

dr hab. Marek Gancarz, prof. URK  
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie  
Wydział Inżynierii Produkcji i Energetyki  
Katedra Inżynierii Bioprocessów, Energetyki i Automatykacji  
ul. Balicka 116 B  
30-149 Kraków

Kraków, 08.08.2024 r.

## RECENZJA

### **rozprawy doktorskiej mgr inż. Michała Plawgo pt. „Optymalizacja ekologicznych metod ekstrakcji związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale* WDJ Koch w oparciu o analizę wielokryterialną z wykorzystaniem nawigacji na zbiorach Pareto”**

Promotor rozprawy: prof. dr hab. inż. Sławomir Kocira

#### **Podstawa formalna wykonania recenzji**

Recenzję wykonano na podstawie pisma Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prof. dra hab. Dariusza Andrejko z dnia 28.06.2024 roku.

#### **Uwagi ogólne**

Rozprawa doktorska mgr inż. Michała Plawgo składa się z trzech publikacji naukowych. Główny tekst pracy ma układ poprawny i składa się z 6. rozdziałów głównych i 11. podrozdziałów zawierających kolejne 10 podrozdziałów. Z uwagi na interdyscyplinarność badanego problemu tak duża liczba rozdziałów i podrozdziałów jest uzasadniona. W rozdziale Wprowadzenie Doktorant omawia podstawowe zagadnienia związane z tematem pracy. W drugim rozdziale Doktorant przedstawia problem badawczy, hipotezy i cel naukowy. W trzecim rozdziale przedstawiono użyte materiały i metody badań. Część eksperymentalną pracy zamyka rozdział wyniki badań i ich dyskusja oraz 11 wniosków z czego 2 przedstawiono jako wnioski użyteczne. Całość tego opracowania liczy 101 stron i zawiera 11 tabel oraz 46 prezentacji graficznych, w tym 41 wykresów przedstawiających wyniki badań, 4 schematy i 1 przedstawiający zdjęcia użytego materiału badawczego. Literatura obejmuje 119 pozycji, z czego większość to pozycje obcojęzyczne pochodzące z ostatnich lat. W pracy zamieszczony jest aneks, w którym znalazły się publikacje doktoranta stanowiące rozprawę doktorską, w których zaprezentowano uzyskane w trakcie badań wyniki oraz oświadczenia współautorów o ich roli w poszczególnych publikacjach.

#### **Ocena merytoryczna pracy**

Interdyscyplinarny charakter eksperymentu oraz zakres prac badawczych wymusza od Autora przeprowadzenia wieloaspektowego przeglądu literatury. Na początku pierwszego

rozdziału odwołuje się do tradycji wykorzystywania roślin aromatycznych w medycynie ludowej, która wpisuje się w aktualne poszukiwania nowych produktów rolniczych, żywnościowych, farmaceutycznych, a także kosmetycznych.

Również w tym rozdziale krótko omawia roślinę *Levisticum officinale* W.D.J. Koch (lubczyk lekarski) jako bogate źródło wielu klas metabolitów wtórnych o szerokim spektrum działań farmakologicznych i terapeutycznych. Wyjaśnia czym jest proces ekstrakcji i wymienia oraz charakteryzuje stosowane metody ekstrakcji. W tym rozdziale Doktorant też wyjaśnia zagadnienia optymalizacji. Optymalizację procesu prowadzi się z wykorzystaniem wielu metod, w tym metod empirycznych, statystycznych i łączonych. Podkreślić należy fakt, że odpowiednia procedura optymalizacji i jej efekty są niezbędne do przyszłościowego przemysłowego zastosowania procesu oraz komercjalizacji wytworzonego produktu.

Wobec wzrastającego zapotrzebowania na surowce stosowane jako prozdrowotne alternatywy produktów spożywczych otrzymywane różnymi technikami, bardzo trafnym, w mojej opinii jest wybór zakresu badawczego podjętego przez Doktoranta, który w oparciu o powyższe zagadnienia ustalił zakres badań i podjął się rozwiązania następujących problemów naukowo-badawczych formułując je jako pytania:

1. Przy jakiej metodzie i jakich parametrach procesu ekstrakcji wodnej możliwe jest wytworzenie ekstraktów z *Levisticum officinale* o najwyższej zawartości związków biologicznie czynnych?

2. Czy bazowanie na modelach matematycznych i optymalizacji wielokryterialnej będzie narzędziem wspierającym podejmowanie decyzji o parametrach procesów ekstrakcji?

Doktorant wyznaczył główny cel pracy, którym był dobór metody i parametrów procesu ekstrakcji wodnej konwencjonalnej i wspomaganą mikrofalami lub ultradźwiękami dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale*, z zastosowaniem teorii podejmowania decyzji opartej na modelach matematycznych i optymalizacji wieloobiektowej.

Doktorant postawił następujące hipotezy badawcze:

- Zastosowanie analizy wielokryterialnej z wykorzystaniem nawigacji po zbiorach Pareto umożliwi dobór metody i parametrów procesu ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z *Levisticum officinale*.

- Zaproponowane metody optymalizacji procesu ekstrakcji umożliwią dobór parametrów procesu ekstrakcji związków bioaktywnych z *Levisticum officinale*.

- Ekstrakcja wodna wspomaganą mikrofalami lub ultradźwiękami pozwoli na bardziej wydajną ekstrakcję związków bioaktywnych z *Levisticum officinale* w porównaniu z konwencjonalną metodą ekstrakcji.

Doktorant osiągnął cel pracy poprzez przeprowadzenie poniższych zadań badawczych:



- Wybór biomasy roślinnej do procedury ekstrakcji;
- Wybór metod ekstrakcji i technik wspomagających jej proces;
- Planowanie parametrów i ich zakresów w każdej metodzie ekstrakcji;
- Prowadzenie badań nad ekstrakcją konwencjonalną oraz wspomaganą mikrofalowo i ultradźwiękami;
  - Ocena zawartości związków biologicznie czynnych w ekstraktach (poziom związków fenolowych, flawonoidów, węglowodanów i całkowitego potencjału antyoksydacyjnego);
  - Określenie celu, kryteriów i zmiennych decyzyjnych;
  - Modelowanie matematyczne procesów ekstrakcji i ocena statystyczna dopasowania modeli;
  - Wybór metodologii optymalizacji wielokryterialnej i analizy postoptymalizacyjnej;
  - Wskazanie optymalnych parametrów trzech metod ekstrakcji w celu maksymalizacji potencjału przeciwutleniającego ekstraktów z *Levisticum officinale*.

Praca doktorska mgr inż. Michała Plawgo obejmuje szeroko zakrojony zakres badawczy, który z jednej strony wymaga znajomości oddziaływań fizycznych na ośrodki i zawiera interesujące aspekty badawcze, dotyczące wpływu mikrofal i ultradźwięków na właściwości fizyczne i chemiczne *Levisticum officinale*, a także prowadzenia badań laboratoryjnych na żywności. Wszystkie te aspekty powodują, że podjęty przez mgr inż. Michała Plawgo w rozprawie doktorskiej temat ważny jest nie tylko z punktu widzenia rozwiązania nowego problemu badawczego, ale staje się istotnym zagadnieniem, nadającym pracy aplikacyjny charakter.

Doktorant w badaniach analizował trzy procesy ekstrakcji:

- Konwencjonalna ekstrakcja wodna (HWE);
- Ekstrakcja wodna wspomaganą mikrofalowo (MAE);
- Ekstrakcja wodna wspomaganą ultradźwiękami (UAE).

Przeprowadził następujące analizy składu ekstraktów:

- Kwantyfikacja ilościowa związków fenolowych (TPC);
- Całkowita zawartość flawonoidów (TFC) w ekstraktach;
- Aktywność przeciwutleniająca DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl);
- Zawartość cukrów redukujących (RSC).

Wykorzystał modele matematyczne i narzędzia optymalizacyjne z wykorzystaniem komputerowych pakietów obliczeniowo-symulacyjnych jako podstawę strategii poprawy wydajności ekstrakcji, w aspekcie zwiększenia poziomu związków bioaktywnych.

Do przeprowadzenia optymalizacji ekstrakcji wykorzystano modele regresji wielowymiarowej. Modele te powstały na podstawie danych eksperymentalnych, cech jakościowych ekstraktów z *Levisticum officinale*.

W procesie konwencjonalnej ekstrakcji wodnej analizowanymi parametrami/zmiennymi decyzyjnymi były stosunek biomasy roślinnej do wody (g/ml), czas ekstrakcji (min) oraz temperatura ekstrakcji ( $^{\circ}\text{C}$ ).

W procesie ekstrakcji wspomaganej mikrofalowo analizowanymi parametrami procesu/zmiennymi decyzyjnymi były stosunek biomasy roślinnej do wody (g/ml), moc mikrofal (W) i czas ekstrakcji (s).

W procesie ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami analizowanymi parametrami procesu/zmiennymi decyzyjnymi były stosunek biomasy roślinnej do wody (g/ml), moc ultradźwięków (W) i czas ekstrakcji (min).

Zależności wybranych kryteriów decyzyjnych od zmiennych decyzyjnych opisywał z wykorzystaniem wielomianów wielu zmiennych.

Ocenę jakości dopasowania modelu do danych eksperymentalnych przeprowadził w oparciu o otrzymane wartości wskaźników współczynnika  $R^2$  Statistic, Skorygowanego  $R^2$  oraz w oparciu o średni kwadratowy błąd przewidywania (MSE).

W zadaniu optymalizacyjnym dla każdej z metod ekstrakcji, prawidłowo przyjął czterowymiarową przestrzeń kryteriów, w której poszukiwał rozwiązań, dla których wszystkie kryteria przyjmą wartości ekstremalne. Celem tych działań było uzyskanie ekstraktów wodnych z *Levisticum officinale*, charakteryzujących się maksymalną wartością kryteriów K<sub>1</sub>-K<sub>4</sub>.

Dla każdej z metod ekstrakcji zdefiniował kryteria decyzyjne w następujących postaciach:

Kryterium K<sub>1</sub> – TPC całkowita zawartość związków fenolowych (mg GAE/g);

Kryterium K<sub>2</sub> – TFC całkowita zawartość flawonoidów ( $\mu\text{mol CAT/l}$ );

Kryterium K<sub>3</sub> – TAA całkowity potencjał przeciwutleniający (DPPH-%inh);

Kryterium K<sub>4</sub> – RSC zawartość cukrów redukujących (g GE/l).

Kryteria prawidłowo obliczane były dla zdefiniowanego zbioru zmiennych decyzyjnych dla poszczególnych procesów ekstrakcji. Następnie wyznaczył jawną postać zbioru rozwiązań zdominowanych i niezdominowanych (Pareto-optymalnych) dla ekstraktów wodnych w przestrzeni kryteriów decyzyjnych. W celu wyboru ze zbioru tych rozwiązań mniejszego podzbioru przeprowadził redukcję tego zbioru poprzez zastosowanie miary efektywności dla każdego elementu zbioru Pareto. W zadaniu optymalizacyjnym przyjął definicję punktu Utopii, uważanego za optymalne rozwiązanie pod każdym względem (efektywność rzędu 1). W kolejnym kroku wykorzystał metodę „inteligentnego” uzyskiwania zmniejszonej reprezentacji efektów optymalizacji i rozwiązań optymalnych w sensie Pareto. W tej metodzie wielocelowa optymalizacja topologii frontu Pareto odbywa się w oparciu o metodę sumy ważonej. Choć metoda sumy ważonej ma ograniczenia, gdy jest stosowana do problemów, które mają niewypukłą granicę Pareto, Doktorant słusznie założył, że granice Pareto w większości problemów inżynierskich są wypukłe i dlatego też metoda sumy ważonej pozostaje użytecznym

podejściem dla wielu praktycznych problemów optymalizacji wielopodmiotowej i jest omawiana w wielu badaniach, i użył jej także w swoich analizach.

Doktorant przeprowadził analizę statystyczną w programie Matlab z wykorzystaniem statystyki F, której użył do testowania istotności statystycznej modelu. Wartości statystyki F (statystyka do testowania ostatecznego modelu w porównaniu z brakiem modelu (tylko średnia) pozwoliły mu w dalszych badaniach określić istotność elementów lub składników modelu.

W dalszej części pracy Doktorant przedstawił wyniki swoich badań oraz ich dyskusję. W pierwszej kolejności wykonał optymalizację konwencjonalnej ekstrakcji wodnej w aspekcie maksymalizacji pozyskiwania związków czynnych z korzeni *Levisticum officinale*. W podsumowaniu stwierdził, że dla osiągnięcia satysfakcjonujących rozwiązań ze zbioru rozwiązań Pareto-optymalnych dla ekstrakcji istnieje możliwość zastosowania wysokich wartości temperatury, co w konsekwencji prowadzi do możliwości obniżenia czasu procesu. Dodatkowo wykazał, że skrócenie czasu procesu będzie możliwe przy zastosowaniu wyższych temperatur. Podobne możliwości decydowania o parametrach procesu ekstrakcji wykazał dla zależności pomiędzy temperaturą a stosunkiem biomasy z korzeni do rozpuszczalnika. Możliwe jest bowiem osiągnięcie satysfakcjonujących rozwiązań kompromisowych przy obniżeniu temperatury ekstrakcji, ale przy zwiększeniu analizowanego wskaźnika biomasy do wody. Jak słusznie zauważył te wskazówki mogą być niezwykle cenne z punktu widzenia świadomego sterowania procesem dla maksymalizacji pozyskiwanych związków biologicznie czynnych.

W kolejnym kroku swoich badań określił efekty optymalizacji ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo dla maksymalizacji pozyskiwania biozwiązków z korzeni *Levisticum officinale*. W tych badaniach Doktorant zastosował zmienne procesowe, które determinowały efektywność pozyskiwania związków bioaktywnych, czyli czas ekstrakcji, moc mikrofal oraz stosunek biomasy roślinnej do rozpuszczalnika. Wykazał, że dla zwiększenia wydajności pozyskiwania związków fenolowych i cukrów redukujących, zwiększony stosunek biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody był bardziej korzystny. Natomiast wskaźnik ten jak podał, odmiennie wpływał na poziom flawonoidów oraz potencjał przeciwutleniający ekstraktów. Wykazał także, że po przekroczeniu środkowej, analizowanej wartości tego współczynnika następował spadek zawartości tych związków w uzyskanych ekstraktach. W badaniach nad ekstrakcją związków czynnych z korzeni *Levisticum officinale* wykazał także wpływ czasu procesu na poziom związków fenolowych, flawonoidów, cukrów oraz potencjał przeciwutleniający. Stwierdził, że wydłużenie czasu skutkowało zwiększeniem puli tych związków, ale jak podał dalej, wydłużanie czasu nie skutkowało już tak dużymi wzrostami. Jednak w przypadku potencjału przeciwutleniającego, ocenianego testem DPPH, uzyskał wyniki, z których wynioskował, że nastąpił spadek tego parametru po przekroczeniu pewnego czasu granicznego. Ostatnim optymalizowanym przez Doktoranta w tej części badań parametrem procesu ekstrakcji wspomaganej mikrofalowo, była



moc magnetronu. Jak dowiódł, zwiększanie mocy mikrofal prowadziło do zwiększenia poziomu związków bioaktywnych. Jednak w przypadku zawartości związków fenolowych i flawonoidów zwiększanie mocy mikrofal z 650 do 750 W nie powodowało już znaczących różnic. **Czy doktorant może wyjaśnić, co mogło być tego przyczyną?**

W ostatniej części tego rozdziału przedstawił wyniki badań dla optymalizacji wielokryterialnej ekstrakcji wodnej, wspomaganej ultradźwiękami w odniesieniu do maksymalizacji pozyskiwania czynnych fitozwiązków z korzeni *Levisticum officinale*. W tej części badań Doktorant skupił się na zaprojektowaniu, analizie i optymalizacji przyjaznej dla środowiska ekstrakcji, wspomaganej ultradźwiękowo, z użyciem wody jako ekologicznego rozpuszczalnika dla matrycy roślinnej w postaci korzeni *Levisticum officinale*. Takie podejście powinno umożliwić przyszłościowe wykorzystanie ekstraktów w różnych gałęziach przemysłowych m.in. w przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy farmaceutycznym, a powstały po procesie poekstrakcyjny materiał roślinny można poddać dalszej i bezpiecznej rewaloryzacji, ze uwagi na wykorzystanie wody jako rozpuszczalnika. Jak podaje Doktorant badania wykazały, że całkowita pula związków fenolowych i flawonoidów oraz potencjał antyoksydacyjny wzrastały z wydłużaniem procesu ekstrakcji, aż do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już zbliżoną wartość i nie zmieniały się istotnie. Podobną zależność odnotował w przypadku zwiększania stosunku biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody oraz mocy ultradźwięków. **Tutaj autor podaje niezrozumiałe stwierdzenie, cytuję „Jedynie w przypadku cukrów redukujących, stwierdzono największą wydajność ich ekstrakcji, gdy zastosowane brzegowe analizowane warunki procesu”. Czy Doktorant mógłby sprecyzować i wyjaśnić to stwierdzenie?**

W rozdziale Wnioski Autor w formułuje 11 wniosków, na podstawie przeprowadzonych badań i analiz, z których dwa podaje jako użyteczne. We części wniosku 9. Autor stwierdza: „Dodatkowo powstały po procesie poekstrakcyjny materiał roślinny można poddać dalszej i bezpiecznej rewaloryzacji, ze względu na wykorzystanie wody jako rozpuszczalnika”. **Autor nie przeprowadził badań w tym zakresie, więc to stwierdzenie nie powinno znaleźć się jako wniosek z przeprowadzonych badań.**

We wniosku użytecznym 2. Doktorant podaje: „Zoptymalizowane ekstrakty można wykorzystać do opracowania nowych preparatów biostymulujących dla rolnictwa, żywności funkcjonalnej lub kosmetyków naturalnych”. **Autor w tym przypadku również nie przeprowadził badań w tym zakresie, więc to stwierdzenie także nie powinno znaleźć się jako wniosek z przeprowadzonych badań.**



Zakres badań niezbędny do realizacji celu, jaki założył mgr inż. Michał Plawgo wymagał od Autora poznania wielu metod statystycznych. W tym względzie Autor wykazał się dojrzałością i dobrym przygotowaniem w projektowaniu doświadczeń oraz świadomością założeń i przeznaczeniem poszczególnych badań, a także wykorzystaniem nowoczesnych pakietów statystycznych i zastosowaniem odpowiedniej metody statystycznej do opracowania wyników, co pozwoliło Mu interpretować poprawnie wyniki w oparciu o logiczny i przemyślany cykl badawczy. Dlatego, do mocnych stron pracy należy zaliczyć sposób i zakres przeprowadzonych analiz statystycznych. Do określenia istotności różnic uzyskanych wyników dla poszczególnych wariantów ekstrakcji Doktorant przeprowadził analizę statystyczną w programie Matlab z wykorzystaniem statystyki F, której użył do testowania istotności statystycznej modelu. Wartości statystyki F pozwoliły mu w dalszych badaniach określić istotność elementów lub składników modelu. Graficzne przedstawienie wyników analizy umożliwiło Doktorantowi wykrycie struktury grupowania się wyników, ich podobieństw i różnic oraz analizę zależności między badanymi parametrami.

Podsumowując, chcę podkreślić, że zakres prac eksperymentalnych został bardzo szeroko zakrojony i Autor uzyskał wiele interesujących i wartościowych wyników z doświadczeń laboratoryjnych, które w mojej ocenie były prowadzone prawidłowo. Zaletą pracy jest również szeroki zakres badań z zastosowaniem metod fizycznych wspomagających proces ekstrakcji wodnej konwekcyjnej, co jest mocną stroną przedstawionej pracy.

### **Uwagi redakcyjne**

Praca przygotowana jest starannie, mimo to Autor nie ustrzegł się pewnych niedociągnięć głównie o charakterze edycyjnym, stąd w celu uniknięcia ich podczas prowadzenia dalszych badań oraz publikowania wyników w czasopismach naukowych pragnę zwrócić uwagę na pewne zagadnienia oraz proponuję wprowadzić następujące niewielkie korekty:

- We wszystkich tabelach Doktorant podaje wyniki z dokładnością do aż 4. miejsca po przecinku, co z uwagi na rząd wielkości większości uzyskanych wartości całkowitych w niektórych przypadkach nawet kilkaset wydaje się być dla tych przypadków niepotrzebne i wystarczyłyby tylko dwa miejsca po przecinku. Są to oczywiście błędy, które są łatwe do wyeliminowania.
- We wniosku 6. Doktorant stwierdza: „Badania wykazały, że całkowita pula związków fenolowych i flawonoidów oraz potencjał antyoksydacyjny wzrastały z wydłużaniem procesu ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami, do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już podobną stałą wartość”. W celu uniknięcia błędnej interpretacji wniosku należało podać ten wniosek w formie” Badania wykazały, że całkowita pula związków fenolowych i flawonoidów oraz potencjał



antyoksydacyjny wzrastały z wydłużaniem **czasu trwania** procesu ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami, do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już podobną stałą wartość”.

Wszystkie moje uwagi i pytania podaję jako wskazówki do wykorzystania w przyszłych badaniach i publikacjach oraz mam nadzieję, że mogą być pomocne przy doskonaleniu metod i parametrów procesu ekstrakcji wodnej dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych nie tylko dla *Levisticum officinale*.

### **Wniosek Końcowy**

Pragnę podkreślić, że istotnym elementem pracy o najwyższej wartości był dobór metody i parametrów procesu ekstrakcji wodnej dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale*, z zastosowaniem teorii podejmowania decyzji opartej na modelach matematycznych i optymalizacji wieloobektowej.

W oparciu o dobraną metodykę badań, uzyskane wyniki i ich analizę, a także wnioski końcowe można jednoznacznie stwierdzić, że założone przez mgr inż. Michała Plawgo cele zostały osiągnięte, a strona merytoryczna pracy jest poprawna. Tytuł rozprawy „**Optymalizacja ekologicznych metod ekstrakcji związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale* WDJ Koch w oparciu o analizę wielokryterialną z wykorzystaniem nawigacji na zbiorach Pareto**” odpowiada celowi pracy, w której zastosowano teorię podejmowania decyzji opartej na modelach matematycznych i optymalizacji wieloobektowej aby dobrać metodę i parametry procesu ekstrakcji wodnej konwencjonalnej i wspomaganej mikrofalami lub ultradźwiękami dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale*, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktoranta w zakresie inżynierii mechanicznej i uważam, że rozprawa doktorska spełnia wymagania określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2023 r. poz. 742, z późn. zm.) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych, dyscyplinie inżynieria mechaniczna. W związku z tym przedkładam wniosek do Rady Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Michała Plawgo do dalszego toku przewodu doktorskiego.

