

## **РЕЦЕНЗИЯ**

**От проф. Веселина Георгиева Гаджева, дхн, Медицински факултет, Тракийски университет - Стара Загора**

**На дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен "доктор"  
Област на висшето образование 4. „Природни науки, математика и информатика”,  
Професионално направление 4.2. Химически науки, Докторска програма:  
„Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“**

**На тема: "БЕЗОПАСНОСТ И РИСК ЗА ЗДРАВЕТО НА ЧОВЕКА ОТ  
ИЗПОЛЗВАНЕТО НА ЧЕРНОМОРСКА МИДА КАТО ХРАНИТЕЛЕН РЕСУРС"**

**Автор на дисертационния труд: Златина Веселинова Петева**

**Научен ръководител: проф. Мона Станчева, дхн, МУ - Варна**

### **1. Кратки биографични данни за докторанта**

**Златина Веселинова Петева** е възпитаник на СУ „Св.Св.Климент Охридски“, гр. София, който завърши през 2005 г. с ОКС „Бакалавър по биология и химия“, а през 2007 г. и ОКС „Магистър по химия“. През 2013 г. получава ОНС “Доктор” по Професионално направление 1.3. “Педагогика на обучението по (методика на обучението по химия) СУ „Св.Св. Кл.Охридски“. От 2012 г. е Асистент по неорганична химия, Катедра Химия, Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов“-Варна, а от 2016 г. Главен асистент по химия в Катедра Химия. Зачислена е за Докторант на самостоятелна подготовка по научна специалност „Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни вещества“ в катедра „Химия“, Факултет по Фармация. МУ „Проф. д-р П. Стоянов“, Варна - 2017 г. От 2016 г. е и Специализант по Теоретични основи на медицинската химия, МУ-Варна.

Златина Петева е автор на 17 научни статии, от които 8 са в Scopus (2 в реферирани списания с ИФ и 1 в реферирано списание с ИР). Брой цитирания 13 (*според Google Scholar*); h-index -3 (*според Scopus*). Докторантката е участвала и в разработването на 2 научно-изследователски проекти, на един от които за млади учени е била ръководител. Носител е на следните награди: 1-ва награда от конкурс за участие в Четиринаесета национална младежка научно-практическа конференция на Федерацията на научно-техническите съюзи в България- 2016 г., 3-та награда от конкурс Young and Energetic scientists - 2016 г. и Колективна награда „Варна“ в сферата на науката и висшето образование, в областта на природните науки за 2012 г.

## **2. Технически данни за дисертационния труд**

Предоставеният ми за рецензия дисертационен труд на Златина Веселинова Петева е в обем 188 страници. Структуриран е според изискванията и включва следните раздели: въведение, литературен обзор, експериментална част, резултати и дискусия, изводи, приноси и библиография. Дисертацията съдържа общо 18 таблици и е онагледена с 63 броя фигури. Като отделен раздел „Приложения“ са представени Резултати от статистическа обработка и Резултати от описателен статистически анализ.

Златина Петева разработва дисертационния труд в Катедра „Химия“ при Факултет по Фармация на МУ-Варна. Той е аprobиран и одобрен за защита от разширен катедрен съвет на обучаващата катедра. Прегледът на документацията представена във вразка със защитата показва, че процедурата по зачисляване в докторантута, обучение и отчисляване е спазена и документите съпътстващи дисертацията са изготвени съгласно изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и на Правилник за равитие на академичния състав на МУ-Варна,

## **3. Актуалност на разработения в дисертационния труд проблем**

С цел опазване здравето на хората, през последните години се обръща все по-голямо внимание на безопасността и качеството на храните. Към здравословните хранителни режими се включват морски храни, поради високото им съдържание на протеини, ненаситени мастни киселини, мастно разтворими витамини, есенциални елементи и ниско съдържание на холестерол. Акцент се поставя на омега-3 и омега-6 поли ненаситени мастни киселини (ПНМК) като важен компонент на човешката диета за предотвратяване на заболявания като атеросклероза, хипертония, диабет, болести на сърдечно-съдовата система и др. Черноморската мида *Mytilus galloprovincialis* съдържа високи концентрации на витамини A, E и D3, както и n3 и n6 (омега 3 и 6) ненаситени мастни киселини. Високото съдържание на витамини и хранителните качества на двучерупчестите мекотели, води до повишен интерес към отглеждането на мидите като аквакултури и до увеличен улов на диви видове, включително и в България.

Морски биотоксии (алготоксии, фикотоксии), продуцирани от определени фитопланктонни видове, се акумулират в двучерупчести мекотели като мидите. Попадайки в човешкия организъм фикотоксините могат да причинят сериозни здравословни проблеми. Затова, през последните години се обръща внимание не само на ползите, но се прави анализ и на рисковете за здравето на човека при консумацията на морска храна. Във връзка с оценка на безопасността им като храна, се извършват множество изследвания на съдържанието на токсични замърсители в морските видове. Предоставеният ми за рецензия дисертационния труд е насочен именно към оценка на безопасността и риска за здравето на човека от използването на черноморската мида като хранителен ресурс.

Запозната съм отдавна с тематиката и научните постижения на научния колектив на катедрата по химия с бивш ръководител проф. дхн Мона Станчева и настоящ проф.

дхн Любомир Македонски, в който е имала шанс да работи и докторантката Златина Петева. Колективът има богат опит с провеждането на систематични изследвания на замърсители в черноморски видове. Настоящият дисертационен труд е в едно ново направление за катедрата, свързано с изследвания на токсини в черноморската мида. Считам, че настоящият дисертационен труд е продължение на работата на колектива и ще допринесе за комплексна оценка на безопасността и риска от консумация на морски видове като храна.

Тези факти ми дават основание да считам разработения в дисертационния труд проблем за актуален и значим за човешкото здраве.

#### **4. Оценка на дисертационния труд**

##### **• Литературен обзор**

Литературният обзор обхваща 30 страници и се основава на 257 съвременни литературни източника, от които 252 на английски език. Той показва способността на докторантката да проучи, резюмира и анализира най-съществените литературни данни по проблема. В обзора е направена обща характеристика на морските биотоксини, разгледани са произхода и химичната им структура. Поради факта, че в литературата не се предлага единен метод за анализиране на всички групи морски биотоксини, тъй като те значително се различават по химичната си структура, са разгледани последователно аналитичните методи за определяне на паралитични, амнезиеви и диарийни (вкл. и други липофилни) токсини. Обсъдени са както хроматографското им определяне, така и методите за екстракция и пречистване на екстрактиите на преби от миди и планктон. Представен е анализ на по-значими изследвания на морски биотоксини за периода 2009-2019 г. в Европейските морски басейни. Характеризиран е токсиновия профил на планктон и миди и от Българското Черноморие. Поради зачестилите случаи на отравяне с морски биотоксини през последните години, е отделено важно място на безопасността и риска за здравето на човека от използването на мидите като хранителен ресурс. Представени са стойности за остри референтни дози при отделните групи токсини.

Литературният обзор впечатлява със задълбочения и творчески анализ на обемистата литература, а направените изводи са резюмирани в заключението към обзора. Въз основа на тях докторантката открива своята изследователска ниша и формулира целта на своята дисертация, а именно, определяне съдържанието на морски биотоксини в планктон и миди от Черно море и оценка на безопасността на мидите като храна. За целта тя си поставя 4 конкретни задачи, които са реализирани в следната последователност:

1. Пробонабиране на култивирани, диви миди и планктон от Черно море;
2. Прилагане на аналитична процедура, разработена за морски биотоксини в миди и планктон;
3. Определяне концентрациите на морски биотоксини в миди и планктон от Черно море;

4. Използване на резултатите за оценка на безопасността на мидите като храна като за целта да бъдат изчислени различни показатели – остра и хронична експозиция, както и коефициент на опасност.

#### • Експериментална част

Обект на изследване в дисертационния труд са планктон, диви и култивирани миди от Българското Черноморие. Използвана е аналитична процедура, разработена в катедра Химия на МУ- Варна и модифицирана за определяне на морски биотоксии в планктон и миди. Поради това, че изследванията с токсиини изискват висок клас хроматографска техника, докторантката е установила сътрудничество с Институт по полярни и морски изследвания в гр . Бремерхафен, Германия, където е провела част от изследванията. Аналитичната процедура е подробно описана и добре онагледена. Това показва много добро владеене на аналитичните техники за пробоподготовка и хроматографският метод за анализ. Високо оценявам приложената аналитична процедура, която позволява едновременно качествено и количествено определяне на анализираните токсиини в един хроматографски ход и се характеризира с висока чувствителност и ефективност.

Аналитичната процедура включва следните етапи:

1. Пробонабиране от райони на улов, транспортиране и съхранение на пробите 2. Изготвяне на средна лабораторна проба и подготовка на аналитична проба 3. Екстракция на морски токсиини 4. Качествено и количествено определяне на морски биотоксии чрез течнохроматографски метод с мас детекция

Използването на високотехнологичната апаратура – течен хроматограф с мас детектор дава възможност за идентифициране и количествено определяне на морски биотоксии в много ниски концентрации. От друга страна това поставя високи изисквания към екстракцията и пречистването на пробите, тъй като мидите са труден обект за изследователски цели, поради високото съдържание на мазнини. Хроматографското определяне е разделено на три етапа: 1 етап. За определяне на домоена киселина (0-8.75 min) 2 етап. За определяне на спиролиди (8.75-11.20 min) 3 етап. За определяне на окадаена киселина, динофизистоксиини, пектенотоксиини и йесотоксиини (11.20-30 min).

Направена е статистическа обработка и статистически анализ на резултатите с програма SPSS 16. Посочени са основните статистически методи, използвани при анализа на резултатите.

#### • Резултати и обсъждане

За първи път у нас е направено систематично изследване за наличие на морски биотоксиини в морски организми. Изследвани са 66 преби планктон, 47 преби диви и 78 преби култивирани миди от район Северно Черноморие и район Южно Черноморие за периода 2016 -2018 г. за наличие на фикотоксините-домоена киселина, окадаена киселина, динофизистоксин-1, динофизистоксин-2, пектенотоксин-2, йесотоксин, спиролид-1. Резултатите от направеното проучване са обобщени по райони на улов и сезони на улов и са сравнени с литературни данни за морски биотоксиини от други морета. Получени са

интересни резултати, представени подробно в раздел „Резултати и дискусия“ и Приложението към него. Давам висока оценка на огромния обем експериментална работа, на доброто представяне на получените резултати, както и на задълбоченото им и творчески дискутиране в светлината на литературните данни. Ще поставя акцент само на някои от тях.

Йесотоксин и пектенотоксин-2 се откриват за първи път по Българското Черноморие в планктон и миди, а домоена киселина – в планктон. Сравнението на резултатите за диви и култивирани миди за целия период на изследване показва, че:

- йесотоксин е най-често срещаният токсин в пробите култивирани миди (38%).
- домоена киселина и йесотоксин са най-често срещаните токсини в дивите миди (и двата токсина в 30% от пробите).
- нивата на домоена киселина и пектенотоксин-2 са по-високи при дивите миди в сравнение с култивираните миди, докато при йесотоксин се наблюдава обратната зависимост.

Резултатите за съдържанието на морски биотоксици в миди са използвани за изчисление на остра и хронична експозиция, както и за коефициент на опасност

Направена е оценка на риска и безопасността на мидите като храна по следните показатели: сравнение на експерименталните резултати с максимално допустимите граници (норми) в ЕС, сравнение с остра референтна доза и допустим дневен прием. Резултатите показват, че съдържанието на определените морски биотоксици - домоена киселина, йестотоксин и пектенотоксин-2 в диви и култивирани миди е значително под възприетите максимално допустимите граници за Европейския съюз. Следователно не се очаква риск за здравето на консуматорите.

## **5. Оценка на изводите и приносите**

Поради това, че в раздел „Резултати и дискусия“ са представени много описания на извършените изследвания, данни и дискусия, считам, че дисертантката правилно е формулирала в нов раздел 12 извода, в които са резюмирани най-значимите резултати на дисертационния труд, показващи убедително научната му стойност.

Поради това, че е направено първото у нас изследване за морски биотоксици в морски организми, бих искала да отбележа, че считам изброените приноси на дисертационния труд за оригинални.

## **6. Оценка на публикациите по дисертационния труд**

Докторантката представя 3 научни публикации, в 2 от които З. Петева е на първо място. Прави добро впечатление големият брой - 7 участия в научни форуми, повечето международни. От това следва, че препоръчителните наукометрични изисквания според Правилника за развитие на академичния състав на МУ Варна за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ - не по-малко от 3 публикации са изпълнени.

## **7. Оценка на автореферата**

Авторефератът е структуриран правилно и отразява пълно проведените изследвания и получените резултати, описани в дисертацията. Направените изводи и приноси са обективни и съответстват на получените резултати.

## **8. Критични бележки и препоръки**

Препоръчвам проучването да продължи с изследване на по-голям брой преби в посока изясняване на факторите, от които зависят големите колебания, установени в нивата на някои биотоксини. Например, анализът на нивата на домоена киселина през м. април показва максимална регистрирана концентрация в пробите от Северното Черноморие (1374.3 ng/g hp), близо 2 пъти по-висока от тази в пробите от Южното (618.9 ng/g hp). След това, до края на месец април концентрацията на токсина в пробите значително намалява като през месец май и началото на юни домоена киселина не е установена в пробите. Дали максимумът в концентрацията на домоена киселина в мидите е свързан само с максимумът в пробите планктон, както показват данните на докторантката и тези, докладвани в други изследвания или се дължи на други фактори и зависимости.

## **9. Заключение**

Десертационният труд на Златина Петева е посветен на изследване на морски биотоксини в планктон, диви и култивирани миди, което се извършва за първи път у нас. Едновременно с това докторантката използва резултатите за оценка на риска и безопасността на мидите като храна. Изследванията представляват интерес за обогатяване данните за Черно море, които до този момент са много малко в сравнение с тези за други морета.

Докторантката е провела значителна по обем експериментална работа, прилагайки модерна методология. Получените резултати са отразени в 3 научни статии, в две от които тя е водещ автор и са докладвани на 7 научни форуми. Със своя дисертационен труд З. Петева се представя като добре подготвен специалист в областите химия и опазване на екосистемите, както и в статистическата обработка и анализ на резултатите. Имайки предвид всичко това, както и значителните научни приноси на дисертационния труд, си позволявам убедено да препоръчам на уважаемото научно жури да присъди на Златина Петева ОНС „Доктор”.

**РЕЦЕНЗЕНТ:**

(проф. В. Гаджева, дхн)

10.01.2020 г.