработени под високо налягане е Япония, въведени са на пазара храни с по – висока киселинност.(Rovere, 2001: 251-253). В Европа през 1999 г., испанският производител на месо (Espuña SA Company) инсталира оборудване за високо налягане за обработка на варена шунка (Rovere, 2001).“ – край на цитата!

По данни на Google Scholar, а и по данни на докторантката от литературния й обзор се вижда, че сведения за подобна обработка не липсват. Така напр.:

- Hayman M.M., Baxter I., O'riordanP.J. , Stewart C.M. Effects of High-Pressure Processing on the Safety, Quality, and Shelf Life of Ready-to-Eat Meats. ***J. Food Prot.*** 67, 1709-1718 (2004). https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.8.1709

- Campus M. High Pressure Processing of Meat, Meat Products and Seafood. ***Food Eng. Rev.*** 2, 256-273 (2010). https://doi.org/10.1007/s12393-010-9028-y

- Simonin H., Duranton F. , de Lamballerie M. New Insights into the High-Pressure Processing of Meat and Meat Products. ***Compr. Rev. Food Sci. Technol.*** 11, 285-306 (2012). https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x

- Bajovic B., Bolumar T., Heinz V., Quality Considerations with High Pressure Processing of Fresh and Value Added Meat Products. ***Meat Sci.*** 92, 280-289 (2012). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024

- Ma H., Ledward D.A., High Pressure Processing of Fresh Meat — Is it worth it? ***Meat Sci.*** 95, 897-903 (2013). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024

- Villamonte G., Simonin H., Duranton F., Chéret R., de Lamballerie M. Functionality of Pork Meat Proteins: Impact of Sodium Chloride and Phosphates under High-Pressure Processing. ***Innov. Food Sci. Emer. Technol.*** 18, 15-23 (2013). https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.12.001

и много други.

В раздел **1.2 Възможност за подобряване методите за консервиране, като се използват антиоксиданти с натурален произход** от стр. 15 е направен опит за литературен обзор на данните за приложение на известните синтетични и натурални антиоксиданти, но според мен авторката не е подходила методологически правилно, а именно: първо да опише накратко видовете антиоксиданти според тяхната сила и механизъм на действие. След това да направи кратък преглед на известните до момента натурални антиоксиданти прилагани в месо и месни продукти и трето и най-важно – дали има сведения от достъпната ни литература за комбинирано въздействие на HPP обработка на месо с приложение на антиоксиданти и ако да, какво?

В тази връзка моля докторантката да отговори на следните въпроси:

Въпрос: **Коя е причината в литературния преглед и в постановката на опита да се използват следните подправки като риган (*Origanum vulgare*), мащерка (*Thymus vulgaris* L.) и розмарин (*Salvia rosmarinus*); препарати с антиоксидантни свойства от растителен произход като маслинови полифеноли, червено цвекло (*Beta vulgaris* ssp.); червена ряпа (*Raphanus sativus*) и разпространявани на пазара, комерсиални търговски марки препарати, като „Medoliva Plus", натриев лактат?**

Въпрос: **Няма ли и други силни или слаби антиоксиданти или донори на електрони или прихващачи на електронни от йони на метали с подвижна валентност, които да оказват сравнително силен синергизъм при минимално влагани дози?**

Въпрос: **Защо в първи етап от експеримента се използват едни антиоксидантни препарати, а във втори – други?**

Въпрос: **Какъв е мотивът на авторката да избере точно посочените в експериментите концентрации?**

Записано е, че препарата „Medoliva Plus" е натурален екстракт от маслини и цитрусови плодове / плодов сок от лимон, капсулиран в малтодекстрин или друг подобен хранителен капсулиращ носител, чрез лиофилизация. За извличането и сушенето му се използва само чиста вода. Производство на фирма „ПолиХелт", Гърция. Никъде не е описана концентрацията на съставките, а това би обяснило, както количеството му на влагане, така и какво е неговото потенциално действие?

Въпрос: **Какво е процентното съотношение на изброените по-горе съставки в препарата и в какви концентрации на влагане доставчикът препоръчва той да се добавя?**

Препоръки за бъдеща работа:

Заглавието, целта и задачите да се формулират прецизно и точно, за да се избягват възможности за спекулативно въздействие върху читателя.

Постановката на експериментите да е ясно разписана, последователна и да надгражда и следва поставената цел и задачи на работата.

Оформлението на текста в раздел Резултати и дискусия да произтича тясно от представените получени резултати, Дискусията да е по-задълбочена и да цели представяне на фундаментални обяснения на установените промени и тенденции на изследваните показатели. Желателно е в края на всеки раздел да има кратко научно заключение, което да не се пресъздава дословно отново в изводите или в резюмето на работата.

Приносите на дисертационния труд биха могли да се редактират много по-прецизно и точно. Формулировката на някои от приносите не убеждава. Читателят остава с впечатление, че не е направено разграничение между фундаментални за науката приноси и такива с приложен характер.

По принцип няма практика приносите да се класифицират на научно-фундаментални и научно-приложни. Препоръчвам за в бъдеще да се представят като научни и приложни и в някои редки случаи по изключение - като научно-приложни.

Не много значителна част от цитираните референции са сравнително нови – от последните 10 – 15 години, което определено е известен недостатък на дисертацията, защото не отразява точно актуалното съвременно ниво на научните изследвания в областта на изследването.

В голяма част на фигурите от автореферата означенията на статистическите параметри за обработка на данните са трудно четими, вероятно поради форматирането на страниците.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на изложеното по-горе, независимо от редицата забележки и препоръки, считам че докторантката се е справила по същество с основната цел на една дисертация – да съумее да идентифицира важен за науката и практиката проблем, да формулира по достатъчно надежден начин ясна цел и задачи на експеримента, за подбере и приложи нови съвременни и подходящи за целите на изследването аналитични методи и апаратура и да представи достатъчен обем резултати, които да са дискутирани критично и разпространени чрез подходящ брой научни публикации сред научната общност. На мнение съм, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ССА.

По тези причини оценявам положително дисертационния труд и предлагам на уважаемото научно жури да гласува подкрепа а присъждане на образователната и научна степен „Доктор" в област на висше образование 5. Технически науки, професионално направление 5.12 Хранителни технологии, научна специалност „Технология на месните и рибните продукти" на маг. инж. Папа Живкова Нацариду.

Дата: 12.02.2024 г. **ИЗГОТВИЛ РЕЦЕНЗИЯТА:** [redacted]

Чл.-кор. проф. д.т.н. инж. Стефан Г. Драгоев

REVIEW

of the PhD thesis for obtaining the educational and scientific degree "Philosophy Doctor" in the field of higher education 5. Technical Sciences, professional field 5.12. Food Technology, PhD program "Meat and Fish Products Technology"

Topic and author of the PhD thesis: Innovative Technology for Processing Meat and Meat Products Developed by Pepa Zhivkova Nitsaridou, MSc.

Member of the Scientific Jury: Prof. Eng. Stefan Georgiev Dragoev, DSc. (Corresponding Member of Bulgarian Academy of Sciences), Department of Meat and Fish Technology, Technological Faculty, University of Food Technologies, Plovdiv; Professor of 5. Technical Sciences, 5.12. Food Technology (specialization "Technology of Meat and Fishery Products"), appointed as a member of the scientific jury with Order No RD05-192/ November 13th, 2023 of the Chairman of Agricultural Academy.

I. Short Presentation of PhD Student (Important Biographical Data and Scientific Development)

PhD student Pepa Zhivkova Nitsaridou was born on 11.03.1969 in Elhovo. She received her secondary education at the Economic School, Burgas in 1988. In 1990 he graduated from his semi -self -educated education at the semi -senior Institute of Chemical Technology and Biotechnology, Razgrad. In 2006 she acquired Bachelor's Degree in Food Technology, and in 2010 the Master's Degree in Ecology and Environmental Protection in the Food Industry from the University of Food Technologies, Plovdiv. The professional development of Ms. Nitsaridou began in 1999. From then until now, she has worked as: assistant technologist in the peach compotes production of in the company "Melissa" Ltd., Greece; technological engineer, technology and equipment consultant in a factory for wild mushrooms drying and freezing "G-Foods" Ltd., Sofia; HACCP control responsible person and person for contacts with suppliers in meat processing company "Decom" Ltd., Sofia; intern-laboratory assistant in chemical and biological analysis of domestic waste water at a company for the treatment of domestic waste water, Burgas; expert in the "Biological Agriculture and Plant Breeding" Directorate at the Ministry of Agriculture and Food, Sofia; inspector for planning, organization and coordination of accreditation activities at the Executive Agency "Bulgarian Accreditation Service", Sofia; engineer-technologist at the company "Akvabar" Ltd., Sofia; PhD student - laboratory assistant at the Microbiology Laboratory of the University of Food Technology, Karditsa, a branch of the University of Thessaly, Greece; regulations expert at the company for the production and trade of probiotics "Flo Spice" Ltd., Sofia - subcontractor of "Bio care Copenhagen", Denmark; expert in fishing and aquaculture sustainability at the Ministry of Agriculture, Sofia.

Ms. Pepa Nitsaridou is enrolled as a full-time PhD student at the Institute of Cryobiology and Food Technologies at the Agricultural Academy, Sofia with order No NP-08-09/25.01.2018 in the PhD program "Technology of Meat and Fish Products" in professional direction 5.12. "Food Technology". Pursuant to Order No. RD05/16.01.2019, she is transferring to a part-time PhD student. She was awarded the right of defense her PhD Thesis in 2021 by Order No RD05-174/16.09.2021. Ms. Pepa Nitsaridou is fluent in written and spoken Greek, English and Russian.

II. General Characteristic of the PhD Thesis and the Autor's Abstract- Volume and Structure

The PhD thesis presented to me is in a volume of 113 standard typewritten pages. The following sections are distinguished in it: Introduction - 2 pages; Literary Review - 30 pages; Purpose and Tasks of Work - 2 pages; Materials and Methods - 10 pages; Results and Discussion - 49 pages; Conclusions - 3 pages, Contributions - 2 pages and References - 12 pages.

The auto-abstract was presented in Bulgarian and English, and has a volume of 46 pages. It includes 14 tables and 25 figures. The auto-abstract clearly reflects the goals and tasks of the dissertation, the results obtained and the conclusions and contributions made.

III. Relevance of the Studied Problem

One of the most important priorities for the meat processing industry in the last decade is the creation of new innovative technologies to ensure the production of safe, high quality meat products. One such innovation turns out to be high hydrostatic pressure (HPP) meat processing. With it, without changing the quality indicators, under the combined effect of natural antioxidants and antimicrobial agents, a satisfactorily long shelf life of meat products can be achieved, guaranteeing their safety. High pressure processing or cold pasteurization, unlike conventional meat processing processes, does not depend on the size and geometry of the product, which reduces the impact time. The PhD thesis of Ms. Pepa Natsaridou entitled "Innovative Technology for Processing Meat and Meat Products" significantly responds and very harmoniously fits into these new research trends in meat science and meat processing technology. The current PhD thesis is focused on the application of high hydrostatic pressure in meat processing. The influence of this type of treatment in combination with the application of a number of natural antioxidants has been studied. Based on the relevance of the researched problem, the goals and tasks of the PhD thesis, the used modern analytical methods and statistical processing, and on the other hand - the considerable volume of experimental work, the correctly drawn conclusions and precisely formulated contributions, I believe that the PhD thesis of a Ms. Pepa Natsaridou has the element of scholarly novelty required for this type of dissertation and is up-to-date.

IV. Literary Awareness and Theoretical Preparation the PhD candidate

One hundered and eighty literary sources are cited in the PhD thesis, including 5 in Cyrillic. Forty-seven of the cited references are from the last 10 years. In the literature review, which is structured in three sections, a thorough review of the existing technologies for preserving meat - heat treatment, non-heat treated meat products, etc. is made. The author's attention is directed to the methods of controlling water activity, microbiological and chemical methods.

The possibilities to be used natural antioxidants, which synergistic agents enhance the effect of the main method used for meat preservation, are presented in detail. The presented state of the problem logically flows to the third part of the literature review - the application of high hydrostatic pressure as the main technological treatment in the meat processing industrial practice. The author makes a deep theoretical analysis of the technology in question, emphasizing the influence of high hydrostatic pressure (HPP) on the state of the pathogenic and putrefactive

microflora. The effect of high hydrostatic pressure (HPP) on the structure of muscle proteins, quality characteristics and nutritional value of meat has also been well observed.

Ms. Pepa Natsaridou demonstrates a good awareness, satisfactory knowledge and handling of the literature sources, not only in the literature review of the PhD thesis, but also in the discussion of the obtained results. I express my opinion that as a result of the development of the PhD thesis, Ms. Pepa Natsaridou has acquired the necessary theoretical training and skills to conduct scientific experiments, such as applying modern methods of analysis, using modern analytical equipment, skillfully presenting and interpreting the obtained results and relatively accurately and clearly articulates the conclusions drawn from the data.

V. Methodical Approach

The purpose of the PhD thesis is focused on improving the physicochemical, biochemical, microbiological and sensory properties of fresh beef or ground beef produced by it through the application of innovative HPP technology alone and in combination with various biologically active substances. Two groups of tasks have been formulated to accomplish the goal thus set.

During the first stage of the development, the combined effect of high hydrostatic pressure and water extracts of thyme and oregano on the quality characteristics of beef m. *Longissimus dorsi* and m. *Semimembrranosus* was examined. For this purpose, the pH value, water holding capacity, color characteristics, indicators for myoglobin, lipid and protein oxidation, fatty acid profile of its meat and microbiological status are traced. An adequate sensory analysis was also carried out.

In the second stage, the effect of high hydrostatic pressure in two technological processing modes - standard and extended impact time was studied. In addition, the effect of HPP treatment in combination with the addition of certain natural antioxidants in samples of ground beef obtained from m. *Semimembranosus* was determined. What is striking is the significant number and variety of trained microbiological indicators in the ground beef in both modes. In addition to the total colony forming units, and those of aerobic mesophilic microorganisms, coliforms, *Salmonella* spp., molds and yeast, the presence of *Staphylococcus aureus*, sulphite-refusing clostridia, the lactic bacteria, the enterobacteria (*Enterobacteriacae* family), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* и *Campylobacter jejuni* has been determined. During 40 days of refrigerated storage of the ground beef , many physicochemical and biochemical properties of the meat were monitored. An optimal treatment regime for ground beef with high hydrostatic pressure was determined according to the microbiological status and inoculated pathogen mix. Modern methods and equipment are used in the analyses, guaranteeing reliable results. The results were processed with adequate statistical methods and the program package JMP v.7. The applied methodical approach for conducting the experiments is consistent with the aim and tasks of the PhD thesis, which gives me reason to evaluate it on merit.

VI. Significance and Conviction of the Results Obtained, Interpretations and Conclusions

The obtained results and their overview correspond to the main thesis of the dissertation - creation of an innovative technology for HPP meat processing and obtaining high-quality and guaranteed safe meat products with an extended shelf life. As a result of the methodically correctly performed study and the established effect of high hydrostatic pressure (HPP), alone

or in combination with the application of natural antioxidant supplementations, a significant number of data were obtained on the changes of physicochemical, biochemical, microbiological parameters of two muscles, typical representatives of the oxidative and glycolytic type of musculature. In parallel, data are presented on changes in the mentioned groups of indicators and in ground beef stored for 40 days at 4°C. The obtained results are convincing and correctly interpreted compared to what other researchers have achieved in the scientific field of the study.

A good impression is made by the PhD student's attempt to formulate a recipe for a semi-finished product, as well as the comparison she makes between the traditional technology and the new innovative technology for meat processing with high hydrostatic pressure in combination with a dry preparation of red radish. An adequate economic assessment was also made regarding the applied innovative technology.

Based on the obtained results, eleven conclusions were formulated, which are of interest both for science and for practice.

VII. Contributions to the PhD Thesis

The results of the PhD thesis and the formulated conclusions have allowed several contributions to be derived with a scientific-fundamental and applied character as follows:

Contributions with Scientific-Fundamental Character

1. HPP processed beef keeps its pH lower than 6.00 - values that guarantee the development of putrefactive microflora in the meat will be prevented.

2. A stabilizing effect of high hydrostatic pressure (HPP) on the water-holding capacity of beef m. *Longissimus dorsi* with additions of thyme and oregano, and beef m. *Semimembraranosus* with oregano has been established. As a result, meat emulsions are stabilized, drip loss during cooking is reduced and the yield of the finished product is increased. Along with water-holding capacity, high hydrostatic pressure (HPP) processing of beef shows disruptions in muscle structure and improved tenderness, juiciness and flavor.

3. A baroprotective effect on the total number of microorganisms of the meat processed under high hydrostatic pressure (HPP) with the addition of 0.3% of the preparation "Medoliva Plus" was established. The preparation "Medoliva Plus" and the other two applied antioxidant additives exhibit an antimicrobial effect against the development of representatives of Gram (-) bacteria from the *Enterobacteriaceae* family and extend the shelf life of HPP-treated beef up to the 38th day of refrigerated storage at 4°C.

Contributions with Scientific-Applied Character

1. An optimal regime for processing beef under high hydrostatic pressure (HPP) was established (pressure 580 MPa, temperature 4°C and holding time 4 min), in which the representatives of the pathogenic microflora are effectively eliminated: *Escherichia coli, Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes, Staphylococcus* spp. and *Campylobacter jejuni* and significantly reduced the total number of microorganisms. Applying the same pressure with a hold time of 8 min is not economically efficient. This optimal mode allows to extend the shelf life of ground beef.

2. It was found that 0.3% addition of 60% aqueous solution of sodium lactate reduced both the total number of microorganisms and that of lactic acid bacteria in HPP ground beef

(processed under a pressure of 580 MPa, at a temperature of 4° C and holding time 4 min) and allows shelf-life extension up to 38 days from storage at 4°C.

3. A recipe and technology was developed for a new innovative product - ground beef with the addition of red radish powder, processed under high hydrostatic pressure (HPP) with good sensory characteristics.

4. An ecologically and economically expedient replacement of synthetic preservatives is proposed by processing ground beef under high hydrostatic pressure (HPP), alone or in combination with natural antioxidant preparations, which would allow fresh meat to be marketed under the "Clean label" brand.

VIII. Evaluation of the quality of scientific publications reflecting the results in the dissertation

The results of the dissertation work are reflected in three scientific publications.

The first: **„Alternative technology for beef meat shelf life"** was published in a ***Bulgarian Journal of Agricultural Science*** **(Web of Science** - Emerging Sources Citation Index (ESCI) Journal Impact Factor™ $(JIF)_{2022} = 0,4$ – **Q4**; **Scopus** $CiteScore_{2022} = 1,3$ – **Q3)** –

The second: **„Influence of high pressure processing at 580 MPa and other antimicrobials on minced beef"** was published in a journal ***Animal Science [Bulgarian Journal of Animal Husbandry]*** **(Web of Science** - CABI и FSTA; **Scopus** – not indexed) –

The third: **„Application of HPP technology in meat-processing production"** was published in a ***Food Processing Industry Magazine*** **(Web of Science** - FSTA; **Scopus** – not indexed).

In publications two and three, the pHd student is the independent author, and in publication one - she is the first author. This demonstrates her personal contribution to the presented scientific results.

The points number of publications formed in connection with this work is 93.33 points, at the required 30.00. According to this criteria, Ms. Pepa Zhivkova Nazaridou fully satisfy the requirements for the acquisition of the Doctor of Phylosophy in the professional field 5.12 Food Technologies. There is no evidence of the citations of the three publications.

IX. Critical notes, questions and recommendations to the PhD candidate

I have the following remarks, questions and recommendations regarding the dissertation work:

Notes:

1) I do not accept that part of Scientific-Applied Contribution 1., formulated by the author, which, in her words, concerns "..improvement of colorimetric indicators when using appropriate natural antioxidants..." As is clear from the pictures presented in Fig. 15 after 5-day cold storage of HPP ground beef (processed under pressure 580 MPa, at temperature 4°C and holding time 4 min) no similar development of the red component of the color is demonstrated, nor does the yellow component and brightness decrease of the color. Upon further refrigerated storage of the samples up to day 40 (see data presented in Tables 8, 9 and 10), the instrumentally imaged color characteristics of the ground beef samples at best maintained their levels when additions of 0,

1% "Medoliva Plus" preparation, red beet (*Beta vulgaris*) powder, red radish (*Raphanus sativus*) powder and rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*).

2) I do not consider the last scientific-applied contribution formulated by the PhD candidate regarding the baroprotector effect associated with the baroresticality of lactic acid bacteria under the influence of the supplement of the drug "Medoliva Plus" in the NPP of processed beef.

First, since the Medoliva Plus preparation is a trademark with a trademark and composition, it cannot be used for scientific conclusions, and even more to formulate contributions about its action. It is permissible to study in the form of comparative control to prove the effectiveness of related natural antioxidant supplements or preservatives.

Second, no studies on fermented foods or fermented meat products have been presented in the dissertation? This is probably a terminological bankruptcy when talking about fermented foods (with antimicrobial metabolic organisms)?

A number of technical inconsistencies have been made in the list of publications related to the dissertation, which do not make a good impression. For example:

3) The name of the ***Bulgarian Journal of Agricultural Science*** is incorrectly represented as *Bulgarian Journal of acriculture*;

4) The name of the journal ***Animal Husbandry [Bulgarian Journal of Animal Husbandry]*** is incorrectly represented as *Animal Sciences*;

5) The name of the journal ***Food Processing Industry Magazine*** is incorrectly represented as вено като *Food Processing Magazine*.

6) In the list of publications related to the PhD Thesis is incorrectly shown that the ***[Food Processing Industry Magazine]*** is referenced by **Web of Science** – CABI. It is referenced from the **Web of Science** – Food Science and Technology Abstracts (FSTA).

7) When formulating the purpose of the dissertation, the author very pretentiously wrote down, I quote: "Innovative approach in the application of the HPP technology for processing beef (alone and in combination with biologically active substances), to improve the physicochemical, biochemical, microbiological and sensory qualities of raw beef and beef products.", end quote.

Question: **What is the innovation in the approach to the application of NRP technology in meat processing?**

According to the text of a full paragraph on page 23, I quote verbatim: "HPP technology (high pressure processing - HPP) was discovered more than 100 years ago, but did not find application due to technical problems. Its development began in the early 1990s (Ledward et al. 1995). The first successful experiments on the effect of pressure on microorganisms were recorded in 1899, when Hite first applied hydrostatic pressure to inactivate microorganisms in order to prevent spoilage of milk without adding antiseptics and changing the taste. The technique was initially implemented in the USA and Japan. Prof. Rikimaru Hayashi since 1980 in Japan, used the potential of HPP processing for non-thermal pasteurization of foods. The first country to sell foods processed under high pressure was Japan, foods with higher acidity were introduced to the market (Rovere, 2001: 251-253). In Europe, in 1999, a Spanish meat producer (Espuña SA Company) installed high-pressure equipment for the processing of cooked ham (Rovere, 2001)." – end quote!

According to data from Google Scholar, as well as from the data of the doctoral student from her literature review, it can be seen that there is no lack of information on such processing. For example:

- Hayman M.M., Baxter I., O'riordanP.J. , Stewart C.M. Effects of High-Pressure Processing on the Safety, Quality, and Shelf Life of Ready-to-Eat Meats. ***J. Food Prot.*** 67, 1709-1718 (2004). https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.8.1709

- Campus M. High Pressure Processing of Meat, Meat Products and Seafood. ***Food Eng. Rev.*** 2, 256-273 (2010). https://doi.org/10.1007/s12393-010-9028-y

- Simonin H., Duranton F. , de Lamballerie M. New Insights into the High-Pressure Processing of Meat and Meat Products. ***Compr. Rev. Food Sci. Technol.*** 11, 285-306 (2012). https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x

- Bajovic B., Bolumar T., Heinz V., Quality Considerations with High Pressure Processing of Fresh and Value Added Meat Products. ***Meat Sci.*** 92, 280-289 (2012). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024

- Ma H., Ledward D.A., High Pressure Processing of Fresh Meat — Is it worth it? ***Meat Sci.*** 95, 897-903 (2013). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.024

- Villamonte G., Simonin H., Duranton F., Chéret R., de Lamballerie M. Functionality of Pork Meat Proteins: Impact of Sodium Chloride and Phosphates under High-Pressure Processing. ***Innov. Food Sci. Emer. Technol.*** 18, 15-23 (2013). https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.12.001

and many others.

In section **1.2 The possibility of improving preservation methods, using antioxidants of natural origin** of page 15, an attempt was made to literary review of the application of known synthetic and natural antioxidants, but in my opinion the author did not approach the methodologically correct, namely:

First, to briefly describe the types of antioxidants according to their strength and mechanism of action. Then make a brief overview of the known natural antioxidants used in meat and meat products and third and most importantly - is there any information from our affordable literature on the combined effects of HPP meat processing with antioxidants and if so, what?

In this regard, please answer the following questions:

Question: **What is the reason in the literary review and in the production of the attempt to use the following spices such as oreganum (*Origanum vulgare*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and rosemary (*Salvia rosmarinus*); antioxidant properties of plant origin such as olive polyphenols, red beet (*Beta vulgaris* ssp.); Raphanus sativus and distributed on the market, commercial trademarks such as "Medoliva Plus", sodium lactate?**

Question: **Aren't there any other strong or weak antioxidants or metal chelators that will have relatively strong synergism at minimally embedded doses?**

Question: **Why in the first stage of the experiment are used one antioxidant preparations and in the second - others?**

Question: **What is the author's motive to choose exactly the concentrations indicated in the experiments?**

It has been recorded that the preparation "*Medoliva Plus*" is a natural olive and citrus extract/ fruit juice of lemon encapsulated in maltodextrin or other similar nutritional capsulating

carrier by lifelization. Only clean water is used to extract and dry it. Production of Polyhelt, Greece. There is no described concentration of the ingredients, which would explain both its amount of investment and what is its potential action?

Question: **What is the percentage ratio of the above ingredients in the preparation and at what concentrations of investment the provider recommends that it be added?**

Recommendations for future work:

The title, goal and tasks to formulate precisely and accurately to avoid speculative impact on the reader.

The experimental staging must be clearly scheduled, consistent and upgrade and follows the goal and tasks of work.

The layout of the text in the **Results and Discussion** section to arise closely from the results presented, the discussion is more in-depth and to aim to present fundamental explanations of the established changes and trends of the indicators studied. It is desirable at the end of each section to have a brief scientific conclusion that does not recreate verbatim again in the conclusions or in the summary of the work.

The contributions to the PhD thesis could be edited much more precisely and accurately. The wording of some of the contributions does not convince. The reader remains with the impression that no distinction has been made between fundamental to science contributions and those with an applied character.

In principle, there is no practice for contributions to be classified in scientific- fundamental and scientific-applied. I recommend that in the future to present themselves as scientific and applied, and in some rare cases, as an exception, as a scientific-applied character.

Not very significant part of the references cited are relatively new - from the last 10 - 15 years, which is definitely a known disadvantage of the PhD thesis because it does not accurately reflect the current modern level of research made.

In a large part of the figures in the auto-abstract, the indications of the statistical parameters for data processing are difficult to read, probably due to the formatting of the pages.

CONCLUSION

Based on the above, regardless of a number of remarks and recommendations, I believe that the PhD candidate has coped essentially with the main purpose of a PhD study - to be able to identify an important problem for science and practice, to formulate in a sufficiently reliable purpose and tasks of the experiment, to select and apply new contemporary and suitable for the purposes of the study, analytical methods and equipment and to present sufficient volume of results that have been discussed critically and widespread through the appropriate number of research articles among the scientific community. I think that the PhD thesis presented meets the requirements of the Law for the development of academic staff in the Republic of Bulgaria and the Rules on the terms and conditions for the acquisition of scientific degrees and for the occupation of academic positions at the Agricultural Academy.

For these reasons, I have a positive evaluation of the PhD thesis and offer the respected Scientific Jury to vote on the awarding of the degree "Philosophy Doctor" in the field of higher

education 5. Technical Sciences, professional field 5.12. Food Technology, PhD program "Meat and Fish Products Technology"per Ms. Pepa Zhivkova Nitsaridou, MSc.

Date: February 12th, 2024

PREPARED THE REVIEW:

Prof. Eng. Stefan Georgiev Dragoev, DSc.
Cor.-Member of Bulgarian Academy of Sciences