

UNIwersytet PRZYRODniczy w LUBLINIE  
WYDZIAŁ INŻYNIERII PRODUKCJI  
Dyscyplina naukowa: Inżynieria Mechaniczna

Mgr inż. Michał Plawgo

*Rozprawa doktorska*

**OPTYMALIZACJA EKOLOGICZNYCH METOD EKSTRAKCJI ZWIĄZKÓW  
BIOLOGICZNIE CZYNNYCH Z *LEVISTICUM OFFICINALE* WDJ KOCH W  
OPARCIU O ANALIZĘ WIELOKRYTERIALNĄ Z WYKORZYSTANIEM  
NAWIGACJI NA ZBIORACH PARETO**

***OPTIMIZATION OF ECOLOGICAL METHODS OF EXTRACTION  
OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM *LEVISTICUM OFFICINALE*  
WDJ KOCH BASED ON MULTI-CRITERIA ANALYSIS USING NAVIGATION  
ON PARETO SETS***

Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze Eksploatacji Maszyn  
i Zarządzania Procesami Produkcyjnymi

Promotor: prof. dr hab. inż. Sławomir Kocira

Lublin 2024

### Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data 20.06.2024

Podpis promotora 

### Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadom/a odpowiedzialności prawnej oświadczam, że:

- niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana przez mnie samodzielnie pod kierunkiem Promotora/Promotorów/Promotora pomocniczego\* i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.
- przedstawiona rozprawa doktorska nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego.
- niniejsza wersja rozprawy doktorskiej jest tożsama z załączoną na płycie CD/pendrive wersją elektroniczną.

Data 20.06.2024

Podpis autora 

\* niepotrzebne skreślić

## PUBLIKACJE STANOWIĄCE ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

- P1. Plawgo, M., Kocira, S., & Bohata, A. (2024).** Multi-Objective Optimization of the Green Extraction Conditions of Bio-Active Compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: Pareto Optimality and Compromise Solutions for Process Management. *Agricultural Engineering*, 28(1), 137-165. DOI: 10.2478/agriceng-2024-0010 (**40 pkt. MNiSW**).
- P2. Plawgo, M., Kocira, S., & Bohata, A. (2024).** Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. *Processes*, 12(5), 1026. DOI: 10.3390/pr12051026 (**70 pkt. MNiSW, Impact Factor 3,5**).
- P3. Plawgo, M., Kocira, S., & Bohata, A. (2024).** Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. *Processes*, 12(2), 275. DOI: 10.3390/pr12020275 (**70 pkt. MNiSW, Impact Factor 3,5**).

Razem (IF= 7,0; 180 pkt MNiSW) – punktacja zgodnie z rokiem wydania artykułu

## Spis treści

Streszczenie .....	4
Summary .....	5
1. Wprowadzenie .....	6
2. Problem badawczy, hipotezy i cel naukowy .....	13
3. Materiał i metody badań .....	16
3.1. Materiał badawczy .....	16
3.2. Metody ekstrakcji .....	16
3.2.1. Konwencjonalna ekstrakcja wodna (HWE).....	16
3.2.2. Ekstrakcja wodna wspomagana mikrofalowo (MAE).....	17
3.2.3. Ekstrakcja wodna wspomagana ultradźwiękami (UAE) .....	17
3.3. Metody badań bioaktywnych związków w ekstraktach .....	17
3.3.1. Oznaczenie związków fenolowych w ekstraktach z <i>Levisticum officinale</i> .....	18
3.3.2. Oznaczenie flawonoidów w ekstraktach z <i>Levisticum officinale</i> .....	18
3.3.3. Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej DPPH ekstraktów z <i>Levisticum officinale</i> .....	18
3.3.4. Oznaczenie zawartości węglowodanów redukujących w ekstraktach z <i>Levisticum officinale</i> .....	18
3.4. Model matematyczny .....	19
3.5. Wielokryterialna optymalizacja .....	21
3.5.1. Redukcja zbiorów rozwiązań Pareto-optymalnych – wyznaczanie rozwiązań kompromisowych .....	24
3.5.2. Inteligentny (smart) filtr Pareto - Eksploracja frontu Pareto z wykorzystaniem ważenia kryteriów decyzyjnych i odległości punktu Utopii .....	25
3.5.3. Analiza statystyczna .....	26
4. Wyniki badań i dyskusja.....	27
4.1. Optymalizacja konwencjonalnej ekstrakcji wodnej w aspekcie maksymalizacji pozyskiwania związków czynnych z korzeni <i>Levisticum officinale</i> .....	27
4.2. Podsumowanie badań nad optymalizacją konwencjonalnej ekstrakcji wielokryterialnej .....	47
4.3. Efekty optymalizacji ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo dla maksymalizacji pozyskiwania biozwiązków z korzeni <i>Levisticum officinale</i> .....	48
4.4. Podsumowanie badań nad optymalizacją wielokryterialną ekstrakcji wodnej, wspomaganej mikrofalowo .....	67
4.5. Wyniki optymalizacji wielokryterialnej ekstrakcji wodnej, wspomaganej ultradźwiękami w odniesieniu do maksymalizacji pozyskiwania czynnych fitozwiązków z korzeni <i>Levisticum officinale</i> .....	68
4.6. Podsumowanie wyników badań optymalizacji wielokryterialnej ekstrakcji wodnej, wspomaganej ultradźwiękami .....	85
5. Wnioski .....	87
6. Bibliografia .....	90
Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu publikacji.....	102
Oświadczenia doktoranta oraz współautorów dotyczących ich wkładu w przygotowanie opublikowanych prac naukowych .....	182

## Streszczenie

Ekstrakcja wodna biomasy roślinnej jest skomplikowanym procesem, na który wpływa wiele czynników. W pracy analizowano ekstrakcję opartą na ekologicznych procedurach, dla zmaksymalizowania wydajności pozyskiwania całkowitej zawartości fenoli, flawonoidów, cukrów oraz potencjału przeciwutleniającego z korzeni *Levisticum officinale*, przy wykorzystaniu wody jako rozpuszczalnika przyjaznego dla środowiska.

Celem niniejszej rozprawy był dobór metody i parametrów procesu ekstrakcji wodnej konwencjonalnej i wspomaganej mikrofalami lub ultradźwiękami dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale*, z zastosowaniem teorii podejmowania decyzji opartej na modelach matematycznych i optymalizacji wieloobietkowej. W badaniach wykorzystano zmielony korzeń *Levisticum officinale*, który poddano ekstrakcji wodnej konwencjonalnej, ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalami i ekstrakcji wodnej wspomaganej ultradźwiękami. Zakres pracy obejmował określenie metod i technik wspomaganie procesów ekstrakcji wodnej biomasy korzeni *Levisticum officinale*; Przeprowadzenia procesów ekstrakcji oraz badań nad związkami biologicznie aktywnymi w ekstraktach; Stworzenie i przetestowanie modeli matematycznych, które posłużyły w procedurze optymalizacyjnej. Parametrami do optymalizacji w każdej z analizowanych metod i technik (konwencjonalna, wspomagana mikrofalowo, wspomagana ultradźwiękami) były czas ekstrakcji, moc mikrofal lub ultradźwięków oraz stosunek biomasy roślinnej do rozpuszczalnika, podczas gdy kryteria oceny opierały się na całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów, cukrów redukujących i zdolności przeciwutleniającej (określonej przez DPPH) ekstraktów.

Przeprowadzone badania i optymalizacja procesu ekstrakcji związków biologicznie czynnych z korzenia *Levisticum officinale* wykazały, że wielokryterialna optymalizacja z wykorzystaniem nawigacji na zbiorach Pareto ekstrakcji wodnej jest użyteczną techniką dla określenia optymalnych warunków procesu w celu uzyskania ekstraktów z korzeni *Levisticum officinale*, charakteryzujących się maksymalnym poziomem związków biologicznie czynnych a przyjęte procedury modelowania wpływu poszczególnych czynników procesów na analizowane kryteria są poprawne, a stworzone modele w bardzo dobrym stopniu odzwierciedlają proces. Wykazano też, że ekstrakcja wodna, wspomagana mikrofalowo, jest odpowiednią metodą do ekologicznego pozyskiwania fitozwiązków z biomasy lubczyku.

Słowa kluczowe: ekstrakcja, optymalizacja, Pareto, wielokryterialna, wodna.

## Summary

Water extraction of plant biomass is a complicated process influenced by many factors. The study analyzed extraction based on ecological procedures to maximize the efficiency of obtaining the total content of phenols, flavonoids, sugars and antioxidant potential from the roots of *Levisticum officinale*, using water as an environmentally friendly solvent.

The goal of this dissertation was to select the method and parameters of the conventional and microwave- or ultrasound-assisted water extraction process to maximize the content of biologically active compounds from *Levisticum officinale*, using the decision-making theory based on mathematical models and multi-objective optimization. The research used the ground root of *Levisticum officinale*, which was subjected to conventional water extraction, microwave-assisted water extraction and ultrasonic-assisted water extraction. The scope of the work included determining methods and techniques supporting the extraction of aqueous biomass of *Levisticum officinale* roots; Carrying out extraction processes and research on biologically active compounds in extracts; Creation and testing of mathematical models used in the optimization procedure. The parameters to be optimized in each of the analyzed methods and techniques (conventional, microwave-assisted, ultrasound-assisted) were extraction time, microwave or ultrasound power and the ratio of plant biomass to solvent, while the evaluation criteria were based on the total content of phenolic compounds, flavonoids, reducing sugars. And antioxidant capacity (determined by DPPH) of the extracts.

The conducted research and optimization of the process of extraction of biologically active compounds from the roots of *Levisticum officinale* have shown that multi-criteria optimization using navigation on Pareto sets of water extraction is a useful technique for determining the optimal process conditions to obtain extracts from the roots of *Levisticum officinale*, characterized by the maximum level of biologically active compounds and the adopted procedures for modeling the impact of individual process factors on the analyzed criteria are correct, and the created models reflect the process to a very good extent. It has also been shown that microwave-assisted water extraction is an appropriate method for ecologically obtaining phytochemicals from *Levisticum officinale* biomass.

Keywords: extraction, optimization, Pareto, multi-criteria, water.

# 1. Wprowadzenie

Wielowiekowa tradycja wykorzystywania roślin aromatycznych w medycynie ludowej, wpisała się w aktualne poszukiwania nowych produktów rolniczych, żywnościowych, farmaceutycznych, czy też kosmetycznych. Dotychczasowe badania dowiodły, że rośliny należące do rodziny Apiaceae są bogatym źródłem związków fitochemicznych i metabolitów wtórnych, o możliwym potencjale prozdrowotnym i agrochemicznym (Aćimović i in. 2015; Tunçtürk i Özgökçe, 2015; Spréa i in., 2020).

Roślina *Levisticum officinale* W.D.J. Koch czyli lubczyk lekarski jest członkiem rodziny Apiaceae. Jest ona bogatym źródłem wielu klas metabolitów wtórnych o szerokim spektrum działań farmakologicznych i terapeutycznych (Lin i in., 2005; Beck i Chou, 2007; Pannek i in., 2018; Miran i in., 2020). Wiele związków aktywnych, takich jak związki fenolowe czy flawonoidy z roślin ma szereg korzystnych dla zdrowia właściwości. Jednak ich potencjał nie ogranicza się jedynie do zastosowań farmakologicznych (Song i in., 2011). Badania dowodzą bowiem, że zawarte w ekstraktach roślinnych związki czynne mogą mieć także potencjał biostymulacji roślin uprawnych (Szparaga i in., 2023). Obecnie liście *Levisticum officinale* są wykorzystywane przede wszystkim jako przyprawa, w związku z tym korzenie tej rośliny wydają się być niezauważone, przez co niezwykle często traktowane są jako produkt uboczny (Spréa i in., 2020). Jednakże aktywne fitozwiązki roślin zlokalizowane są głównie wewnątrz komórek, a do ich izolacji niezbędna jest skuteczna metoda ekstrakcji.

Ekstrakcja jest procesem pozyskiwania związków biologicznie czynnych z różnorodnych materiałów, w tym matryc roślinnych. Do ekstrakcji wykorzystywanych jest szereg różnych metod zgodnych z zasadami „zielonej chemii”, w tym maceracja, infuzja, ekstrakcja wspomaganą mikrofalami (MAE) (Li i Jiang, 2010), lub ultradźwiękami (UAE) (Lee i in., 2013), nadkrytyczny dwutlenek węgla (Chang i in., 2000), ekstrakcja Soxhleta i ekstrakcja ultrawysokim ciśnieniem (Jun i in., 2011), ekstrakcja wspomaganą enzymami (EAE) i promieniowanie podczerwone (IR) (Barba i in., 2016). Parametry procesowe, w tym rodzaj rozpuszczalnika, temperatura, czas, stosunek materiału do rozpuszczalnika determinują efektywność procesu ekstrakcji. Obserwowany obecnie rozwój technik ekstrakcyjnych związany jest w głównej mierze z minimalizacją kosztów procesu przy jednoczesnej maksymalizacji wydajności pozyskiwania związków biologicznie aktywnych (m.in. maksymalny potencjał przeciwutleniający czy też potencjał przeciwdrobnoustrojowy bądź biostymulujący) (Banerjee i Chatterjee, 2015). Jednak w aspekcie rosnących

problemów środowiskowych, woda jest wskazywana jako bezpieczny rozpuszczalnik, który powinien być szeroko stosowany do produkcji ekstraktów roślinnych (Ayyildiz i in., 2018).

Biorąc pod uwagę fakt, że ekstrakcja wodna zyskuje na znaczeniu w ramach „zielonych technologii” i dla zwiększenia skuteczności ekstrahowania związków bioaktywnych z wskazana wydaje się optymalizacja parametrów procesu. Ekstrakcja fitozwiązków z korzeni lubczyku lekarskiego była badana, jednak badania w tym zakresie skoncentrowane były głównie na konwencjonalnej ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi lub też wydajności pozyskiwania olejków. Obecnie trwają badania nad zaawansowanymi techniki ekstrakcji dla intensyfikacji pozyskiwania związków fenolowych z materiałów zielarskich, które obejmują m.in. ekstrakcję pod ciśnieniem (PLE) (Luthria, 2008), wspomaganą mikrofalami (MAE) (Spigno & De Faveri, 2009) i ultradźwiękami (Jerman, Trebše, & Mozetic, Vodopivec, 2010), czy też ekstrakcja płynem nadkrytycznym (Camel, 2000). Jednak podkreślić należy fakt, że aby technika ekstrakcji mogła być określoną mianem "zielonej" i przyjaznej dla środowiska, a także taniej, sugerowanym rozpuszczalnikiem, najczęściej wymienianym w literaturze tematu, jest woda. Problemem jest jednak wydajność procesu, nad którą trwają prace, w aspekcie optymalizacji samych warunków lub technik wspomaganie ekstrakcji.

Aktualnie wśród technologii ekstrakcyjnych na szczególną uwagę zasługuje ekstrakcja wspomaganą mikrofalami (MAE) (Pérez-Serradilla i De Castro, 2011). Do głównych jej zalet, w stosunku do metod konwencjonalnych, należą przede wszystkim zwiększona szybkość procesu, a także poprawa wydajności pozyskiwania związków bioaktywnych przy jednocześnie obniżonych kosztach (Gallo i in., 2010; Dahmoune i in., 2015). Badania Vinatoru i in. (2017) wskazują nawet, że ekstrakcja matrycy roślinnej, wspomaganą mikrofalami jest korzystną techniką, dlatego że związana jest z jednorodnym wewnętrznym ogrzewaniem całej objętości materiału, co w efekcie prowadzi do zwiększenia ciśnienia wewnątrz komórek roślinnych, powodującego ich rozerwanie i efektywne uwalnianie pożądaných aktywnych biologicznie związków. Jednak dla wydajności ekstrakcji i stabilności pozyskiwanych związków parametry procesu powinny być dobierane indywidualnie dla każdej matrycy roślinnej.

Dodatkowo wśród metod ekstrakcyjnych technologia wspomaganą ultradźwiękami (UAE) znajduje aktualnie zastosowanie do ekstrakcji związków bioaktywnych z różnych matryc roślinnych (Rocha i in., 2018). UAE umożliwia dodatkowo efektywne i nieskomplikowane przeniesienie zaprojektowanej metody z laboratorium na skalę przemysłową (Irakli i in., 2018). Jednak efektywność ekstrakcji związków w tej metodzie

determinowana jest szeregiem parametrów procesowych w tym m.in. temperaturą, czasem, mocą i częstotliwością ultradźwięków (Chanioti i Tzia, 2017; Irakli i in., 2018; Kumar i in., 2021; Ivanović i in., 2021). Badania He i in. (2016) oraz Rocha i in. (2018) wskazują nawet, że w porównaniu z konwencjonalną ekstrakcją, zastosowanie ultradźwięków prowadzi do poprawy wydajności ekstrakcji bioaktywnych związków, w tym związków fenolowych i antocyjanów.

Biorąc pod uwagę fakt, że związki fenolowe mają szeroki zakres działań biologicznych i zastosowań (również agrochemicznych, farmakologicznych czy spożywczych), opracowanie i prototypowanie skutecznych metod ich ekstrakcji ze źródeł naturalnych ma aktualnie nieocenione znaczenie. Jednak w zależności od potencjalnych zastosowań ekstraktów, nadal odpowiednie zaprojektowanie procesu stanowi wyzwanie, pomimo wysiłków podejmowanych w tym kierunku przez wielu badaczy (Ferreira i in., 2017; Piccolella i in., 2019).

Należy także podkreślić, że pomimo faktu, iż każda z technik ekstrakcyjnych wyróżnia się określonymi zaletami i ograniczeniami, to każdą z nich należy optymalizować indywidualnie w odniesieniu do materiału roślinnego i fitozwiązków, będących przedmiotem zainteresowania (maksymalizacji ekstrakcji) (Šeremet i in., 2021).

Badania nad wytwarzaniem ekstraktów roślinnych o potencjale przeciwutleniającym, przy wykorzystaniu zróżnicowanych metod ekstrakcji, są aktualnym trendem badawczym, w aspekcie ich wykorzystania w produkcji żywności i zrównoważonego rolnictwa. Szczególna uwaga jest aktualnie skupiona na optymalizacji procesów produkcji pod kątem parametrów ekstrakcji dla maksymalizacji poziomu przeciwutleniających związków (Lee i in., 2013; Radojković i in., 2012; Vuong i in., 2011; ) Algan Cavuldak i in., 2019). Związki przeciwutleniające (w tym polifenole i flawonoidy) należą do grupy szeroko rozpowszechnionej w królestwie roślin. Potencjał bioaktywnych związków wykorzystywany jest medycynie, i to nie tylko w skutecznym leczeniu wielu chorób przewlekłych (Özcan i in., 2018), ale również w prewencji przed uszkodzeniami wywołanymi stresem oksydacyjnym i chorobami cywilizacyjnymi (Mahdi i in., 2022), a także w agronomii, ze względu na fakt, że są one zaangażowane w stymulację wzrostu roślin, a także w reakcje roślin na stresy środowiskowe (Chalker-Scott i Fuchigami, 2018). Ich antyoksydacyjny potencjał jest również obiecującą właściwością dla zwiększenia tolerancji roślin uprawnych na zmieniające się warunki klimatyczne, w aspekcie nie tylko działania fitoprotekcyjnego, ale również biostymulującego (Parvin i in., 2022).

W związku z powyższym naukowe podstawy zrozumienia skutecznych metod ekstrakcji i optymalizacji aktywności przeciwutleniającej są istotne dla wykorzystania naturalnych ekstraktów roślinnych nie tylko w przemyśle spożywczym czy farmaceutycznym, ale również w systemach rolno-przemysłowych na dużą skalę (Maleo i in. 2015). Obecnie obserwuje się rosnący trend w badaniach nad naturalnymi związkami przeciwutleniającymi, które mogłyby zastąpić syntetyczne produkty, w tym dodatki do żywności i agrochemikalia, powszechnie stosowane w produkcji żywności i rolnictwie (Kaur, i in., 2006). Ekstrakty z materiałów roślinnych, bogate w związki fenolowe, stają się coraz bardziej interesujące w rolnictwie ekologicznym, ponieważ mogą wykazywać potencjał biostymulujący, przeciwgrzybowy i bioprotekcyjny (Shukla i in., 2009). W poszukiwaniach biomateriałów roślinnych dla różnych zastosowań zwraca się uwagę na konwencjonalne metody, oparte na ekstrakcji ciała stałe-ciecz przy użyciu wody, ze względu na ekologiczny aspekt tego procesu. Takie podejście eliminuje bowiem niepożądany wpływ na środowisko oraz ludzi i rośliny uprawne (Gil-Ramírez i in., 2012; Niazmand et al. 2021, Ahmadian-Kouchaksaraie i in., 2016). Jednak dla optymalizacji bioekstrakcji wodnej należy wziąć pod uwagę główne parametry, takie jak temperatura procesu, stosunek ciała stałego do cieczy i czas trwania ekstrakcji, które będą determinowały potencjał i wykorzystanie wytworzonych ekstraktów (Murugesu i in., 2018). Dlatego też biorąc pod uwagę negatywny wpływ procesów chemicznych oraz obecne dążenia i przepisy prawne (w tym cele i zasady zielonej chemii oraz Europejskiego Zielonego Ładu) trwają poszukiwania zrównoważonych i przyjaznych dla środowiska rozwiązań, w tym optymalizacji procesów produkcji dla zwiększenia wydajności ekstrakcji z eliminowaniem natychmiastowego i długoterminowego wpływu na środowisko (Martiny i in., 2021).

Jak wspomniano wcześniej, korzystne właściwości farmakologiczne roślin aromatycznych czy zielarskich są ogólnie związane z obecnością różnorodnych wtórnych metabolitów roślinnych o odmiennej strukturze (Shahidi i Ambigaipalan, 2015). Z punktu widzenia fizjologii roślin uprawnych, związki polifenolowe o silnej zdolności przeciwutleniającej mogą być wykorzystane w biostymulacji upraw. Związki fenolowe wpływają bowiem na wzrost i rozwój roślin, poprzez stymulację kiełkowania nasion, zwiększoną akumulację biomasy i poprawę metabolizmu roślin (Popa i Belaca, 1994; Balas i Popa, 2008). Ekstrakty o wysokiej zawartości polifenoli charakteryzują się odmiennym składem w zależności od źródła ich pozyskiwania, warunków i technik ekstrakcji oraz rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. W związku z tym aspekty te muszą być badane w celu przyszłych zastosowań agronomicznych Tanase i in., 2019). Wskazywane w literaturze

tematu korzyści, płynące ze stosowania fitozwiązków i dążenie do zastąpienia syntetycznych nawozów i środków ochrony roślin uprawnych naturalnymi, doprowadziły do intensyfikacji wysiłków badawczych na rzecz odkrycia i wykorzystania bioaktywnych związków pochodzących z naturalnych źródeł, takich jak rośliny aromatyczne do biostymulacji upraw (González-Vallinas i in. 2013; Zhang i in., 2009; Tanase i in., 2019). Ze względu na fakt rosnącej świadomości negatywnego wpływu agrochemikaliów i trwającą transformacją w kierunku „zielonego rolnictwa”, stosowanie naturalnych biostymulatorów staje się globalnie coraz bardziej popularne (Sharma i in., 2014). Badania wskazują, że biostymulatory naturalne pozytywnie wpływają na ogólną produktywność roślin i jakość ich plonu, jak również ograniczają wpływ czynników biotycznych i abiotycznych, wywołujących stres u roślin (Craigie, 2011; Sharma et al. 2014).

Zdaniem Batinić i in. (2022) niezwykle trudnym zadaniem jest opracowanie jednego, ogólnego i wydajnego protokołu ekstrakcji związków czynnych, w tym związków fenolowych, z różnych materiałów roślinnych. W związku z tym proces ekstrakcji powinien być zoptymalizowany dla każdej matrycy roślinnej (Batinić i in., 2022). Wykorzystuje się zatem narzędzia matematyczno- statystyczne, które umożliwiają nie tylko analizę wpływu zmiennych procesowych, ale również optymalizację warunków eksperymentalnych procesu (Ryu & Koh, 2019).

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 (Rodrigues i in., 2008).

Coraz częściej wskazuje się na optymalizację wielokryterialną, jako narzędzie wspomagające zarządzaniem procesem ekstrakcji. Istotą optymalizacji wielokryterialnej jest zoptymalizowanie kilka celów/kryteriów jednocześnie. Jest to niezwykle trudne zadanie, szczególnie w przypadku, gdy np. funkcje celu są odmienne. W związku z tym problemy te prowadzą do wygenerowania optymalnych rozwiązań znanych jako rozwiązanie optymalne w sensie Pareto (Monsef i in., 2019). Wykazano, że takie podejście może mieć już praktyczne zastosowanie w wielokryterialnych badaniach optymalizacyjnych z zakresu inżynierii chemicznej czy też technologii żywności (Rangaiah i in., 2015). W metodach optymalizacji wielokryterialnej pojawiają się dwa cele: zbieżność do zbioru optymalnego w sensie Pareto oraz ochrona różnorodności rozwiązań zbioru optymalnego w sensie Pareto (Vural i in. 2021).

Same procedury projektowania optymalizacji wieloobiektowej/wielokryterialnej wykorzystywane są do generowania tzw. holistycznych strategii, określanych w skrócie jako „pierwszy wybór później” dla problemów wielocelowych (Messac i Mattson, 2002). Problem wielocelowy ma miejsce wtedy, gdy projektant powinien spełnić wiele celów i wymagań. Często zdarza się także, że cele te są ze sobą sprzeczne. W związku z tym istnieje konieczność obliczeń i wyboru kompromisowych rozwiązań, przeznaczonych do wdrożenia praktycznego (także w skali przemysłowej). Strategia taka opiera się na etapowości tj. w pierwszym etapie generowany jest zestaw potencjalnie preferowanych alternatyw projektowych, a w drugim etapie decydent (bądź projektant), dysponujący wiedzą o procesie i potencjalnych zastosowaniach produktu, wskazuje poprzez wybór, najkorzystniejsze rozwiązanie/rozwiązania zgodnie preferencjami (Miettinen, 1999). Sama procedura polega na trzech głównych fazach (Coello Coello i in., 2007;012; Reynoso-Meza i in., 2016) tj. zdefiniowania optymalizacji wielokryterialnej (miar, problemy, cele, kryteria, ograniczenia); wielokryterialny proces optymalizacji (stworzenie algorytmów, wyszukiwanie rozwiązań); oraz ostatnia faza podejmowania decyzji. Podejmowanie decyzji jest procesem skomplikowanym i wymagającym nie tylko wiedzy, ale również doświadczenia. Ogólnie podejmowanie decyzji jest oparte na pewnym rodzaju preferencji, wynikających z wiedzy o procesie. Takie preferencje w procedurze podejmowania decyzji w procesie optymalizacji sklasyfikowane są na trzy grupy: sposób aprioryczny, progresywny lub a posteriori (Munro i Aouni , 2012). W metodzie a priori zakłada się, że projektant ma częściową wiedzę na temat swoich preferencji w przestrzeni celów optymalizacyjnych, w związku z tym możliwe jest zastosowanie algorytmu pozwalającego na uwzględnienie takich preferencji w procedurze optymalizacji. W metodzie progresywnej algorytm optymalizacji i projektant działają wspólnie w procesie optymalizacji, dzięki czemu możliwe jest bieżące dostosowywanie lub zmienianie preferencji. Ma to szczególne znaczenie w sytuacji, gdy projektant ma określoną wiedzę na temat obiektywnych kompromisów w złożonych problemach. W ostatniej z metod a posteriori projektant analizuje obliczony przez algorytm front Pareto i na podstawie zbioru rozwiązań definiuje preferencje, aby wybrać rozwiązanie preferowane (Reynoso-Meza i in., 2014; Haddock i in., 2008).

Podsumowując aktualny stan wiedzy, należy podkreślić, że najważniejszym aspektem jest interdyscyplinarność badań. Dopiero takie podejście umożliwi efektywne korzystanie z surowców i odpadów, z poszanowaniem zasad ochrony środowiska i dążenia do zwiększenia wydajności produkcji bioaktywnych związków o różnorodnym potencjale. Zatem operacje zielonej ekstrakcji należy powiązać ze skutecznymi metodami optymalizacyjnymi w celu

określenia efektywności technik ekstrakcji, takimi jak wieloobiektowa/wielocelowa optymalizacja, analiza wielokryterialna decyzji (Bystrzanowska i Tobiszewski, 2019). Wielokryterialna procedura optymalizacyjna zyskuje aktualnie coraz większe znaczenie w projektowaniu procesów, w których modelowanie, optymalizację wyników i ich przeskalowanie na produkcję przemysłową, przeprowadza się dla kilku zmiennych z wieloma odpowiedziami jednocześnie.

## 2. Problem badawczy, hipotezy i cel naukowy

Na podstawie przeprowadzonej analizy stanu wiedzy z zakresu optymalizacji ekstrakcji związków biologicznie czynnych podjęto się rozwiązania następujących problemów badawczych:

- Przy jakiej metodzie i jakich parametrach procesu ekstrakcji wodnej możliwe jest wytworzenie ekstraktów z *Levisticum officinale* o najwyższej zawartości związków biologicznie czynnych?
- Czy bazowanie na modelach matematycznych i optymalizacji wielokryterialnej będzie narzędziem wspierającym podejmowanie decyzji o parametrach procesów ekstrakcji?

Na podstawie sformułowanych problemów badawczych, określono cel pracy, jakim był dobór metody i parametrów procesu ekstrakcji wodnej konwencjonalnej i wspomaganiej mikrofalami lub ultradźwiękami dla maksymalizacji zawartości związków biologicznie czynnych z *Levisticum officinale*, z zastosowaniem teorii podejmowania decyzji opartej na modelach matematycznych i optymalizacji wieloobiektowej.

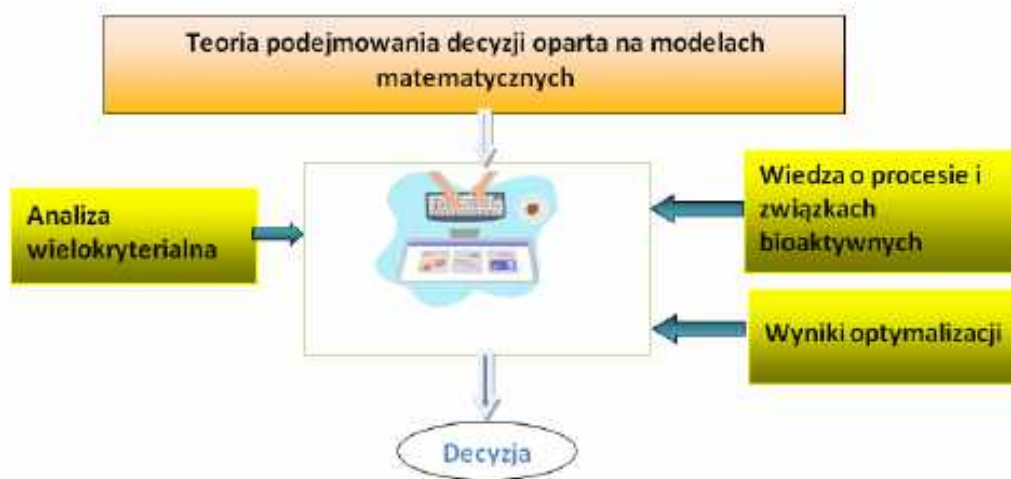
Postawiono następujące hipotezy badawcze:

- 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.

Osiągnięcie celu pracy wymagało przeprowadzenia następujących 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*.



Rysunek 1. Idea pracy oraz jej celu

Zakres pracy obejmował:

- W pierwszym etapie realizacja celu nastąpiła poprzez określenie metod i technik wspomaganie procesów ekstrakcji wodnej biomasy korzeni *Levisticum officinale*. Przeprowadzenia procesów ekstrakcji oraz badań nad związkami biologicznie aktywnymi w ekstraktach.
- W drugim etapie stworzone i przetestowane zostały modele matematyczne, który posłużyły w procedurze optymalizacyjnej. Parametrami do optymalizacji w każdej z analizowanych metod i technik (konwencjonalna, wspomagana ultradźwiękami, wspomagana mikrofalowo) były czas ekstrakcji, moc mikrofal i ultradźwięków oraz stosunek biomasy roślinnej do rozpuszczalnika, podczas gdy kryteria oceny opierały się na całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów, cukrów redukujących i zdolności przeciwutleniającej (określonej przez DPPH) ekstraktów.

- Docelowo, bazując na wielokryterialnej analizie, z wykorzystaniem nawigacji na zbiorach Pareto, utworzone zostało narzędzie wspomagające proces decyzyjny, wyboru optymalnych parametrów ekstrakcji, dla uzyskania maksymalnej wydajności potencjału przeciwutleniającego ekstraktów.

### 3. Materiał i metody badań

#### 3.1. Materiał badawczy

Do badań został wykorzystany suszony korzeń *Levisticum officinale*, pochodzący z ekologicznych upraw (Runo Polska, PL-EKO 07 EU). Materiał został zmielony na proszek (rys. 2) do frakcji 500  $\mu\text{m}$  i przechowywano go w temperaturze 4°C w hermetycznych opakowaniach do czasu dalszego użycia.



Rysunek 2. Materiał badawczy – korzenie *Levisticum officinale*

#### 3.2. Metody ekstrakcji

W badaniach analizowano trzy procesy ekstrakcji:

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

##### 3.2.1. Konwencjonalna ekstrakcja wodna (HWE)

Ekstrakcję z wykorzystaniem biomasy korzeni lubczyku prowadzono za pomocą 100 ml wody (przy pH 7.0) jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, w łaźni wodnej z wytrząsaniem Elpin + typ 357. W przypadku HWE niezależnymi zmiennymi były: czas ekstrakcji (20, 30 i 40 min); temperatura (75, 85 i 95°C); oraz stosunek biomasa roślinna/woda (w/v) (0,025 g/ml, 0,050 g/ml i 0,075 g/ml). Wszystkie ekstrakcje przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Po ekstrakcjach następowało wirowanie (9500 obr./min, 20 min) i filtracja (lejek Büchnera, bibuła filtracyjna Whatman® nr 1). Zebrany supernatant przechowywano w temperaturze 4°C w szczelnych szklanych, ciemnych butelkach do czasu dalszego użycia.

### **3.2.2. Ekstrakcja wodna wspomagana mikrofalowo (MAE)**

Ekstrakcję z wykorzystaniem biomasy korzeni lubczyku prowadzono za pomocą 100 ml wody (pH 7,0) jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. Ekstrahowano przy użyciu laboratoryjnej kuchenki mikrofalowej (JT358, Whirlpool). W przypadku MAE niezależnymi zmiennymi były: czas ekstrakcji (30, 60 i 90 s); moc mikrofal (550, 650 i 750 W); oraz stosunek biomasa roślinna/woda (w/v) (0,025 g/ml, 0,050 g/ml i 0,075 g/ml). Każdy proces został przeprowadzony w trzech powtórzeniach. Po obróbce MAE ekstrakt został zwirowany (9500 obr/min, 20 min) i przefiltrowany przez lejek Büchnera wyłożony bibułą filtracyjną Whatman® nr 1, a supernatant zebrano do ciemnych szklanych butelek i przechowywano w temperaturze 4°C do czasu dalszego użycia i analiz.

### **3.2.3. Ekstrakcja wodna wspomagana ultradźwiękami (UAE)**

Do ekstrakcji wykorzystano system ultradźwiękowy o częstotliwości roboczej 20 kHz (SONICS Vibracell, VCX 130 PB). Biomasa korzeni lubczyku została zmieszana z ultra czystą wodą dejonizowaną (amplituda robocza 150 mm). Parametrami ekstrakcji UAE był czas ekstrakcji (3, 6 oraz 9 min), stosunek próbka/roztwór (w/v) (0,025 g/ml, 0,050 g/ml i 0,075 g/ml) i moc ultradźwięków (60, 120 oraz 240 W).

Wszystkie ekstrakcje przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Po ekstrakcjach następowało wirowanie (9500 obr./min, 20 min) i filtracja (lejek Büchnera, bibuła filtracyjna Whatman® nr 1). Zebrano supernatant, który przechowywano w temperaturze 4°C w szczelnych szklanych, ciemnych butelkach do czasu dalszego użycia i analiz.

## **3.3. Metody badań bioaktywnych związków w ekstraktach**

Przeprowadzono następujące analizy składu ekstraktów:

- Kwantyfikacja ilościowa związków fenolowych (TPC) zmodyfikowaną metodą zaproponowaną przez Ribeiro i in. (2008);
- Całkowita zawartość flawonoidów (TFC) w ekstraktach metodą zaproponowaną przez Iqbal i in. (2012);
- Aktywność przeciwutleniająca DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) na podstawie metody Lee i in. (2013);
- Zawartość cukrów redukujących (RSC) metodą z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym (DN.SA) zgodnie z procedurą Krivorotova i Sereikaite (2014).

### **3.3.1. Oznaczenie związków fenolowych w ekstraktach z *Levisticum officinale***

W wytworzonych trzema sposobami ekstraktach z *Levisticum officinale* określono całkowitą zawartość związków fenolowych (TPC) bazując na metodzie Ribeiro i in. (2008) przy użyciu odczynnika Folin-Ciocalteu (FC). Metoda polegała na dodaniu do 0,1 ml próbki, 0,9 ml wody oraz odczynnika FC. Po 5 minutach do mieszaniny dodawano 1 ml nasyconego roztworu wodnego CaCO<sub>3</sub>. Po upływie 30 minut mierzono absorbancje próbek na spektrofotometrze UV-Vis (VWR, UV-3100PC) przy długości fali 765 nm.

Ilościową ocenę poziomu TPC w ekstraktach wyrażono jako ekwiwalent mg kwasu galusowego/g ekstraktu, bazując na wykonanej krzywej wzorcowej.

### **3.3.2. Oznaczenie flawonoidów w ekstraktach z *Levisticum officinale***

Całkowitą zawartość flawonoidów (TFC) w ekstraktach określono metodą zaproponowaną przez Iqbal et al. (2012). W procedurze analitycznej do 1 ml ekstraktu dodawano 0,3 ml NaNO<sub>2</sub> (5% roztwór), a następnie 0,5 ml AlCl<sub>3</sub> (2% roztwór). Po wymieszaniu dodawano 0,5 ml NaOH (1 M roztwór). Następnie mierzono absorbancje próbek na spektrofotometrze UV-Vis (VWR, UV-3100PC) przy długości fali 510 nm.

Zawartość TFC w próbkach obliczono jako równoważnik katechiny (μmol/l) z wykonanej standardowej krzywej wzorcowej katechiny.

### **3.3.3. Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej DPPH ekstraktów z *Levisticum officinale***

Pomiar całkowitego potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów metodą redukcji rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) wykonano zgodnie z procedurą Lee i in. (2013). Do 100 μl próbek ekstraktów dodawano 2,4 ml 0,9 mM roztwór DPPH w metanolu. Następnie oceniono kinetykę neutralizacji rodnika na spektrofotometrze UV-Vis (VWR, UV-3100PC) przy długości fali 518 nm przez 30 minut.

Aktywność przeciwutleniająca (hamowanie rodnika DPPH przez próbkę) była wyrażona jako procent spadku DPPH zgodnie ze wzorem:

$$\text{Aktywność przeciwutleniająca (\%)} = [(Ab_{\text{kontrola}} - Ab_{\text{próbka}}) / Ab_{\text{kontrola}}] \times 100 \quad (1).$$

### **3.3.4. Oznaczenie zawartości węglowodanów redukujących w ekstraktach z *Levisticum officinale***

Zawartość cukrów redukujących (RSC) oznaczono metodą z kwasem 3,5-dinitrosalicylowym (DNSA). Pomiar przeprowadzono zgodnie z procedurą Krivorotova

i Sereikaite (2014). Metoda polegała na dodaniu do 50 µl ekstraktu 1,95 ml DNSA. Następnie próbki inkubowano przez 10 minut w temperaturze 99°C. Po ochłodzeniu pobierano do kuwet spektrofotometrycznych 100 µl mieszaniny i dodawano 900 µl DNSA. Następnie oceniono absorbancje na spektrofotometrze UV-Vis (VWR, UV-3100PC) przy długości fali 540 nm.

Ilość cukrów redukujących w ekstraktach obliczono przy użyciu krzywej wzorcowej dla D- glukozy, a wyniki wyrażono jako g ekwiwalentu D-glukozy (GE) na l ekstraktu.

### 3.4. Model matematyczny

Strategia poprawy wydajności ekstrakcji, w aspekcie zwiększenia poziomu związków bioaktywnych, polegała na wykorzystaniu modeli matematycznych i narzędzi optymalizacyjnych z wykorzystaniem komputerowych pakietów obliczeniowo-symulacyjnych (Matlab R2021a).

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) ( $x_1$ ), czas ekstrakcji (min) ( $x_2$ ) oraz temperatura ekstrakcji (°C) ( $x_3$ ).

W procesie ekstrakcji wspomaganiej mikrofalowo analizowanymi parametrami procesu/zmiennymi decyzyjnymi były stosunek biomasy roślinnej do wody (g/ml) ( $x_1$ ), moc mikrofal (W) ( $x_2$ ) i czas ekstrakcji (s) ( $x_3$ ).

W procesie ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami analizowanymi parametrami procesu/zmiennymi decyzyjnymi były stosunek biomasy roślinnej do wody (g/ml) ( $x_1$ ), moc ultradźwięków (W) ( $x_2$ ) i czas ekstrakcji (min) ( $x_3$ ).

Zależności wybranych kryteriów decyzyjnych od zmiennych decyzyjnych opisywano z wykorzystaniem wielomianów wielu zmiennych, zdefiniowanych w postaci:

$$y_{reg}(x_1, x_2, x_3) = a_0 + a_1 * x_1 + a_2 * x_2 + a_3 * x_3 + a_4 * x_1 * x_2 + a_5 * x_1 * x_3 + a_6 * x_2 * x_3 + a_7 * x_1^2 + a_8 * x_2^2 + a_9 * x_3^2 \quad (2)$$

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

$R^2$  jako statystyka mierzy skuteczność dopasowania w wyjaśnianiu zmienności danych. Matematycznie jest to kwadrat korelacji między wartościami odpowiedzi a przewidywanymi wartościami odpowiedzi.  $R^2$  jest także kwadratem współczynnika korelacji wielokrotnej i współczynnika determinacji wielokrotnej. W notacji definiowany jest jako stosunek sumy kwadratów regresji (SSR) i całkowitej sumy kwadratów (SST). SSR definiuje się jako

$$SSR = \sum_{i=1}^n w_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 \quad (3)$$

SST jest również nazywany sumą kwadratów wokół średniej i jest zdefiniowany jako:

$$SST = \sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 \quad (4)$$

gdzie:

$SST = SSR + SSE$ . Biorąc pod uwagę te definicje, R-kwadrat jest wyrażony jako

$$R - \text{kwadrat} = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SST} \quad (5)$$

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n w_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2} \quad (6)$$

$$Adj R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2 (n-1)}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 (v)} \quad (7)$$

Skorygowany  $R^2$  jest ogólnie najlepszym wskaźnikiem jakości dopasowania po dodaniu dodatkowych współczynników do modelu.

$$Adj R^2 = 1 - \frac{SSE(n-1)}{SST(v)} \quad (8)$$

$$Adj R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2 (n-1)}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 (v)} \quad (9)$$

gdzie:

$v$  – stopnie swobody

SSE– suma błędów podniesionych do kwadratu (reszt)

SST- sumą kwadratów wokół średniej

$$SSE = \sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (10)$$

SSE to statystyka mierząca całkowite odchylenie wartości odpowiedzi od dopasowania do wartości odpowiedzi.

$$SST = \sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 \quad (11)$$

Skorygowana statystyka R-kwadrat może przyjąć dowolną wartość mniejszą lub równą 1, przy czym wartość bliższa 1 wskazuje na wyższy stopień (wyższą miarę) dopasowania.

Średni kwadratowy błąd przewidywania (MSE) mierzy średnie odchylenie kwadratowe między danymi eksperymentalnymi a wartościami, wynikającymi z przyjętego modelu:

$$MSE = \frac{SSE}{v} \quad (12)$$

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \widehat{y}_i)^2}{v} \quad (13)$$

### 3.5. Wielokryterialna optymalizacja

W rozważanym zadaniu optymalizacyjnym dla każdej z metod ekstrakcji, przyjęto czterowymiarową przestrzeń kryteriów  $K = [K_1, K_2, K_3, K_4] \in R^4$ , w której poszukiwano rozwiązań, dla których wszystkie kryteria przyjmą wartości ekstremalne. Celem optymalizacji było uzyskanie ekstraktów wodnych z *Levisticum officinale*, charakteryzujących się maksymalną wartością kryteriów  $K_1 - K_4$ .

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

- Kryterium  $K_1$  – TPC całkowita zawartość związków fenolowych (mg GAE/g);
- Kryterium  $K_2$  – TFC całkowita zawartość flawonoidów ( $\mu\text{mol CAT/l}$ );
- Kryterium  $K_3$  – TAA całkowity potencjał przeciwutleniający (DPPH-% inh);
- Kryterium  $K_4$  – RSC zawartość cukrów redukujących (g GE/l).

Kryteria obliczane były dla zdefiniowanego zbioru zmiennych decyzyjnych dla poszczególnych procesów ekstrakcji.

Matematyczna postać zbioru zmiennych decyzyjnych (dziedzina) zdefiniowana została wzorem:

$$D = X_1 \times X_2 \times X_3 \quad (14)$$

Ograniczenia nałożone na zmienne decyzyjne w procesie konwencjonalnej ekstrakcji wodnej:

$$x_1 \in X_1 = \langle 0,025 ; 0,075 \rangle [g/ml],$$

$$x_2 \in X_2 = \langle 20 ; 40 \rangle [min],$$

$$x_3 \in X_3 = \langle 75 ; 95 \rangle [^\circ C].$$

Ograniczenia nałożone na zmienne decyzyjne w procesie ekstrakcji wspomaganiej mikrofalowo:

$$x_1 \in X_1 = \langle 0,025 ; 0,075 \rangle [g/ml],$$

$$x_2 \in X_2 = \langle 550 ; 750 \rangle [W],$$

$$x_3 \in X_3 = \langle 30 ; 90 \rangle [s].$$

Ograniczenia nałożone na zmienne decyzyjne w procesie ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami:

$$x_1 \in X_1 = \langle 0,025 ; 0,075 \rangle [g/ml],$$

$$x_2 \in X_2 = \langle 60 ; 240 \rangle [W],$$

$$x_3 \in X_3 = \langle 3 ; 9 \rangle [min].$$

Wartości wszystkich kryteriów decyzyjnych dla ustalonego zbioru zmiennych decyzyjnych  $D$  zostały ustalone na podstawie wielowymiarowej aproksymacji wyników eksperymentalnych.

Zadanie optymalizacji wielokryterialnej polegało na określeniu zbioru rozwiązań w zbiorze  $D$  dla kryteriów decyzyjnych spełniających warunki:

$$K_1 \rightarrow max, K_2 \rightarrow max, K_3 \rightarrow max, K_4 \rightarrow max \quad (15)$$

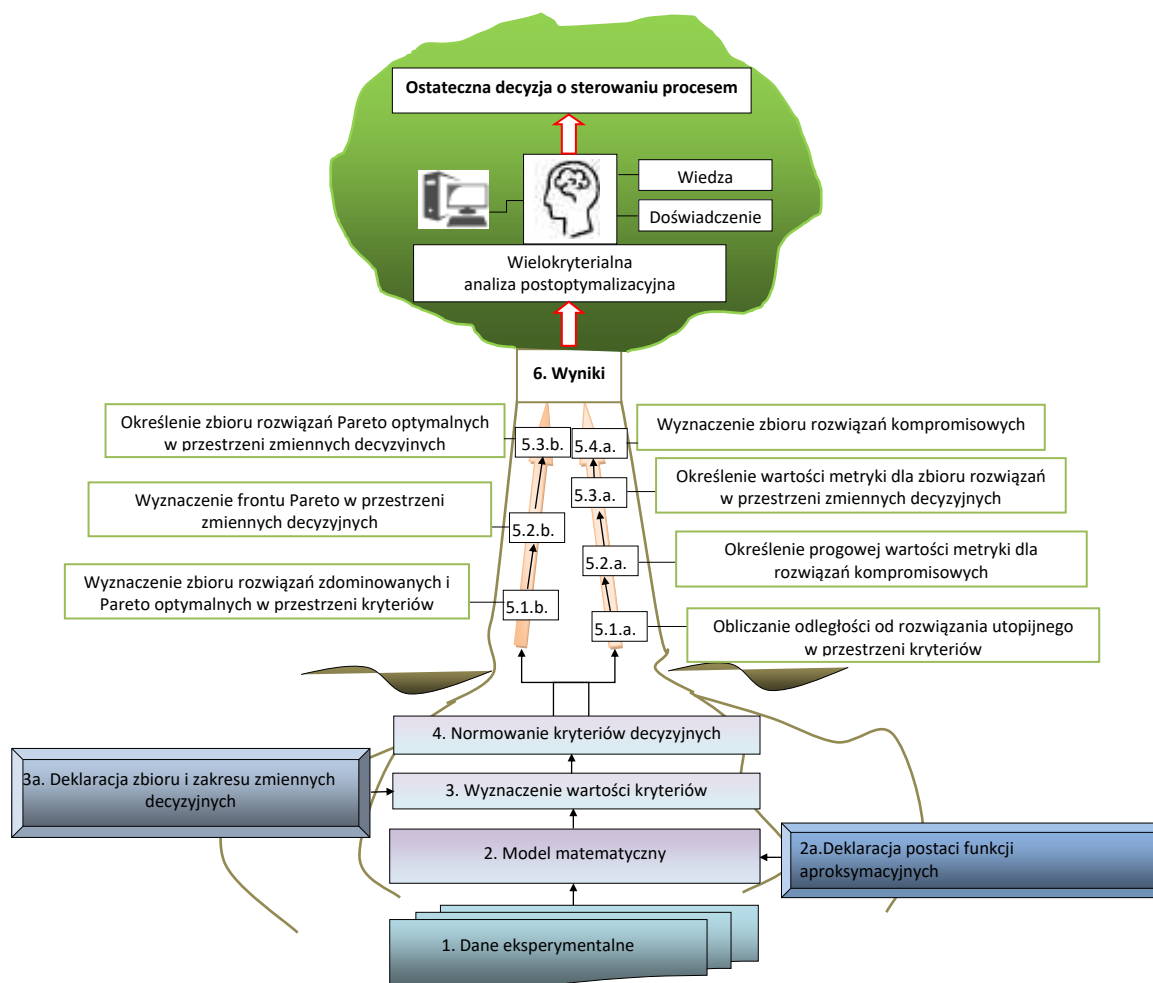
Dla ułatwienia rozwiązania tego zadania kryteria decyzyjne zostały przeskalowane do zmiennych bezwymiarowych i unormowane w następujący sposób:

$$K_i^{(n)} = \frac{K_i^{max} - K_i}{K_i^{max} - K_i^{min}} \quad i = 1, 2, 3, 4 \quad k_i^{(n)} \in \langle 0; 1 \rangle \quad (16)$$

gdzie:  $K_i^{min}$  i  $K_i^{max}$  oznaczają odpowiednio najmniejszą i największą wartość kryteriów dla analizowanego zbioru zmiennych decyzyjnych  $D$ .

Zastosowana procedura normowania umożliwiła porównywanie ze sobą wartości kryteriów opisujących różne wielkości i wyrażone w różnych jednostkach. Maksymalnej wartości rzeczywistego kryterium odpowiada w przestrzeni unormowanych kryteriów wartość 0. W dalszej części procedury używane będą wyłącznie unormowane kryteria decyzyjne z opuszczonym górnym indeksem (n) przy K. W następnym kroku wprowadzono relację dominacji pomiędzy dwoma, dowolnymi wektorami kryteriów decyzyjnych  $K=[k_1, k_2, k_3, k_4]$  i  $K'=[k_1', k_2', k_3', k_4']$  należącymi do zbioru  $D$  postaci:

$$K > K' \Leftrightarrow K - K' \in C \quad C = \{(a_1; a_2; a_3; a_4) \in R^4: a_1, a_2, a_3, a_4, \leq 0\} \quad (17)$$



Rysunek 3. Schemat optymalizacji wielokryterialnej

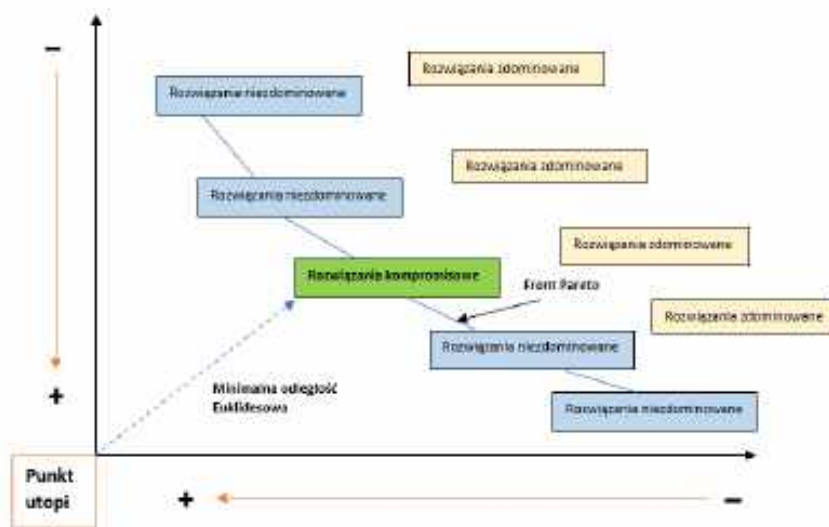
Przyjęto założenie, że jeśli  $K=[K_1, K_2, K_3, K_4]$  będzie dowolnym wektorem w przestrzeni kryteriów decyzyjnych, wtedy rozwiązanie  $X^*$  nazywa się optymalnym w sensie Pareto, jeżeli dla każdego rozwiązania dopuszczalnego  $X$  prawdziwa jest implikacja:

$$K(X^*) \succ K(X) \Rightarrow K(X^*) = K(X) \quad (18)$$

Zbiór wszystkich możliwych rozwiązań optymalnych w sensie Pareto, nazywany jest również zbiorem rozwiązań niezdominowanych (Pareto optymalnych). Na tej podstawie wyznaczono jawną postać zbioru rozwiązań zdominowanych i niezdominowanych (Pareto-optymalnych) dla ekstraktów wodnych w przestrzeni kryteriów decyzyjnych. Zbiór rozwiązań Pareto optymalnych i zdominowanych tworzy zbiór w czterowymiarowej przestrzeni kryteriów. W celu analizy i wizualizacji tych zbiorów rozważano podzbiory przestrzeni czterowymiarowej ( $K_1, K_2, K_3, K_4$ ) w trójwymiarowych i dwuwymiarowych przestrzeniach kryteriów decyzyjnych (Gómez-Salazar i in., 2022).

### 3.5.1. Redukcja zbiorów rozwiązań Pareto- optymalnych – wyznaczenie rozwiązań kompromisowych

Z definicji rozwiązania Pareto optymalne są ze sobą nieporównywalne. Zatem w celu wyboru ze zbioru tych rozwiązań mniejszego podzbioru można przeprowadzić redukcję tego zbioru poprzez zastosowanie miary efektywności dla każdego elementu zbioru Pareto. W zadaniu optymalizacyjnym przyjęto definicję punktu Utopii, uważanego za optymalne rozwiązanie pod każdym względem (efektywność rzędu 1) (Das, 1999). Punkt Utopii to idealny punkt, który maksymalizuje cele jednocześnie (tzw. punkt nieosiągalny). Dlatego wprowadzono pojęcie osiągalnych preferowanych rozwiązań na froncie Pareto z minimalną odległością od punktu Utopii ( $d_U$ ). Aby znaleźć to kompromisowe rozwiązanie na froncie Pareto, najpierw funkcje celu zostały znormalizowane do zakresu  $[0,1]$ . Następnie wyznaczono odległość euklidesową wszystkich rozwiązań na froncie Pareto, mierzoną od punktu Utopii. Rozwiązanie Pareto- optymalne z minimalną odległością od punktu Utopia zostało wybrane jako rozwiązanie najlepsze z danego zbioru (Foroughi i Razavi, 2022).



Rysunek 4. Schemat wyznaczania rozwiązań kompromisowych z frontów Pareto.

Zatem w celu analizy zbioru wszystkich rozwiązań dopuszczalnych wprowadzono w przestrzeni unormowanych kryteriów decyzyjnych metrykę euklidesową postaci:

$$d_U = d(K_0 K) = \sqrt{\sum_{i=1}^4 K_i^2} \quad (19)$$

gdzie:

$K_0=(0, 0, 0, 0)$  jest początkiem układu współrzędnych, tzw. rozwiązanie utopijne ( $d_U$ ).

Otrzymane rozwiązania można traktować jako rozwiązania najlepsze z otrzymanego zbioru Pareto pod względem równomiernego zadośćuczynienia wszystkim kryteriom.

### 3.5.2. Inteligentny (smart) filtr Pareto - Eksploracja frontu Pareto z wykorzystaniem ważenia kryteriów decyzyjnych i odległości punktu Utopii

Wykorzystano metodę „inteligentnego” uzyskiwania zmniejszonej reprezentacji efektów optymalizacji i rozwiązań optymalnych w sensie Pareto (z ang. smart representation). W proponowanej metodzie wielocelowa optymalizacja topologii frontu Pareto odbywa się w oparciu o metodę sumy ważonej. Chociaż metoda sumy ważonej ma ograniczenia, gdy jest stosowana do problemów, które mają niewypukłą granicę Pareto, rozsądne jest założenie, że granice Pareto w większości problemów inżynierskich są wypukłe. Dlatego też metoda sumy ważonej pozostaje użytecznym podejściem dla wielu praktycznych problemów optymalizacji wielopodmiotowej i jest omawiana w wielu badaniach (Chen i in., 2010; Marler and Arora, 2010).

Dla kryteriów decyzyjnych przyjęto:

$$K = \sqrt{K_1^2 + K_2^2 + K_3^2 + K_4^2} \quad (20)$$

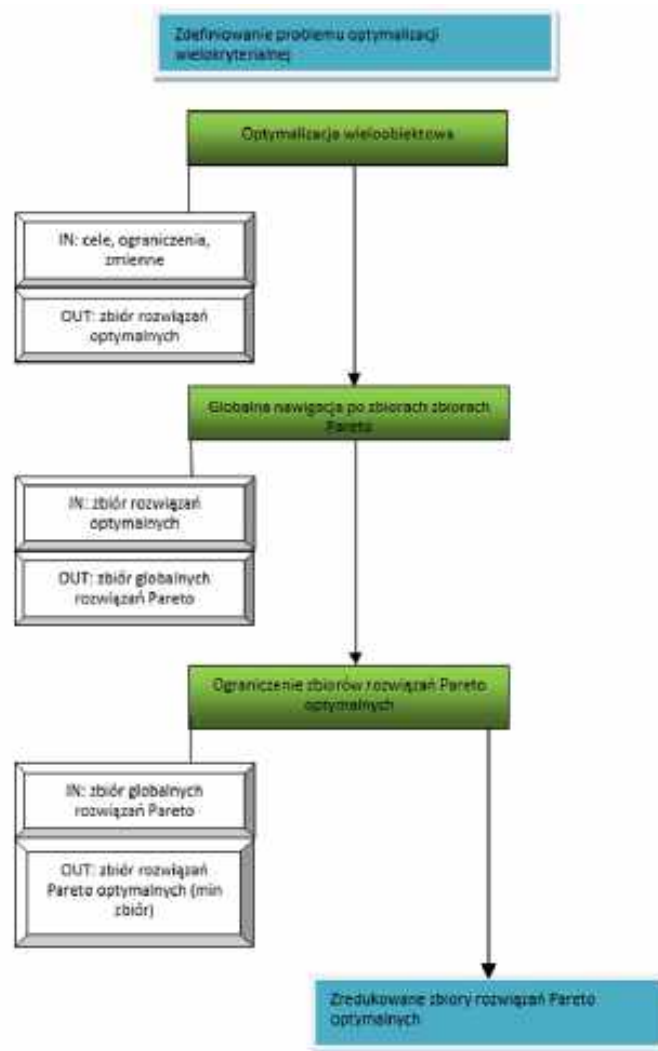
Po wprowadzeniu ważności poszczególnych kryteriów uzyskano postać:

$$K = \sqrt{w_1 K_1^2 + w_2 K_2^2 + w_3 K_3^2 + w_4 K_4^2} \quad (21)$$

Kryteriom przypisano wagi na podstawie równania:

$$w_1 + w_2 + w_3 + w_4 = 1 \quad (22)$$

Dla kryteriów wartość  $w_1$ ,  $w_2$  oraz  $w_3$  wynosiła 0,3. Natomiast dla wartość  $w_4$  wynosiła 0,1. Dzięki takiemu podejściu możliwe było wyznaczenie tzw. „preferowanych” rozwiązań z frontu Pareto. Procedura oparta była na wyznaczeniu odległości rozwiązań z frontu Pareto od punktu Utopii. Jako preferowane rozwiązania ekspercko wskazane takie, dla których odległość od punktu Utopii wynosiła 0,31.



Rysunek 5. Metodologia tzw. podejścia smart Pareto (filtrowanie rezultatów).

### 3.5.3. Analiza statystyczna

Przeprowadzono analizę w programie Matlab z wykorzystaniem statystyki F, służącej do testowania istotności statystycznej modelu. Wartości statystyki F (statystyka do testowania ostatecznego modelu w porównaniu z brakiem modelu (tylko średnia) pozwoliły ocenić istotność elementów lub składników modelu. Podano sse - Suma błędów podniesionych do kwadratu (reszt), określoną jako wartość liczbowa, dfe –błąd stopni swobody (dla modelu) dfr (n-2) dla:

$$n \sum_{j=1}^p n_j \quad (23)$$

Wyznaczono także SSR - Suma kwadratów wynikająca z regresji lub wyjaśniona suma kwadratów (ESS) to suma różnic między wartością przewidywaną a średnią zmiennej zależnej oraz pval - A wektor wartości p do sprawdzania, czy elementy b wynoszą 0.

## 4. Wyniki badań i dyskusja

### 4.1. Optymalizacja konwencjonalnej ekstrakcji wodnej w aspekcie maksymalizacji pozyskiwania związków czynnych z korzeni *Levisticum officinale*

Dla przyjętego modelu w postaci wielomianów wielu zmiennych wyznaczono współczynniki równania (tabela 1).

Tabela 1. Równania regresji i wskaźniki dopasowania modelu do danych eksperymentalnych dla kryteriów decyzyjnych

Kryterium	Model	MSE	R <sup>2</sup>	Adj R <sup>2</sup>
TPC	$TPC = 725.247 + 13272.872x_1 - 9.908x_2 - 18.966x_3 + 20.22x_1x_2 - 65.583x_1x_3 + 0.009x_2x_3 - 52896x_1^2 + 0.157x_2^2 + 0.141x_3^2$	121,539	0,858	0,783
	Parametry oceny dopasowania modelu	sse	2,07e+04	
		F-value	11,4314	
		ssr	1,25e+05	
		p-value	1,32e-05	
TFC	$TFC = 3338.421 + 27965.5x_1 + 8.709x_2 - 94.049x_3 + 131.9x_1x_2 - 127.34x_1x_3 - 0.08x_2x_3 - 141485x_1^2 - 0.1485x_2^2 + 0.642x_3^2$	40,384	0,905	0,855
	Parametry oceny dopasowania modelu	sse	7,49e+04	
		F-value	17,968	
		ssr	7,12e+05	
		p-value	5,23e-07	
TAA	$TAA = 131.179 - 9.1x_1 - 0.178x_2 - 1.662x_3 + 0.943x_1x_2 + 0.653x_1x_3 - 0.002x_2x_3 + 4.444x_1^2 + 0.0049x_2^2 + 0.011x_3^2$	0,886	0,855	0,778
	Parametry oceny dopasowania modelu	sse	15,062	
		F-value	11,1425	
		ssr	88,852	
		p-value	1,58e-05	
RSC	$RSC = 6.09 + 653.233x_1 - 0.231x_2 - 0.366x_3 + 8.573x_1x_2 - 4.18x_1x_3 - 0.007x_2x_3 - 2720.9x_1^2 + 0.0063x_2^2 + 0.0049x_3^2$	13,187	0,817	0,721
	Parametry oceny dopasowania modelu	sse	224,183	
		F-value	8,433	
		ssr	1,00e+03	
		p-value	9,95e-05	

Legenda: sse - Suma błędów podniesionych do kwadratu (reszt), określona jako wartość liczbowa; ssr - Suma kwadratów wynikająca z regresji lub wyjaśniona suma kwadratów (ESS) to suma różnic między wartością przewidywaną a średnią zmiennej zależnej oraz pval -A wektor wartości p do sprawdzania, czy elementy b wynoszą 0; F-value - F statistic.

Model pozwala na optymalizację zmiennych decyzyjnych (parametrów procesu) dla uzyskania maksymalnej odpowiedzi, w tym przypadku wydajności związków fenolowych (TPC). Efektywność modelu można przedstawić za pomocą wartości  $R^2$ ,  $\text{adj } R^2$  oraz MSE. Wyniki analizy (tabela 1) przedstawiają zdolność predykcyjną modelu dla TPC. Wartość  $R^2$  dla całkowitej zawartości polifenoli wynosiła 0,858, co oznacza, że model wyjaśnia około 85% zmienności odpowiedzi. Skorygowany  $R^2$ , który jest zawsze mniejszy lub równy  $R^2$  przyjął wartość 0,783. Zbliżone wartości obu wskaźników (różnica 0,075) wskazują, że stworzony model, bardzo dobrze przewiduje wartości w polu docelowym. tj. ma wartość predykcyjną.

Wartość  $R^2$  dla kryterium drugiego czyli całkowitej zawartości flawonoidów (TFC) wyniosła 0,905, co oznacza, że model w sposób zadowalający opisywał rzeczywiste zależności pomiędzy wybranymi zmiennymi decyzyjnymi. Skorygowana wartość  $R^2$  ( $\text{Adj } R^2$ ) w modelu (0,855) była bliska  $R^2$  (przy różnicy 0,050). Wyznaczone współczynniki wskazują, że ich wartości były bliskie 1, co wskazuje na wysoki stopień korelacji pomiędzy wartościami eksperymentalnymi i przewidywanymi przez model.

Podobnie, jak w przypadku dopasowania danych eksperymentalnych do przewidywanych, kształtowała się sytuacja dla TAA (całkowita aktywność przeciwutleniająca). Współczynnik  $R^2$  przyjął wartość 0,886, a skorygowany  $R^2$  – 0,778. Odpowiedzi miały różnicę między przewidywanym  $R^2$  a skorygowanym  $R^2$  na poziomie 0,077, co zostało uznane za wystarczające do wyjaśnienia zmienności odpowiedzi (przydatności modelu). Dopasowanie modelu do danych eksperymentalnych dla zawartości cukrów redukujących (RSC) wskazało, że model dobrze nadawał się do predykcji. Współczynnik korelacji wynosił 0,817, natomiast jego skorygowana wartość wyniosła 0,721.

Zdaniem Song i in. (2011) współczynnik regresji reprezentuje siłę odzwierciedlenia przez model danych eksperymentalnych, podczas gdy wartość  $p$  jest użytecznym narzędziem do sprawdzania istotności korelacji (Song i in. 2011). Dodatkowo ważnym aspektem jest wyznaczenie MSE (sprawdzenie, jak prognozowane wartości są zbliżone do wartości rzeczywistych), suma kwadratów różnic między przewidywanymi danymi a średnią zmiennej odpowiedzi (ssr) oraz suma kwadratów błęd (sse) czyli suma kwadratów różnic między przewidywanymi danymi a obserwowanymi punktami danych. Wartości wskaźników przedstawiono w tabeli dla poszczególnych kryteriów. Najmniejszą wartość średni błąd kwadratowy odnotowano dla TAA oraz RSC. Największą natomiast dla TPC.

Na podstawie badań eksperymentalnych potwierdzono, że efektywność ekstrakcji była determinowana wieloma różnymi parametrami, m.in. rodzajem rozpuszczalnika, zastosowaną metodą lub techniką, czasem procesu, temperaturą czy też stosunkiem masy próbki do rozpuszczalnika. Podkreślić należy, że odpowiednia technika ekstrakcji i wybór rozpuszczalnika są nie tylko ważne w aspekcie pozyskiwania związków biologicznie czynnych z biomasy roślinnej, ale mają również znaczenie dla ekologii. Bazując na powyższym do badań wybrano wodę, jako neutralny rozpuszczalnik w procesie wspomaganym ciepłem ekstrakcji. Ilościowe oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych (TPC) wykazało, że wszystkie analizowane zmienne miały wpływ na ten parametr. W zależności od zastosowanej w ekstrakcji temperatury, czasu, a także stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika obserwowano zróżnicowaną wydajność ekstrakcji tych związków. Spośród wszystkich badanych próbek ekstraktów, TPC było najwyższe dla ekstraktów z *Levisticum officinale*, pozyskanych w analizowanej temperaturze maksymalnej (95°C) przy 40- oraz 20-minutowym czasie procesu, przy stosunku biomasy roślinnej do wody 0,075 g/ml. Zbliżoną zawartość TPC odnotowano dla ekstraktów wytworzonych w temperaturze 85°C i w czasie 30 minut. Najniższe poziomy tych bioaktywnych związków obserwowano przy najmniejszym, analizowanym stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika (0,025 g/ml). W przypadku TPC ich najniższa koncentracja była efektem zastosowania najkrótszego 20-minutowego czasu ekstrakcji i temperatury procesu na poziomie 85°C. Stwierdzono, także że dla ekstraktów, pozyskanych przy najniższym badanym stosunku biomasy roślinnej do wody, zwiększenie temperatury ekstrakcji do 95°C i wydłużenie czasu procesu skutkowało wzrostem całkowitej puli związków fenolowych. Podobne tendencje obserwowano w przypadku pozostałych badanych kombinacji czynników procesowych. Jednak zwiększenie stosunku biomasy korzeni *Levicum officinale* z 0,050 do 0,075 g/ml, nie skutkowało już znaczącymi wzrostami wydajności ekstrakcji związków fenolowych.

Badania nad bioaktywnymi związkami w ekstraktach z korzeni *Levisticum officinale* wykazało, że stężenie flawonoidów (TFC) było determinowane warunkami procesu ekstrakcji. Niższe TFC było efektem wytwarzania ekstraktów przy najmniejszym stosunku biomasy roślinnej do wody. Przy czym wśród wszystkich analizowanych kombinacji, najmniejszą pulą flawonoidów odznaczały się próbki, ekstrahowane w 75°C przez 40 minut. Dwukrotne zwiększenie wydajności ekstrakcji flawonoidów z biomasy korzeni *Levisticum officinale* było wynikiem zwiększenia stosunku masowo-objętościowego surowca roślinnego i wody do 0,050 oraz 0,075 g/ml. Pomiędzy tymi dwiema grupami zróżnicowanie

w poziomach flawonoidów nie było już tak duże. Stwierdzono także, że podwyższenie temperatury procesu do 95°C, prowadziło do wytworzenia ekstraktów bardziej zasobnych we flawonoidy. Najwyższy TFC został odnotowany dla ekstraktów, wyprodukowanych przy stosunku biomasy do rozpuszczalnika 0,075 g/ml oraz przy zastosowaniu temperatury ekstrakcji na poziomie 95°C.

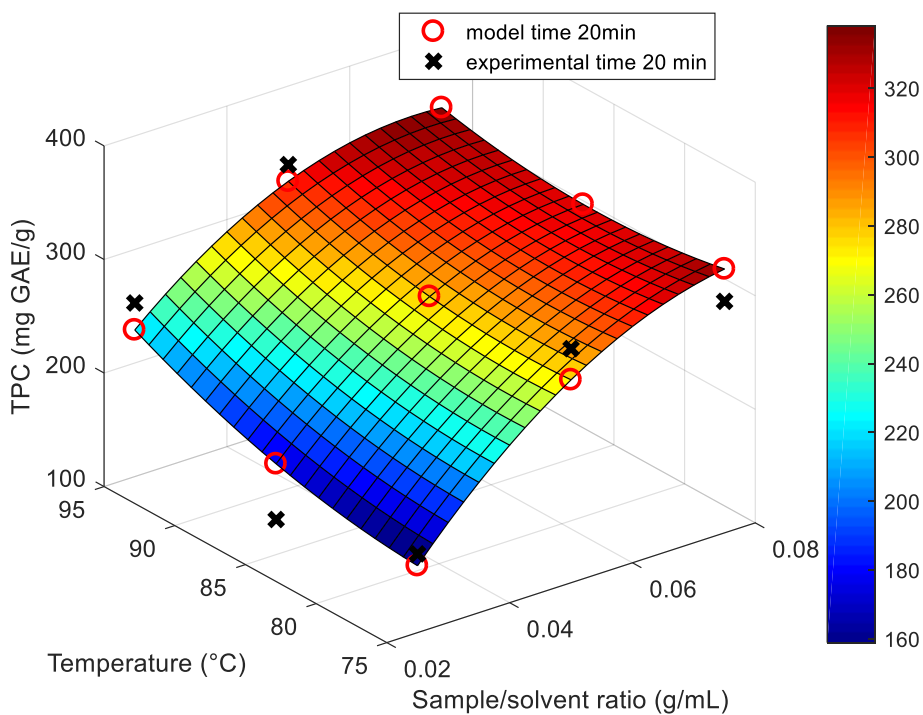
Najwyższe poziomy zdolności antyoksydacyjnej uzyskano przy najwyższym stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika bez względu na zastosowane temperatury i czasy procesu ekstrakcji. Co prawda, wzrost temperatury ekstrakcji, powodował wzrost badanej odpowiedzi. Podobne zależności odnotowano w przypadku zawartości cukrów redukujących (RSC). W obu przypadkach odnotowano także większe możliwości sterowania parametrami procesu dla maksymalizacji poziomu badanych cech.

Przedstawione badania są jednymi z nielicznych, w których wykorzystano wodę jako czynnik ekstrahujący. Jednak należy wspomnieć, że aktualnie przy wyborze rozpuszczalników należy wziąć pod uwagę nie tylko takie czynniki, jak rozpuszczalność, selektywność, ale również ich bezpieczeństwo, ekologiczny wymiar i koszt. Wpisuje się to w podstawowe cele i wysiłki, leżące u podstaw zielonej chemii, jakimi są m.in. ograniczenie stosowania i produkcji niebezpiecznych chemikaliów w procesach chemicznych, przy jednoczesnej optymalizacji tych procesów w celu zmniejszenia ich natychmiastowego i długoterminowego wpływu na środowisko. Wytyczne zielonej chemii zyskały szerokie uznanie jako standardy oceny ekologiczności procesu (Martiny i in., 2021).

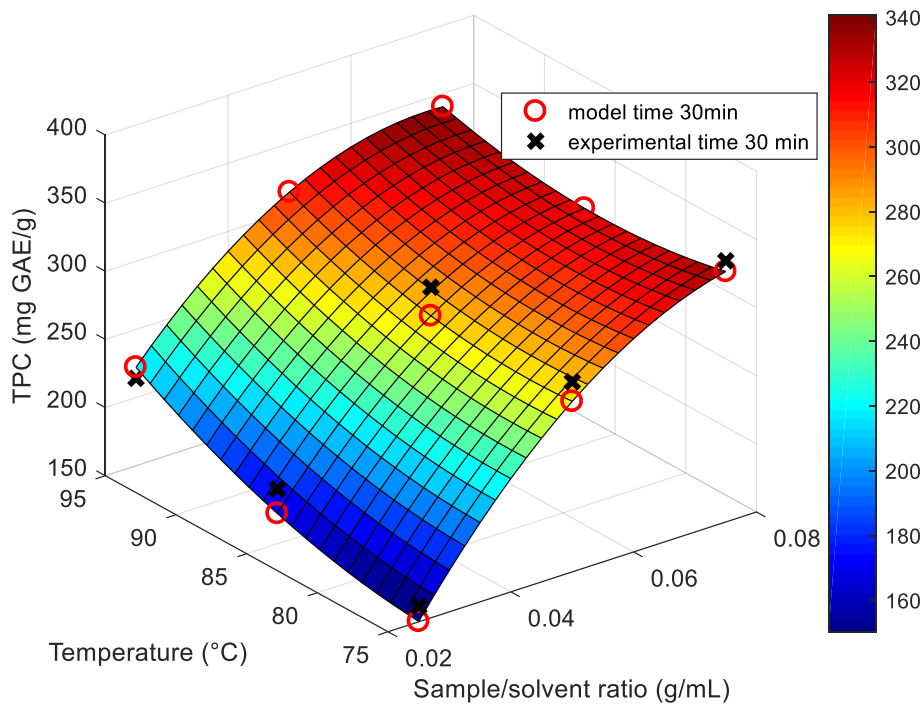
Wyniki eksperymentalne oraz uzyskane na drodze modelowania są zgodne z wynikami przedstawionymi przez Dastan i in., (2022). Autorzy stwierdzili, że zarówno zawartość polifenoli, flawonoidów, jak i potencjał przeciwutleniający, determinowane były stosunkiem próbka: rozpuszczalnik. Badania Dixit i in. (2005), nad właściwościami przeciwutleniającymi ekstraktów z nasion kozieradki, dowiodły, że zawartość polifenoli oraz flawonoidów można intensyfikować odpowiednimi parametrami, używając jako rozpuszczalnika jedynie wody. Wpływ stosunku biomasy do rozpuszczalnika wynika głównie z przemiany matrycy roślinnej w rozpuszczalnik. Rozpuszczalnik będący w punkcie równowagi może wywoływać zmniejszenie przenoszenia masy biomateriałów do ekstraktu (Dastan i in., 2022). Dodatkowym czynnikiem, który wpływa na efektywność ekstrakcji jest temperatura procesu. Niekiedy wyższe temperatury procesu skutkują uwolnieniem większej puli związków fenolowych do rozpuszczalnika i surowego ekstraktu (Hayat i in. 2009). Jednak są w literaturze także wyniki badań, które wskazują, że wyższa temperatura prowadzi do zmniejszenia wydajności ekstrakcji z powodu degradacji związków fenolowych. Istnieje

przekonanie, że średnie zakresy temperatur są uznawane za „optymalne” (Singh et al. 2017; Vu i in., 2019).

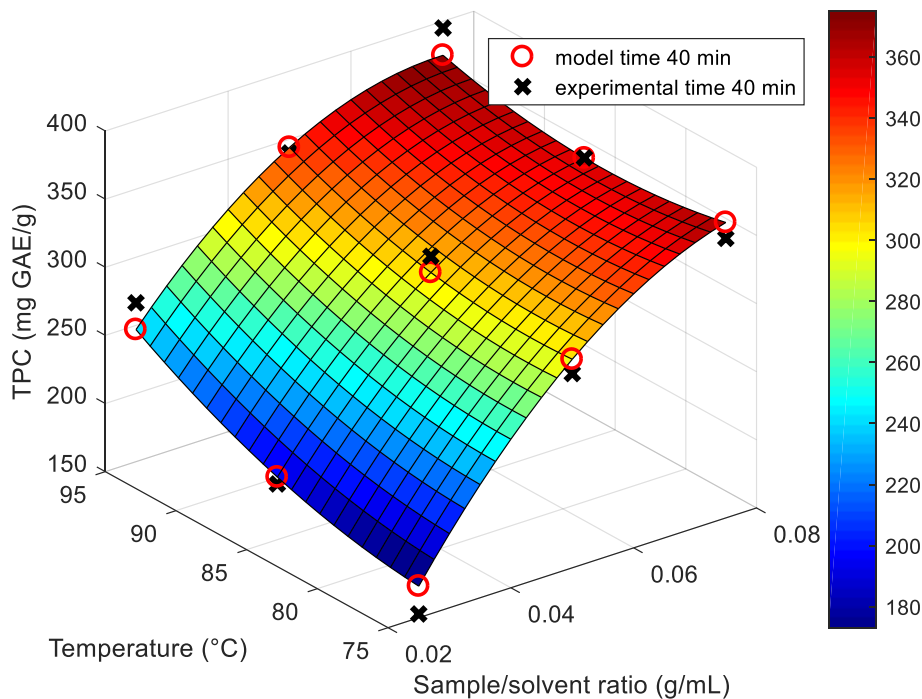
Funkcje interpolacyjne i regresyjne kryterium K1-K4 w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych) przedstawiono na rysunkach 6-17.



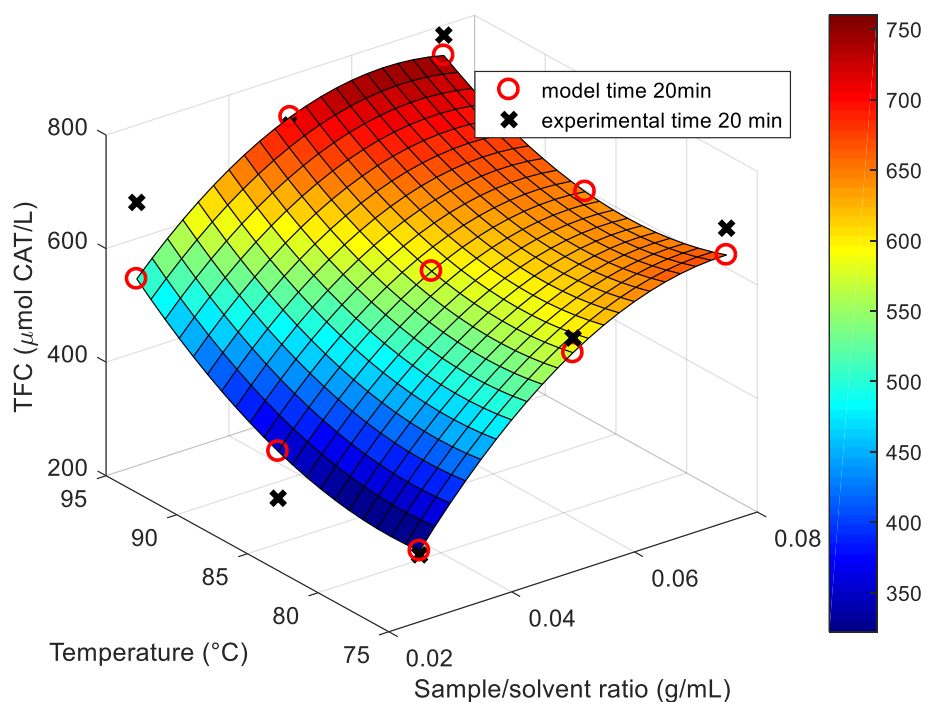
Rysunek 6. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K1 (TPC, całkowita zawartość fenoli) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=20$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.



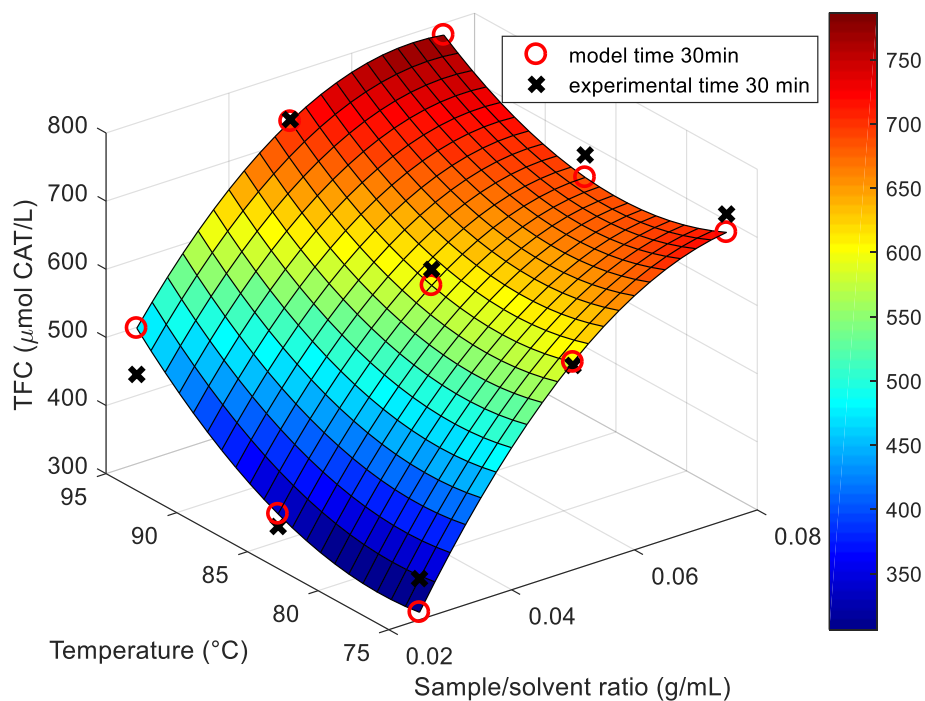
Rysunek 7. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K1 (TPC, całkowita zawartość fenoli) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=30$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda



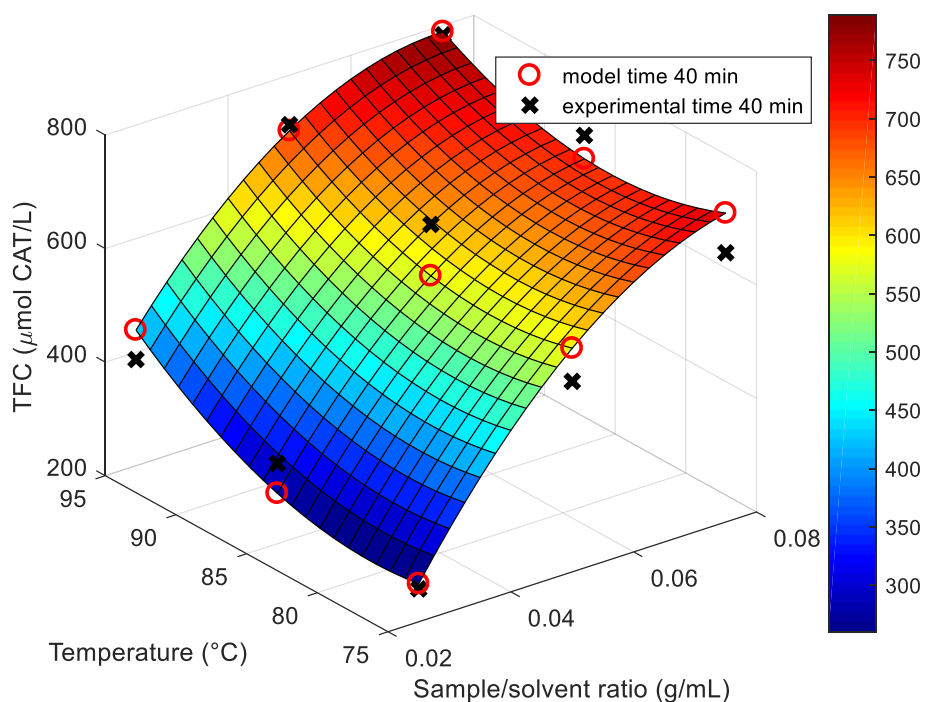
Rysunek 8. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K1 (TPC, całkowita zawartość fenoli) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=40$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda



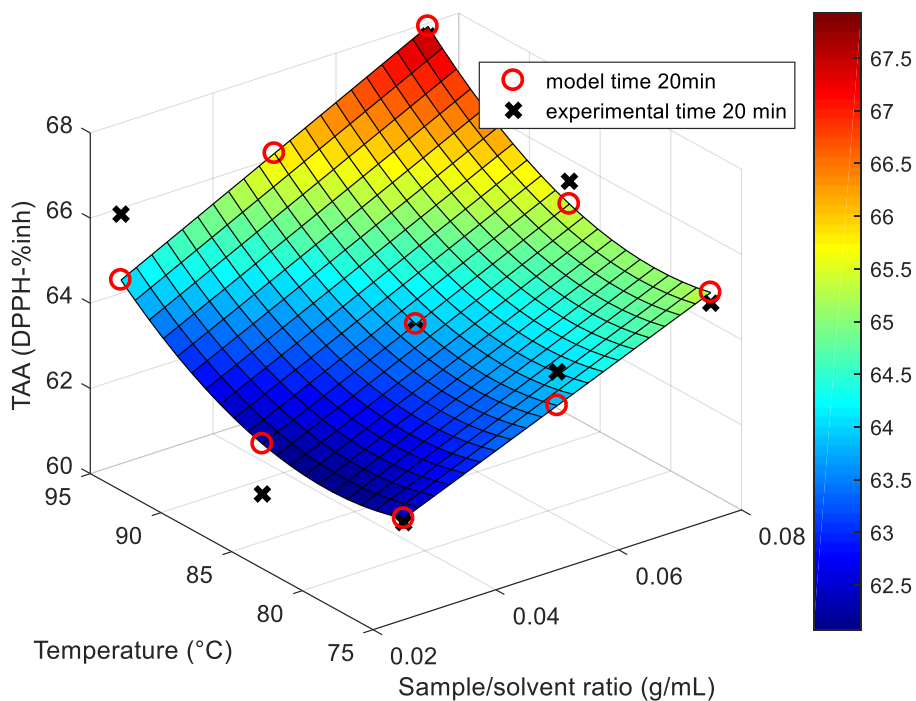
Rysunek 9. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K2 (TFC, całkowita zawartość flawonoidów) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )) dla  $x_2=20$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda



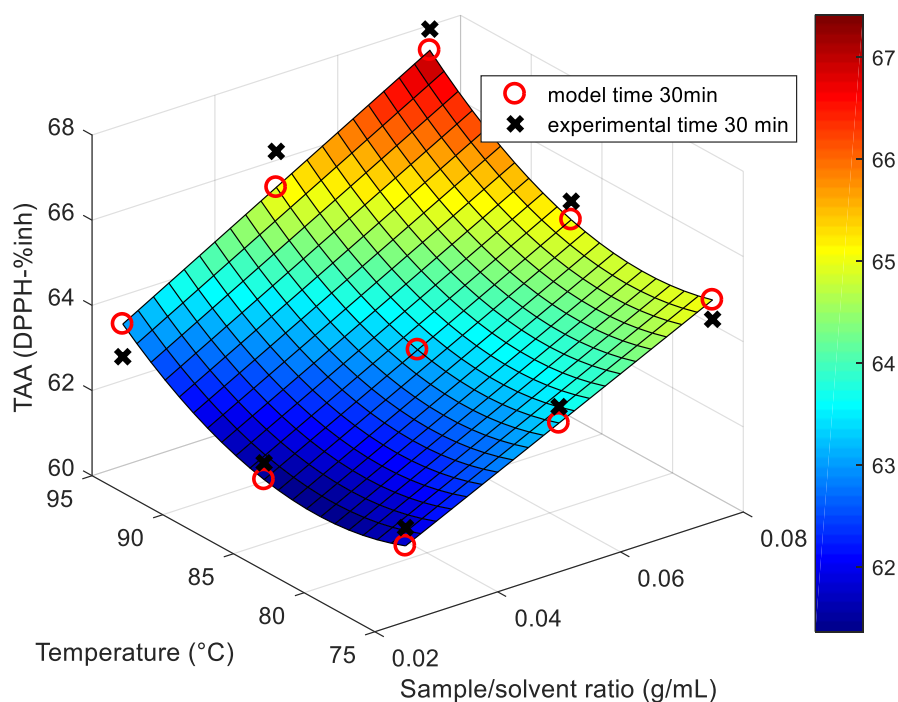
Rysunek 10. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K2 (TFC, całkowita zawartość flawonoidów) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )) dla  $x_2=30$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.



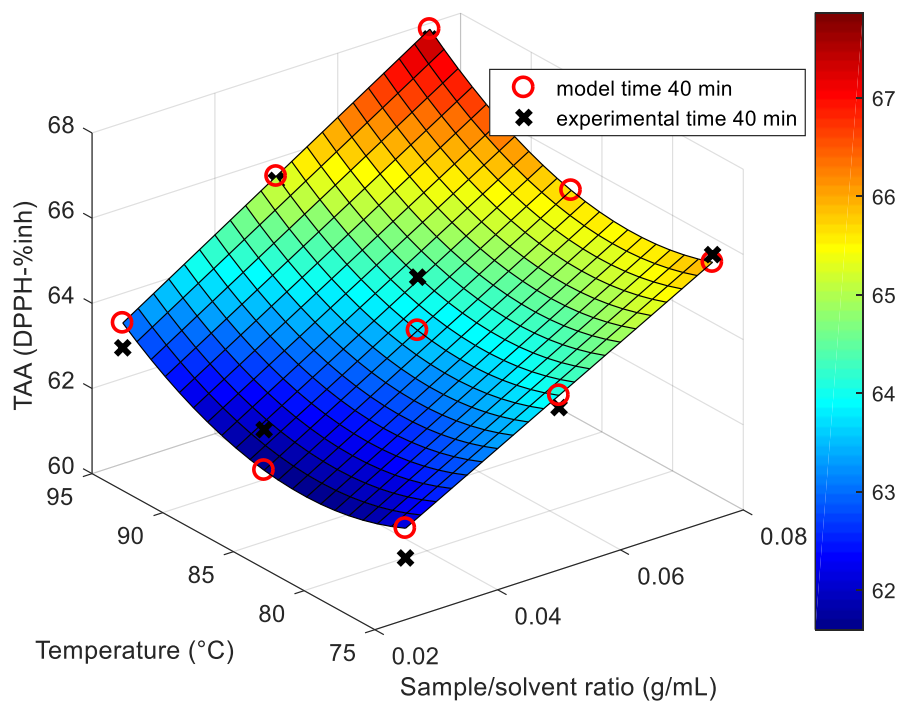
Rysunek 11. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K2 (TFC, całkowita zawartość flawonoidów) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )) dla  $x_2=40$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda



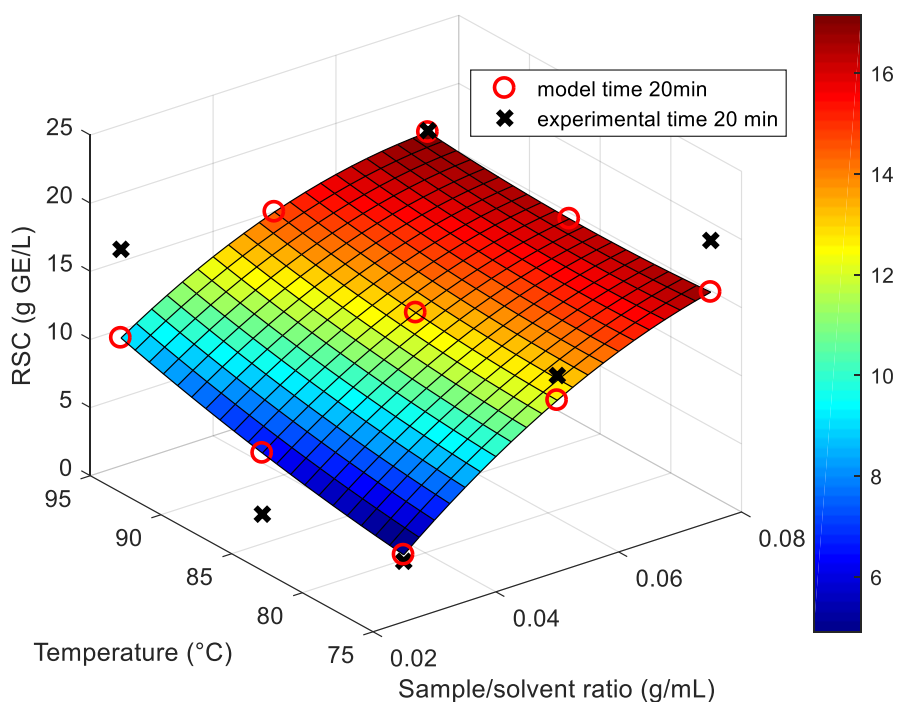
Rysunek 12. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (TAA, całkowita aktywność przeciwutleniająca) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )) dla  $x_2=20$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.



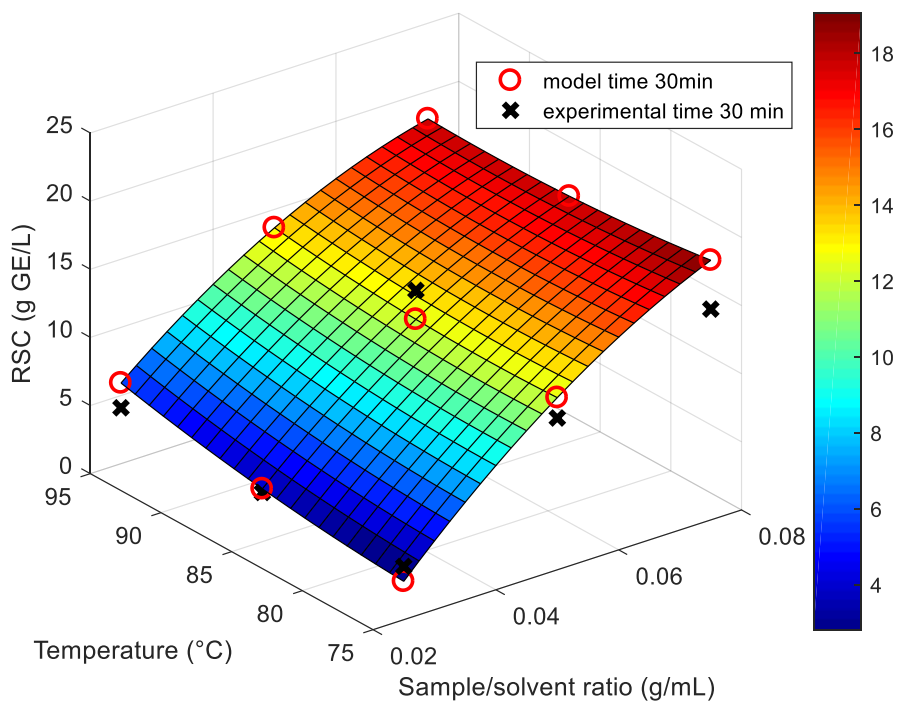
Rysunek 13. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (TAA, całkowita aktywność przeciwutleniająca) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=30$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.



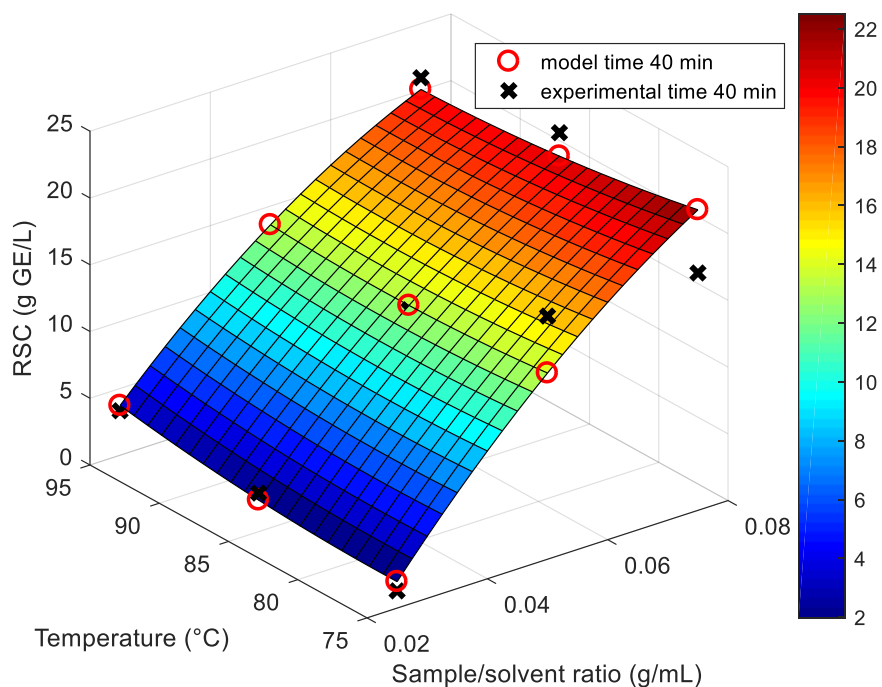
Rysunek 14. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (TAA, całkowita aktywność przeciwutleniająca) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=40$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.



Rysunek 15. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (RSC, zawartość cukru redukującego) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=20$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.

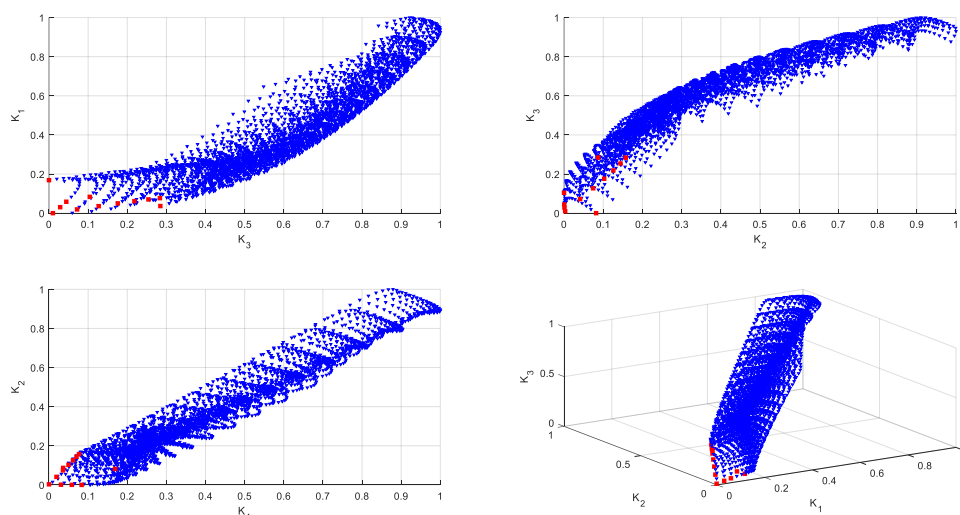


Rysunek 16. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (RSC, zawartość cukru redukującego) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura °C) dla  $x_2=30$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.

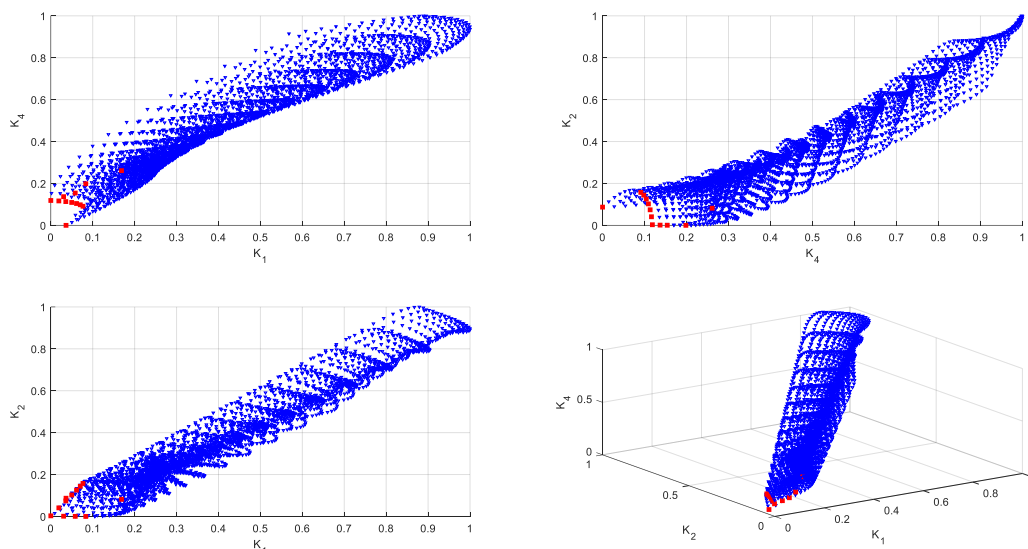


Rysunek 17. Interpolacja i funkcja regresji kryterium K3 (RSC, zawartość cukru redukującego) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/mL)) i  $x_3$  (temperatura (°C)) dla  $x_2=40$  min (czas ekstrakcji). Legenda: Temperature – Temperatura, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda.

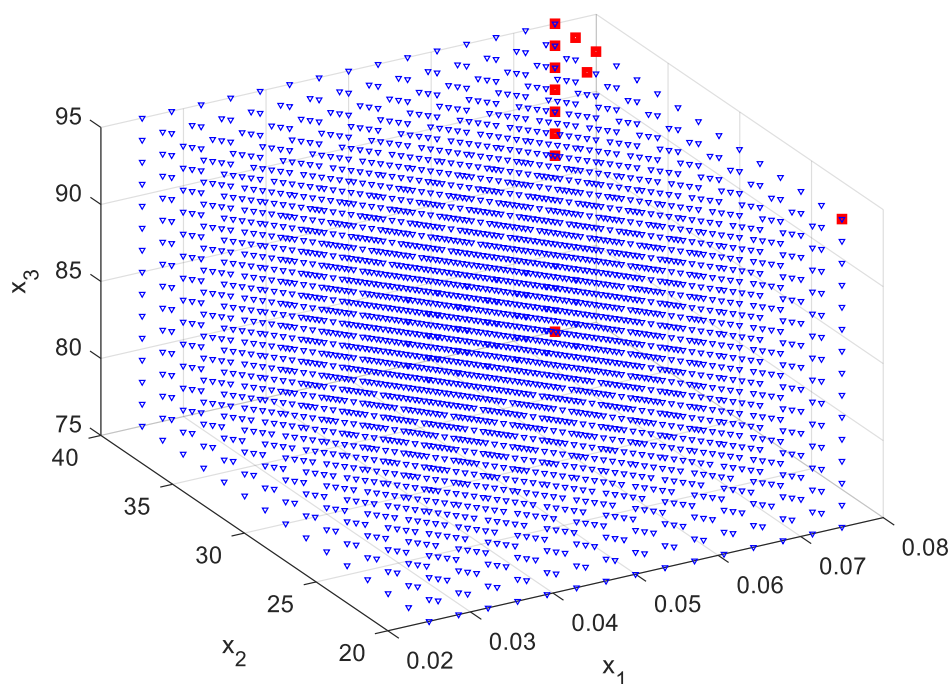
Na rysunkach 18-19 przedstawiono fronty Pareto w przestrzeni kryteriów decyzyjnych. Dla lepszej wizualizacji efektów wielokryterialnej optymalizacji, na rysunku 20 przedstawiono zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (Stosunek próbka/rozpuszczalnik),  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (Temperatura).



Rysunek 18. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami K1 (TPC całkowita zawartość fenoli - zmaksymalizowana), K2 (TFC całkowita zawartość flawonoidów - zmaksymalizowana), K3 (TAA całkowita zawartość przeciwutleniaczy - zmaksymalizowana). Kolor czerwony oznacza rozwiązania Pareto-optymalne (front Pareto), kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane. Dla zmaksymalizowanych kryteriów 0 jest najlepszym scenariuszem



Rysunek 19. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami K1 (TPC całkowita zawartość fenoli - zmaksymalizowana), K2 (TFC całkowita zawartość flawonoidów - zmaksymalizowana), K3 (TAA całkowita zawartość przeciwutleniaczy - zmaksymalizowana). Kolor czerwony oznacza rozwiązania Pareto- optymalne (front Pareto), kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane. Dla zmaksymalizowanych kryteriów 0 jest najlepszym scenariuszem



Rysunek 20. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (temperatura). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Zbiór wszystkich możliwych rozwiązań niezdominowanych tj. Pareto-optymalnych przedstawiono na rysunkach 18, 19 (wybrane zbiory rozwiązań dopuszczalnych spośród wszystkich możliwych rozwiązań dla rozważanego obiektu). Rysunki przedstawiają lokalne

tendencje analizowane w dwóch lub trzech wymiarach, co stanowiło przejście z 4-wymiarowej przestrzeni. Zmaksymalizowane kryteria zostały przeskalowane w taki sposób, aby 0 było najlepszym scenariuszem dla każdego z nich. Czerwony obszar odzwierciedla wszystkie akceptowalne rozwiązania Pareto-optymalne. Każda wartość z czerwonego obszaru jest uważana za optymalną i może być wytypowana jako parametr procesu. Niebieski obszar obejmuje rozwiązania, które są zdominowane. Rozwiązania te nie są optymalne i nie zapewnią pożądanej maksymalizacji ekstrakcji związków biologicznie aktywnych z *Levissticum officinale*.

Pareto optymalne rozwiązania dla maksymalizowanych kryteriów ( $K_1$  - TPC całkowita zawartość związków fenolowych,  $K_2$  - TFC całkowita zawartość flawonoidów oraz  $K_3$  - TAA całkowity potencjał przeciwutleniający) znajdują się w pobliżu zera. Maksymalizacja całkowitej zawartości związków fenolowych skutkuje maksymalizacją całkowitej zawartości flawonoidów i maksymalizacją zdolności przeciwutleniających (rys. 18). Ponadto maksymalizacja całkowitej zawartości flawonoidów prowadzi do maksymalizacji zdolności antyoksydacyjnych (rys. 19). Z praktycznego punktu widzenia oznacza to, że zastosowanie niskich temperatur procesu oraz niższego stosunku biomasy do rozpuszczalnika spowoduje niższą zawartość TPC, TFC i TAA w ekstrakcie końcowym z *Levisticum officinale*.

Rysunki 18 i 19 przedstawiają szczegółową analizę zależności pomiędzy kryteriami wraz z rozwiązaniami zdominowanymi oraz frontem Pareto. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że sterując odpowiednio parametrami procesu ekstrakcji można zwiększyć koncentracje poszczególnych związków biologicznie aktywnych. W procesie decyzyjnym ułatwienie stanowić będzie wyznaczona jawna postać zbioru rozwiązań zdominowanych i niezdominowanych (Pareto-optimalnych) dla ekstraktów wodnych w przestrzeni kryteriów decyzyjnych, odpowiadających  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  i  $K_4$ .

Na rysunkach 18 i 19 przedstawiono postać zbioru rozwiązań zdominowanych i niezdominowanych dla ekstraktów, co dowiodło, że istnieje stosunkowo niewielki obszar niezdominowanych rozwiązań. Dla ułatwienia podjęcia decyzji, przy wyborze optymalnych parametrów ekstrakcji wodnej *Levisticum officinale* przedstawiono na rysunku 20 zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji w funkcji nie kryteriów, ale zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek próbka/roztwór),  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (temperatura). Zmiana przestrzeni daje bardziej czytelny obraz na temat parametrów, wpływających na maksymalizację związków bioaktywnych w ekstraktach. Wykazano, że dla maksymalizacji kryteriów można posłużyć się trzema opcjami. Zatem zwiększenie temperatury procesu,

wydłużenie czasu ekstrakcji oraz zwiększenie stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika, pozwoli na wytworzenie ekstraktów o zoptymalizowanych wartościach kryteriów (maksymalizacja poziomu związków bioaktywnych). Druga droga zakłada, że wydłużenie czasu ekstrakcji daje możliwość obniżenia temperatury oraz zmniejszenie stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika, bez strat dla maksymalizacji kryteriów. Można również zastosować podejście związane z możliwym obniżeniem temperatury procesu, przy wydłużeniu czasu ekstrakcji i zwiększeniu stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika dla uzyskania Pareto-optimalnych rozwiązań w zakresie maksymalizacji przedstawionych kryteriów.

Tabela 2. Zestaw wartości zmiennych decyzyjnych dla rozwiązań z frontu Pareto

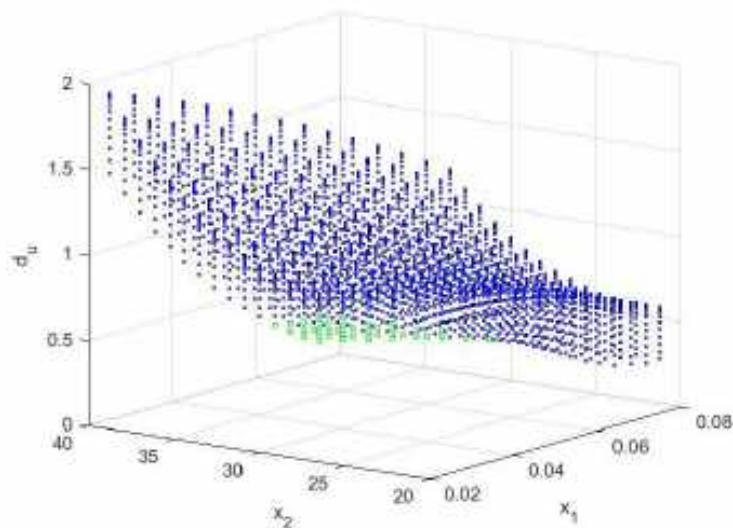
x <sub>1</sub> (stosunek biomasa/woda)	x <sub>2</sub> (czas)	x <sub>3</sub> (temperatura)
0,7140	35,7143	95,0000
0,0750	20,0000	95,0000
0,0750	37,1429	95,0000
0,0750	38,5714	95,0000
0,0750	40,0000	75,0000
0,0750	40,0000	86,4286
0,0750	40,0000	87,8571
0,0750	40,0000	89,2857
0,0750	40,0000	90,7143
0,0750	40,0000	92,1429
0,0750	40,0000	93,5714
0,0750	40,0000	95,0000

Zatem wyznaczenie frontów Pareto wykazało, że dla maksymalizacji pozyskiwania związków bioaktywnych z korzeni *Levisticum officinale*, należy zastosować optymalne parametry procesu ekstrakcji, których wartości wynosiły 0,7140 g/ml jako stosunek biomasy do wody oraz czas 35,7142 min, przy najwyższej analizowanej temperaturze. Dla maksymalnej analizowanej wartości współczynnika biomasy roślinnej i rozpuszczalnika oraz maksymalnej temperatury procesu można prowadzić ekstrakcję przez 20 minut lub w zakresie od 37,1429 do 38,5714 minut. Natomiast przy założeniu, że czas ekstrakcji osiąga 40 minut, a stosunek biomasa korzeni/woda 0,0750 g/ml, temperatura procesu mieści się w zakresie od 75°C do 95°C.

Podkreślić należy, że efektem optymalizacji wielokryterialnej jest wskazanie wielu zestawów możliwych rozwiązań w obszarze ograniczeń, nałożonych przez decydenta. Na tym etapie pojawia się „zamiar” tzw. analizy postoptymalizacyjnej, czyli procesu interpretacji uzyskanych wyników i poszukiwania satysfakcjonującego rozwiązania. Jednak w obu metodach poza procedurami optymalizacyjnymi nieprzecenione znaczenie mają wiedza i doświadczenie osób, podejmujących ostateczną decyzję. Rysunki 17 i 18 stanowią jasny przekaz o dużej złożoności rozpatrywanego problemu badawczego, co w bezpośredni sposób utrudnia wybór jednej najlepszej odpowiedzi i znalezienie jednego najlepszego rozwiązania (wyznaczono zbiory). Zatem spośród wszystkich optymalnych rozwiązań, najlepsze rozwiązanie można wybrać na nieskończoną liczbę sposobów za pomocą wielu metod. Jedną z takich metod jest np. VIKOR (San Cristóbal, 2011 Ramirez-Atencia i in., 2020). Metoda ta wspomaga problemy decyzyjne, w których kryteria są np. niewspółmierne (posiadają różne jednostki). W metodzie tej, decydent poszukuje rozwiązania kompromisowego, które jest najbliższe założonemu ideałowi. W takich przypadkach odległości, są najczęściej stosowane jak tzw. miary kardynalne. Mogą być one reprezentowane przez odległość Euklidesowa, Czebyszewa lub Manhattanu (Szádóczi i in., 2023).

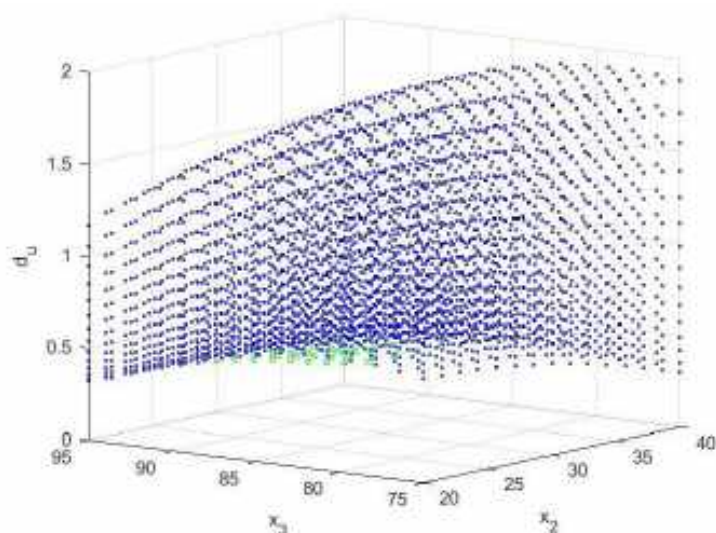
Uzyskanie i analiza rozwiązań kompromisowych jest uważana za stosunkowo prostą i skuteczną metodę wyboru i podejmowania decyzji dla decydentów, gdyż zapewnia podstawę porozumienia, opartego na wzajemnych ustępstwach (Szparaga i in., 2019). Jedno z nich zakłada, że niektóre punkty Pareto mogą być określane jako „lepsze” od innych. Prowadzi to do tzw. redukcji zbioru Pareto bazując na opracowaniu miary efektywności dla każdego punktu Pareto. Na potrzeby analizy procesu ekstrakcji wodnej związków bioaktywnych z korzeni *Levisticum officinale* wybrano znalezienie rozwiązań kompromisowych z wykorzystaniem metody wielowymiarowych metryk euklidesowych, czyli osiągalnych preferowanych rozwiązań na froncie Pareto z minimalną odległością od punktu Utopii ( $d_U$ ).

Na rysunkach 21-23 przedstawiono rozwiązania Pareto-optymalne z minimalną odległością od punktu Utopii (rozwiązania kompromisowe).



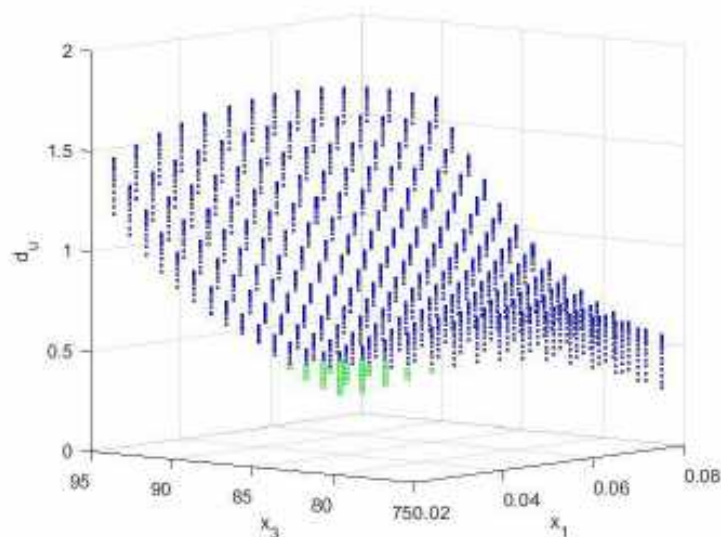
Rysunek 21. Zestawy rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (czas). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Wykazano, że dla uzyskania satysfakcjonujących rozwiązań ze zbioru Pareto (rys. 21) w procesie ekstrakcji można zastosować wysokie wartości stosunku biomasy z *Levisticum officinale* do wody, co pozwoli na obniżenie czasu procesu. Natomiast odwrotna zależność, wynikająca z wykorzystania analizy minimalnej odległości od punktu Utopii, wskazała, że wydłużenie czasu procedury ekstrakcji pozwoli w efekcie na zmniejszenie ilości zużywanej biomasy roślinnej. Wydaje się to być niezwykle ważnym wnioskiem, płynącym z zastosowania metody redukcji zestawu rozwiązań Pareto-optimalnych. Przekłada się to bowiem na płynną i intuicyjną możliwość sterowania procesem ekstrakcji dla satysfakcjonującej maksymalizacji poziomu związków bioaktywnych, o potencjale biologicznym.



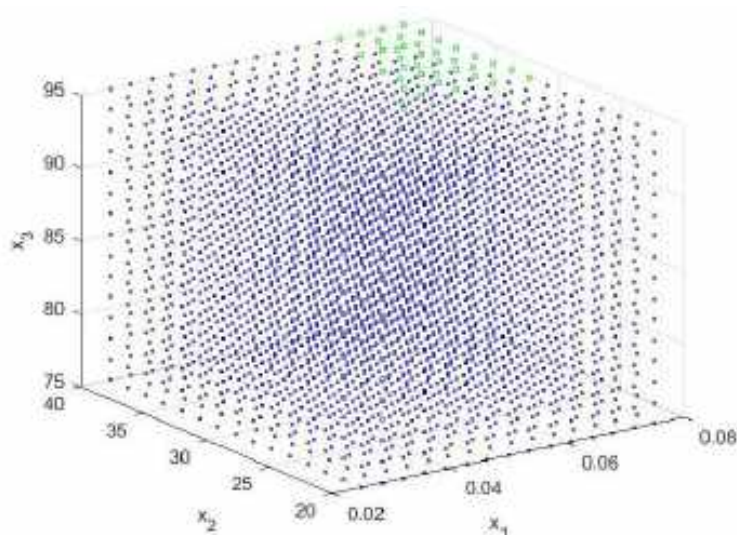
Rysunek 22. Zestawy rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (temperatura). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Podobne wnioski płynęły z kolejnej analizy. Stwierdzono, że dla osiągnięcia satysfakcjonujących rozwiązań ze zbioru rozwiązań Pareto-optimalnych (rys. 22) dla ekstrakcji istnieje możliwość zastosowania wysokich wartości temperatury, co w konsekwencji prowadzi do możliwości obniżenia czasu procesu. Dodatkowo wykazano, że skrócenie czasu procesu będzie możliwe przy zastosowaniu wyższych temperatur. Podobne możliwości decydowania o parametrach procesu ekstrakcji wykazano dla zależności pomiędzy temperaturą a stosunkiem biomasy z korzeni do rozpuszczalnika. Możliwe jest bowiem osiąganie satysfakcjonujących rozwiązań kompromisowych przy obniżeniu temperatury ekstrakcji, ale przy zwiększeniu analizowanego wskaźnika biomasy do wody (rys. 23). Powyższe wskazówki mogą być niezwykle cenne z punktu widzenia świadomego sterowania procesem dla maksymalizacji pozyskiwanych związków biologicznie czynnych.



Rysunek 23. Zestawy rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda) i  $x_3$  (temperatura). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Zestawy rozwiązań kompromisowych w przestrzeni 3D (układ trzech zmiennych decyzyjnych) przedstawiono na rysunku 24. Wykazano, że dzięki roli decydenta, możliwe jest uzyskanie większej liczby satysfakcjonujących rozwiązań kompromisowych, które pozwolą na łatwiejsze podejmowanie decyzji w zakresie procesu ekstrakcji związków aktywnych z korzeni *Levisticum officinale*.



Rysunek 24. Ilustracja rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (temperatura). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Rozwiązania kompromisowe w tabeli numer 3 to liczba rozwiązań, których odległość od punktu Utopii była mniejsza od 0,29. Zestaw rozwiązań kompromisowych w przestrzeni zmiennych decyzyjnych przedstawiono w tabeli numer 3. Prawdopodobne jest uznanie otrzymanej odpowiedzi jako rozwiązanie najlepsze ze wszystkich otrzymanych rozwiązań Pareto pod względem zadośćuczynienia wszystkim kryteriom.

Tabela 3. Rozwiązania kompromisowe w przestrzeni zmiennych decyzyjnych

$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (czas)	$x_3$ (temperatura)
0,0643	40,0000	95,0000
0,0679	37,1429	95,0000
0,0679	38,5714	95,0000
0,0679	40,0000	93,5714
0,0679	40,0000	95,0000
0,0714	32,8571	95,0000
0,0714	34,2857	95,0000
0,0714	35,7143	93,5714
0,0714	37,1429	95,0000
0,0714	37,1429	93,5714
0,0714	38,5714	95,0000
0,0714	38,5714	92,1429
0,0714	38,5714	93,5714
0,0714	40,0000	95,0000

0,0714	40,0000	92,1429
0,0714	40,0000	93,5714
0,0714	30,0000	95,0000
0,0750	31,4286	95,0000
0,0750	32,8571	95,0000
0,0750	32,8571	93,5714
0,0750	34,2857	95,0000
0,0750	34,2857	93,5714
0,0750	35,7143	95,0000
0,0750	35,7143	92,1429
0,0750	35,7143	93,5714
0,0750	37,1429	95,0000
0,0750	37,1429	92,1429
0,0750	37,1429	93,5714
0,0750	38,5714	95,0000
0,0750	38,5714	90,7143
0,0750	38,5714	92,1429
0,0750	38,5714	93,5714
0,0750	40,0000	95,0000
0,0750	40,0000	89,2857
0,0750	40,0000	90,7143
0,0750	40,0000	92,0143
0,0750	40,0000	93,5714
0,0750	40,0000	95,0000

W dostępnej literaturze niewiele jest informacji na temat wykorzystania optymalizacji wielokryterialnej w procesach ekstrakcji. Najczęściej badacze wykorzystują metodę RSM (z ang. Response Surface Methodology). Vázquez i in. (2012), Jerez i in. (2006) i oraz Saha i in. (2011) stwierdzili, że w przypadku wykorzystania metod RSM dla maksymalizacji pozyskiwania związków fenolowych oraz potencjału przeciwutleniającego istniały rozbieżności w znaczeniu współczynników modelu kwadratowego, co przypisywali szczególnej strukturze i składzie matryc roślinnych, które zawierają różne związki fenolowe, a także inne składniki, które mogą mieć wpływ na ich ekstrakcję. Viacava i in. (2015) podkreślili, że ze względu na fakt, iż każdy układ biologiczny może wykazywać odmienną

reakcję na warunki ekstrakcji, niezwykle istotna jest optymalizacja parametrów procesu w każdej matrycy roślinnej, przy założeniu, że wykorzystane będą nie tylko różne techniki projektowania eksperymentów, ale również analiza postoptymalizacyjna.

Wśród rozwiązań Pareto-optymalnych i kompromisowych (przy założeniu, że funkcja celu określała jednoczesną maksymalizację potencjału przeciwutleniającego i poziomów związków bioaktywnych) dominowała podwyższona wartość zmiennej decyzyjnej  $x_3$  (temperatura procesu). Znajduje to odzwierciedlenie w badaniach Chethan i Malleshi (2007), którzy potwierdzili, że podwyższone temperatury wspomagają proces ekstrakcji związków bioaktywnych, co powiązali z faktem zwiększonej rozpuszczalności, podwyższonych współczynników dyfuzji oraz zmniejszeniem napięcia powierzchniowego. Zdaniem badaczy wyższa wydajność ekstrakcji związków fenolowych może wynikać także z osłabienia wiązań pomiędzy fenolami i węglowodanami. Jednak badania Viacava i in. (2015), w których analizowali krytyczne parametry dla procesów ekstrakcji wykazały, że podwyższenie temperatury procesu sprzyja ekstrakcji związków przeciwutleniających, jednak analizować należy poszczególne typy ekstrakcji, w tym rodzaj wykorzystywanego rozpuszczalnika (Chethan i Malleshi, 2007).

Podsumowując prowadzone badania należy podkreślić, że optymalizacja ekstrakcji jest niezwykle ważnym narzędziem, wspomagającym projektowanie procesu pod względem nie tylko strony ekonomicznej, związanej z kontrolowaniem parametrów procesu, ale również pod względem wytwarzania produktów o satysfakcjonującym składzie dla wielu zastosowań (żywność, farmacja, rolnictwo). Optymalizacja wieloobiektowa oraz wielokryterialna procedura podejmowania decyzji umożliwiają wskazanie parametrów procesów ekstrakcyjnych, które są nie do zaakceptowania dla końcowej jakości produktu. Pozwala to również na ograniczenie konieczności prowadzenia wielu kosztownych i czasochłonnych badań eksperymentalnych. Dodatkowo wizualizacja graficzna rozwiązań Pareto-optymalnych i kompromisowych jest niezwykle ważna i pomocna nie tylko w sensie podjęcia decyzji o wyborze rozwiązań, ale umożliwia także stosunkowo intuicyjną obserwację i identyfikację zależności pomiędzy zmiennymi i różnymi reakcjami systemu biologicznego oraz kryteriami (Bystrzanowska i Tobiszewski, 2019).

## 4.2. Podsumowanie badań nad optymalizacją konwencjonalnej ekstrakcji wielokryterialnej

Ekstrakcja wodna biomasy roślinnej jest skomplikowanym procesem, na który wpływa wiele czynników. W ramach badań własnych analizowano ekstrakcję opartą na ekologicznych procedurach, dla zmaksymalizowania wydajności pozyskiwania całkowitej zawartości fenoli, flawonoidów, cukrów oraz potencjału przeciwutleniającego z korzeni *Levisticum officinale*, przy wykorzystaniu wody jako rozpuszczalnika przyjaznego dla środowiska. Ze względu na aktualne dążenia do wprowadzenia zasad zielonej chemii i zgodnie z Europejskim Zielonym Ładem zastosowanie metod optymalizacyjnych wpisuje się w te trendy badawcze, ze względu na wspomaganie projektowania procesów, z uwzględnieniem zmniejszenia ich natychmiastowego i długoterminowego wpływu na środowisko. Wykazano, że wielokryterialna optymalizacja ekstrakcji wodnej jest niezwykle użyteczną techniką dla określenia optymalnych warunków procesu w celu uzyskania ekstraktów z korzeni *Levisticum officinale*, charakteryzujących się maksymalnym poziomem związków biologicznie czynnych. Dzięki takiemu podejściu uzyskano także szeroki zakres informacji na temat procesu, bez konieczności wykonywania wielu eksperymentów. Taka procedura jest niezwykle ważna z punktu widzenia możliwości wykorzystania ekstraktów roślinnych w wielu dziedzinach i branżach przemysłowych. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że przyjęte procedury modelowania wpływu poszczególnych czynników procesu na analizowane kryteria są poprawne, a stworzone modele w bardzo dobrym stopniu odzwierciedlają proces. Zatem można je było wykorzystać do wielokryterialnej optymalizacji, w której optymalizowano zmienne decyzyjne procesu dla maksymalizacji poszczególnych kryteriów. Procedury optymalizacyjne pokazały dużą złożoność rozpatrywanego problemu badawczego, co w bezpośredni sposób utrudnia wybór jednej najlepszej odpowiedzi i znalezienie jednego najlepszego rozwiązania. Zatem wyznaczono zbiory rozwiązań. Analiza frontów Pareto pokazała, że dla maksymalnej wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych z *Levisticum officinale*, optymalne parametry procesu ekstrakcji wynosiły 0,7140 g/ml jako stosunek biomasy do wody oraz czas 35,7142 minut, przy najwyższej analizowanej temperaturze. Dla najwyższej analizowanej wartości stosunku biomasy roślinnej i rozpuszczalnika (0,075 g/ml) oraz maksymalnej temperatury procesu (95°C) można prowadzić ekstrakcję przez 20 minut lub w zakresie 37,1429-38,5714 minut. Natomiast przy założeniu, że czas ekstrakcji osiąga

40 minut, a współczynnik biomasa/woda 0,075 g/ml, optymalna temperatura procesu mieści się w zakresie od 75°C do 95°C.

Podsumowując, konwencjonalną ekstrakcję można zastosować jako bezpieczną metodę (nie wymagającą wykorzystywania szkodliwych dla środowiska rozpuszczalników), wytwarzania bogatych w bioaktywne związki ekstraktów z *Levisticum officinale*. Zoptymalizowane ekstrakty można wykorzystać do opracowania nowych preparatów biostymulujących dla rolnictwa lub żywności funkcjonalnej lub kosmetyków naturalnych.

### **4.3. Efekty optymalizacji ekstrakcji wodnej wspomaganiej mikrofalowo dla maksymalizacji pozyskiwania biozwiązków z korzeni *Levisticum officinale***

Pierwszym krokiem do wielokryterialnej optymalizacji ekstrakcji wspomaganiej mikrofalowo (MAE), było zbudowanie adekwatnych modeli odpowiedzi (kryteriów) TPC, TFC, TAA i RSC, dla parametrów wejściowych procesu (stosunek biomasy do rozpuszczalnika, czas oddziaływania mikrofal oraz moc mikrofal). Zaproponowane i stworzone modele zestawiono w równaniach 24-27 oraz w tabeli 4 dla poszczególnych kryteriów decyzyjnych wraz z wyznaczonymi współczynnikami wielokryterialnych modeli ekstrakcji. Wpływ zmiennych decyzyjnych (parametrów procesu ekstrakcji) na efektywność ekstrahowania związków fenolowych, flawonoidów, węglowodanów oraz potencjał przeciwutleniający przedstawiają rysunki nr 25-28. Model regresji dla całkowitej zawartości fenoli przedstawiono równaniem 24.

$$TPC = 1235,24 + (-2407,77) * x_1 + (-2,67) * x_2 + (-6,71) * x_3 + 5,59 * x_1 * x_2 + 22,32 * x_1 * x_3 + 0,012 * x_2 * x_3 + (-2830,27) * x_1^2 + 0,0013 * x_2^2 + (-0,012) * x_3^2 \quad (24)$$

Współczynnik  $R^2$ , wynoszący 0,813 w odpowiednim stopniu zgodny z wartością współczynnika  $AdjR^2$  0,716 (różnica 0,097), przy wartości MSE (Średni kwadratowy błąd przewidywania) 212,794 (tab. 4), wskazuje, że model dla całkowitej zawartości polifenoli (TPC) może być wykorzystywany do poruszania się po przestrzeni projektowej.

Tabela 4. Wskaźniki dopasowania modelu do wyników eksperymentów i statystyka F dla kryteriów decyzyjnych

Kryteria	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	a <sub>5</sub>	a <sub>6</sub>	a <sub>7</sub>	a <sub>8</sub>	a <sub>9</sub>
K <sub>1</sub>	1235,24	-2407,77	-2,67	-6,71	5,59	22,32	0,012	-2830,27	0,0013	-0,012
K <sub>2</sub>	653,74	12338,19	-1,16	-5,36	11,97	-47	0,0061	-161198	0,0003	0,036
K <sub>3</sub>	201,53	1578,34	-0,59	0,558	0,257	-3,42	0,0006	-13650,1	0,00042	-0,0067
K <sub>4</sub>	2,95	-235,05	0,051	-0,07	-0,29	-1,73	0,00021	4189,67	-3,43	-0,00046

Wskaźniki dopasowania modelu do wyników eksperymentalnych dla celów decyzyjnych				
Wskaźniki	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>
MSE	2127,94	1606,76	16,41	2,45
R <sup>2</sup>	0,713	0,821	0,82	0,89
Dopasowany R <sup>2</sup>	0,561	0,726	0,7225	0,83

F statystyka i p - wartości dla kryteriów decyzyjnych				
F statystyka	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>
sse	3,62E+04	2,73E+04	278,85	41,73
dfe	17	17	17	17
dfr	9	9	9	9
ssr	8,97e+04	1,25e+05	1,26e+03	3,18e+02
pval	3,10e-03	8,51e-05	9,29e-05	2,64e-06

Legenda: sse - Suma błędów podniesionych do kwadratu (reszt), określona jako wartość liczbowa; ssr - Suma kwadratów wynikająca z regresji (SSR) lub wyjaśniona suma kwadratów (ESS) to suma różnic między wartością przewidywaną a średnią zmiennej zależnej, pval - A wektor wartości p do sprawdzania, czy elementy b są 0.

Modele regresji dla całkowitej zawartości flawonoidów (kryterium K<sub>2</sub>) oraz całkowitego potencjału przeciwutleniającego (kryterium K<sub>3</sub>) równie dobrze odzwierciedlały dane eksperymentalne (równanie 25-26).

$$TFC = 653,74 + 1238,19 * x_1 + (-1,16) * x_2 + (-5,36) * x_3 + 11,97 * x_1 * x_2 + (-46,98) * x_1 * x_3 + 0,0061 * x_2 * x_3 + (-16119,8) * x_1^2 + 0,0003 * x_2^2 + 0,036 * x_3^2 \quad (25)$$

$$TAA = 201,53 + 1578,34 * x_1 + (-0,59) * x_2 + 0,558 * x_3 + 0,257 * x_1 * x_2 + (-3,42) * x_1 * x_3 + 0,0006 * x_2 * x_3 + (-13650,1) * x_1^2 + 0,00042 * x_2^2 + (-0,0067) * x_3^2 \quad (26)$$

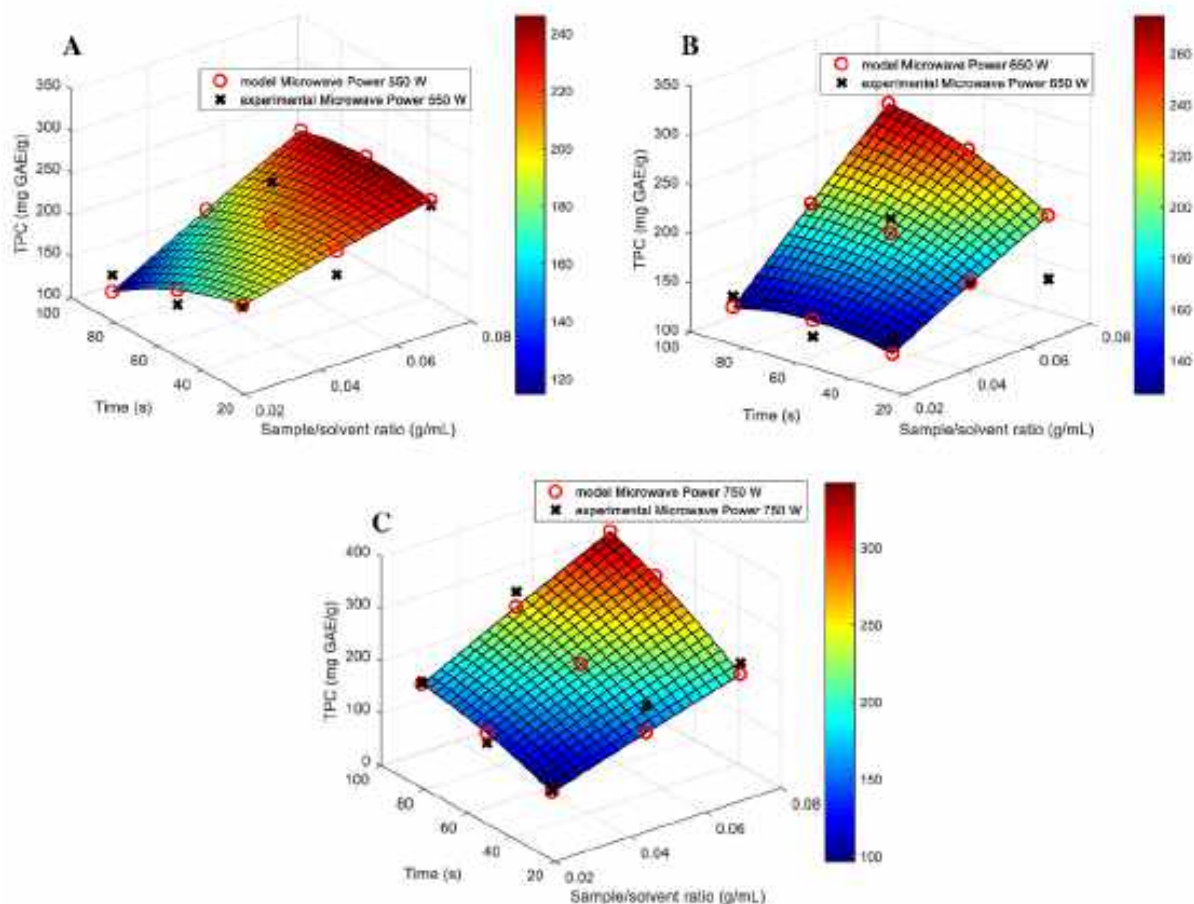
Wyznaczone wartości współczynników R<sup>2</sup> wynosiły odpowiednio 0,821 oraz 0,820. Natomiast skorygowane wartości R<sup>2</sup> (AdjR<sup>2</sup>) osiągnęły poziom 0,7260 oraz 0,7225. W związku z tym stwierdzono, że do procedury optymalizacyjnej parametrów ekstrakcji MAE, dla maksymalizacji kryteriów K<sub>2</sub> oraz K<sub>3</sub> można zastosować wygenerowane równania wielomianowe.

Równanie regresji dla RSC przedstawia równanie 27.

$$RSC = 2,95 + (-235,05) * x_1 + 0,051 * x_2 + (-0,07) * x_3 + (-0,29) * x_1 * x_2 + (-1,73) * x_1 * x_3 + 0,00021 * x_2 * x_3 + 4189,67 * x_1^2 + (-3,43) * x_2^2 + (-0,00046) * x_3^2 \quad (27)$$

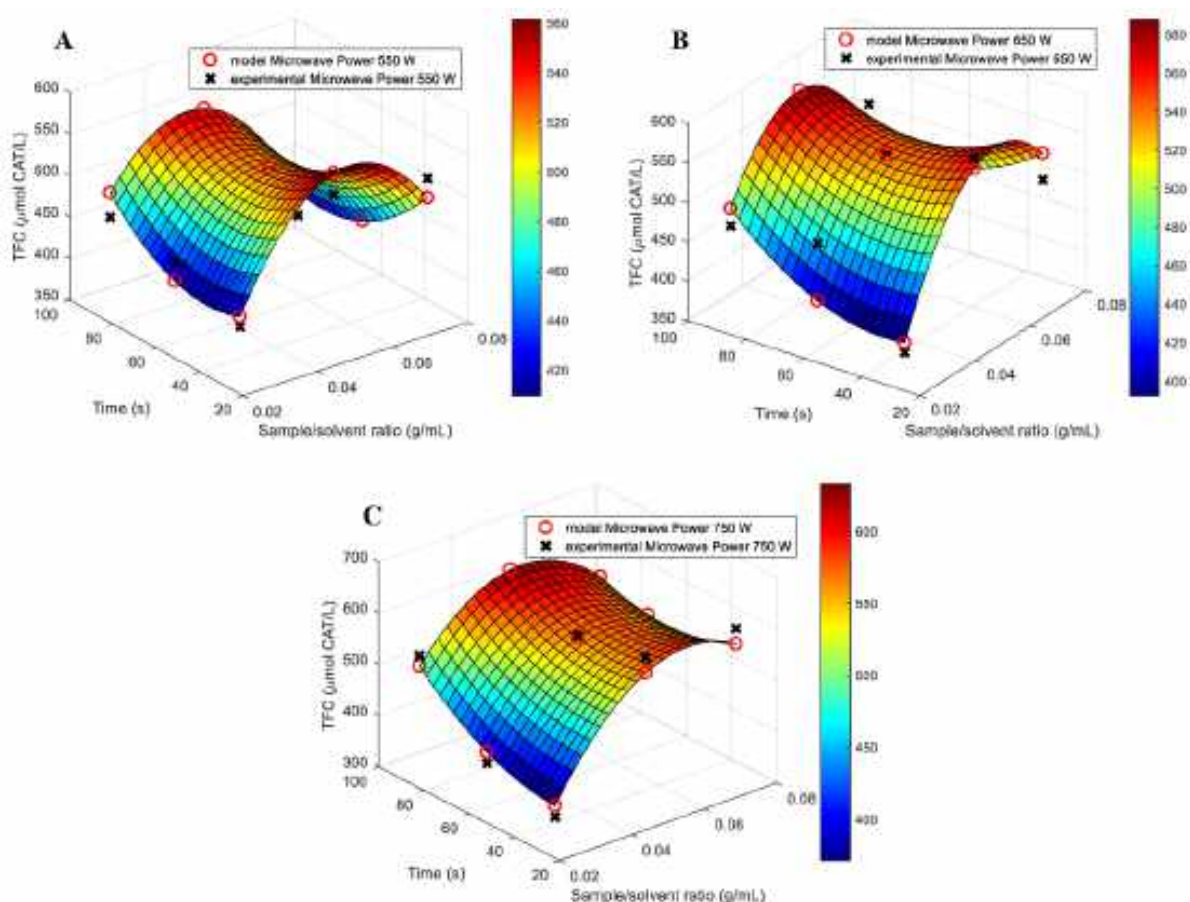
Najlepsze dopasowanie modeli do wyników eksperymentalnych uzyskano dla RSC (zawartość cukrów redukujących). W przypadku tego kryterium  $R^2$  wyniósł 0,8900, przy skorygowanej wartości tego wskaźnika, wynoszącej 0,8300 (różnica 0,0600). Wskazuje to zatem na zdolność predykcyjną modelu dla RSC.

Wykazano, że analizowane parametry procesowe tj. stosunek biomasy do rozpuszczalnika, czas procesu oraz moc mikrofal determinowały efektywność ekstrakcji związków fenolowych (TPC) (rys. 25). Zwiększona moc mikrofal, na poziomie 650 i 750 W prowadziła do zwiększonego poziomu TPC w ekstraktach wodnych. Podobne efekty obserwowano w przypadku wydłużenia czasu oddziaływania mikrofal na biomasę roślinną w rozpuszczalniku. Wysoki całkowity poziom związków fenolowych w ekstraktach był wynikiem procedury ekstrakcyjnej, w której stosunek biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody był najwyższy. Ekstrakty, pozyskane przy zachowaniu wskaźnika próbki roślinnej do ekstrahenta, wynoszącej 0,075 g/ml, charakteryzowały się wyższą pulą całkowitą związków fenolowych.



Rysunek 25. Wartości doświadczalne i przewidywane (funkcja regresji z interpolacją) dla TPC w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda, g/ml) i  $x_3$  (czas, s) dla A) mocy mikrofal  $x_2=550$  W, B) mocy mikrofal  $x_2=650$  W, C) mocy mikrofal  $x_2=750$  W. Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

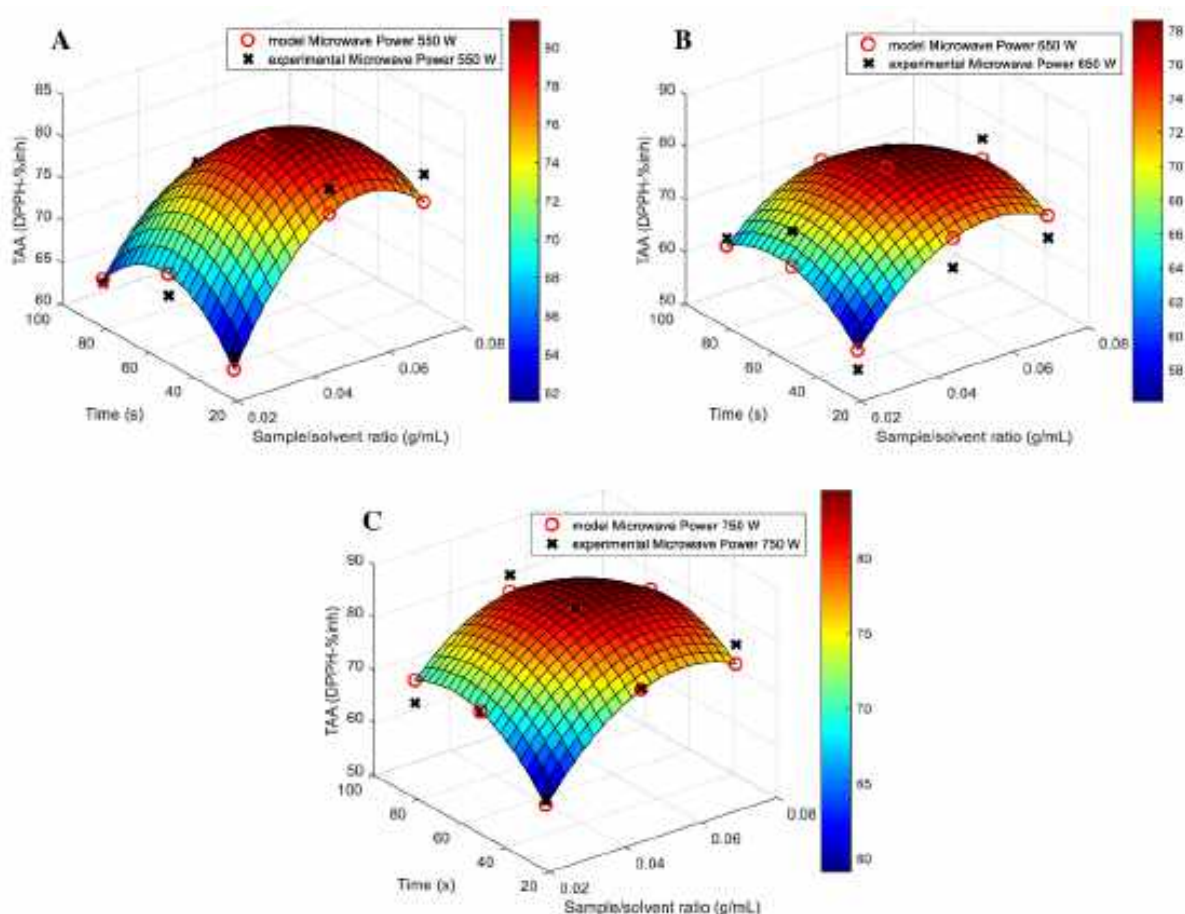
Odmienne obserwacje poczyniono w przypadku analizy całkowitej zawartości flawonoidów (TFC). Co prawda wszystkie parametry procesowe kształtowały wartość tego kryterium, jednak w zupełnie innym stopniu niż dla TPC. Wykazano, że przekroczenie granicy parametrów procesu ekstrakcji, prowadziło do spadku poziomu flawonoidów w ekstraktach (rys. 26). Generalnie wydłużenie procedury ekstrakcyjnej skutkowało podwyższoną zawartością TFC w analizowanych próbkach. Jednak w przypadku oceny wpływu stosunku biomasy korzeni *Levisticum officinale* do objętości rozpuszczalnika stwierdzono, że ekstrakcja flawonoidów osiągała zwiększone poziomy dla średniego analizowanego wskaźnika (0.050 g/ml). Dodatkowo stwierdzono, że przy zwiększonej mocy mikrofal, rzędu 650 i 750 W, obserwowano już podobne ilości flawonoidów w ekstraktach.



Rysunek 26. Wartości eksperymentalne i przewidywane (funkcja regresji z interpolacją) dla TFC w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda, g/ml) i  $x_3$  (czas, s) dla A) mocy mikrofal  $x_2=550$  W, B) mocy mikrofal  $x_2=650$  W, C) moc mikrofal  $x_2=750$  W. Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

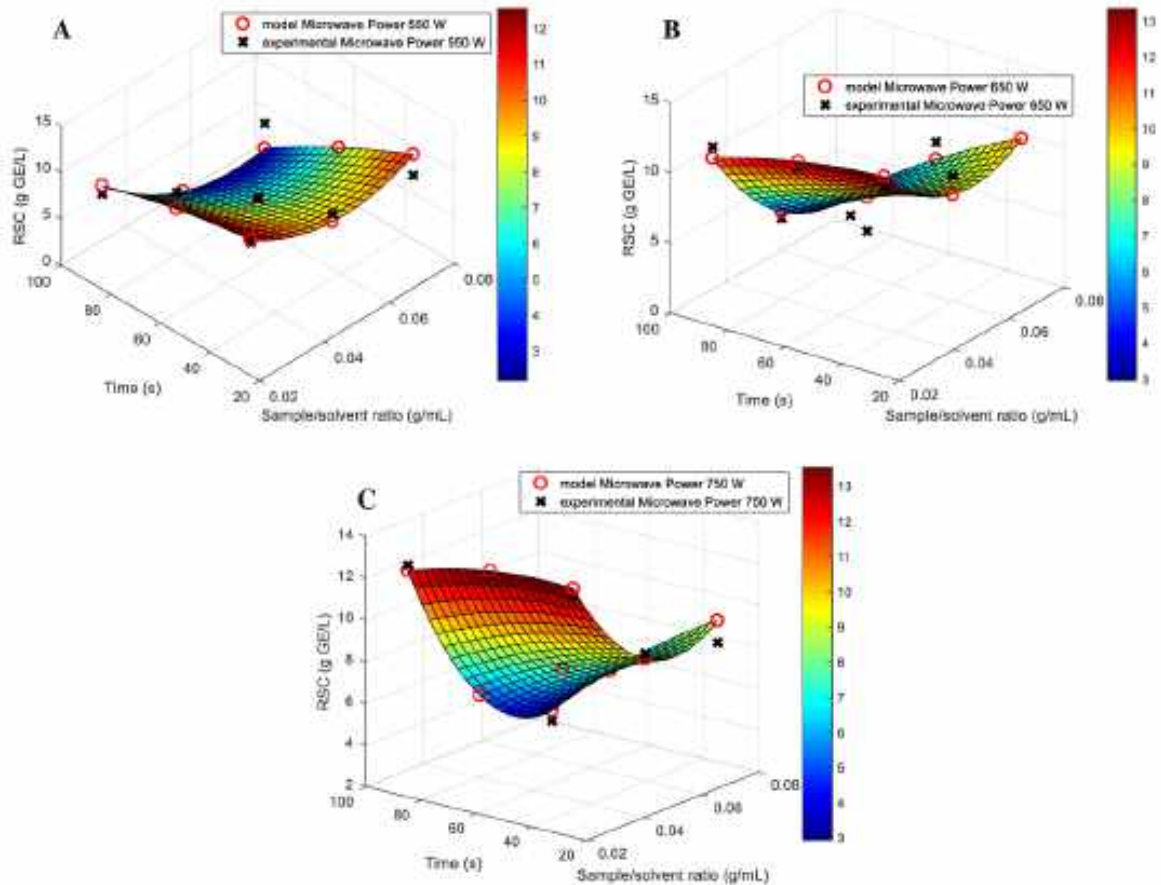
Podobne zależności, jak w przypadku analizy całkowitej zawartości flawonoidów, obserwowano przy ocenie całkowitego potencjału przeciwutleniającego (TAA). Odnotowano wystąpienie pewnego rodzaju ekstremum TAA, a po przekroczeniu pewnych granicznych wartości parametrów procesowych, analizowana cecha jakości ekstraktów

ulegała spadkowi (rys. 27). Dla zwiększenia aktywności przeciwutleniającej korzystniejszy okazał się średni analizowany czas procesu, jak również średni wskaźnik stosunku biomasy do wody (0,050 g/ml). Dodatkowo odnotowano, że najwyższa analizowana moc mikrofal, prowadziła do wytworzenia ekstraktów o wyższym potencjale przeciwutleniającym.



Rysunek 27. Wartości eksperymentalne i przewidywane (funkcja regresji z interpolacją) dla TAA w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda, g/ml) i  $x_3$  (czas, s) dla A) mocy mikrofal  $x_2=550$  W, B) mocy mikrofal  $x_2=650$  W, C) moc mikrofal  $x_2=750$  W. Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

W porównaniu z oceną TFC i TAA, zupełnie odmienną tendencję obserwowano dla analizy całkowitej zawartości cukrów redukujących RSC w ekstraktach. Wygenerowane modele wskazują na parametry, przy których nastąpił ich gwałtowny spadek (rys. 28). Miało to miejsce dla wartości wskaźnika biomasy do rozpuszczalnika, wynoszącego 0,050 g/ml. Wydłużenie czasu ekspozycji próbek na działanie mikrofal prowadziło do podwyższenia poziomu RSC. W przypadku analizy wpływu mocy mikrofal wykazano, że dla 550 i 650 W wystąpiły podobne koncentracje cukrów redukujących. Dopiero podwyższenie tego parametru, do maksymalnego analizowanego w eksperymencie, skutkowało zwiększonymi różnicami w RSC w ekstraktach.



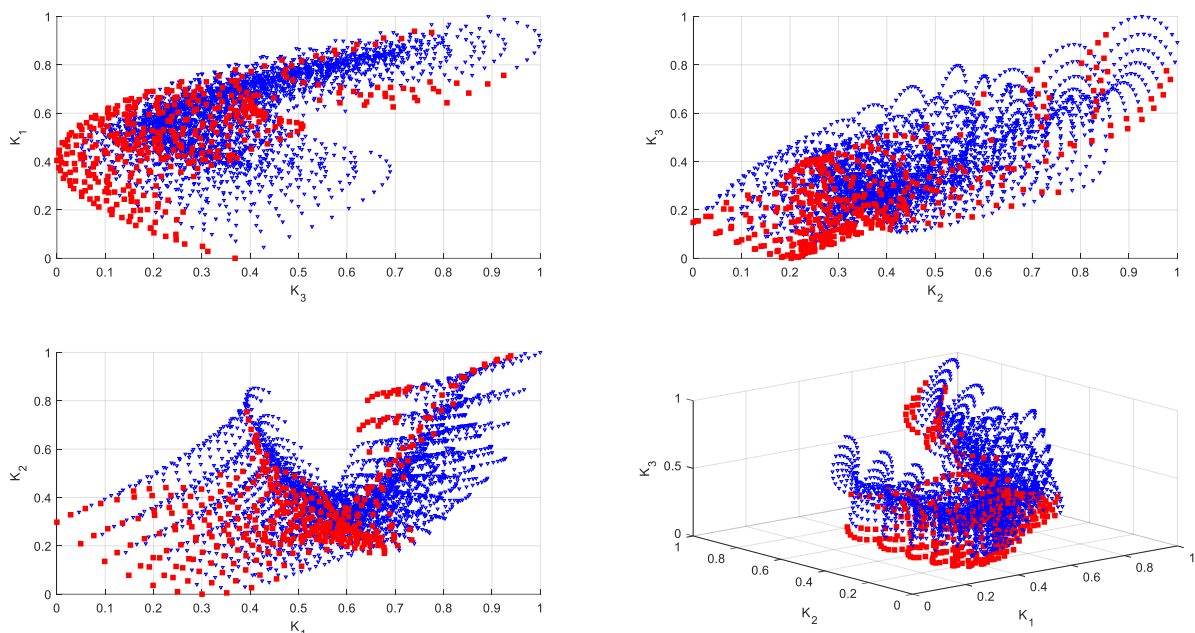
Rysunek 28. Wartości eksperymentalne i przewidywane (funkcja regresji z interpolacją) dla RSC w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda, g/ml) i  $x_3$  (czas, s) dla A) mocy mikrofal  $x_2=550$  W, B) mocy mikrofal  $x_2=650$  W, C) moc mikrofal  $x_2=750$  W. Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

Wygenerowane modele w postaci równań regresji wielowymiarowej, wspomaganą interpolacją równań wielomianów wielu zmiennych zostały wykorzystane następnie w procedurach optymalizacji wielokryterialnej (wieloobektowej). Zatem połączenie wszystkich równań, umożliwiło stworzenie tzw. modelu globalnego dla wielokryterialnej optymalizacji, który pozwolił na przewidywanie wielu sygnałów wyjściowych (TPC, TFC, TAA, RSC) w funkcji wejściowych parametrów procesowych ( $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$ ). Predykcyjne wyjścia (kryteria) wskazują na możliwość globalnego wglądu w całą badaną domenę efektywności procesu ekstrakcji, którą wyrażono w kategoriach maksymalizacji wartości poszczególnych kryteriów. Rysunki 29 i 30 przedstawiają fronty Pareto w dwuwymiarowej oraz trójwymiarowej przestrzeni kryteriów decyzyjnych (po normalizacji dla zmaksymalizowanych kryteriów 0 jest najlepszym scenariuszem). Ze względu na wykazany stopień skomplikowania, analiza problem badawczego wymagała wizualizacji wyników optymalizacji wielokryterialnej (rys. 31) z przedstawieniem zestawów rozwiązań Pareto-optymalnych w przestrzeni zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (Stosunek próbka/rozpuszczalnik),

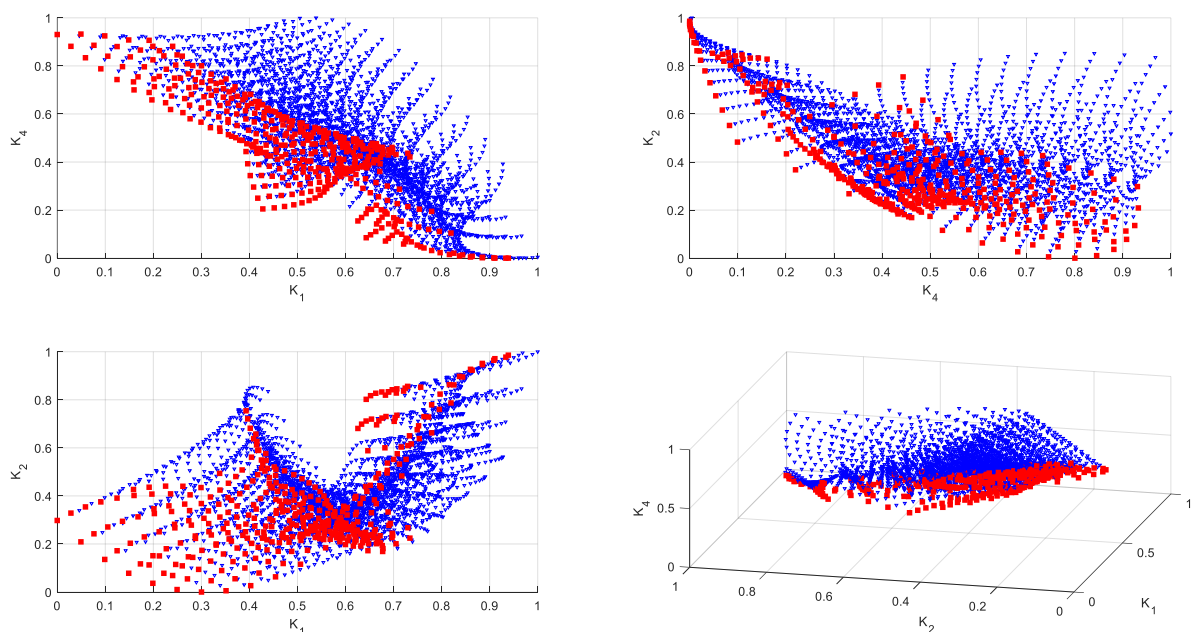
$x_2$  (moc mikrofal) i  $x_3$  (czas). Analiza frontów Pareto pokazała, że brzeg jest zbiorem wielospójnym. Podkreślić należy, że parametry procesowe ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo ( $x_1$ ,  $x_2$  i  $x_3$ ), miały jednocześnie wpływ na funkcję celu ze zidentyfikowaną dziedziną. Zatem matematyczny model czterocelowego problemu optymalizacji, wyznaczającego proces ekstrakcji, skupiał się na znalezieniu takich parametrów, aby  $x = (x_1^{opt}, x_2^{opt}, x_3^{opt})$  w analizowanej dziedzinie.

Wieloobiektowy front Pareto, pokazany na rysunku 29 otrzymany, w efekcie optymalizacji w przestrzeni zmiennych decyzyjnych (parametrów procesu ekstrakcji wspomaganej mikrofalowo) wskazuje na mnogość rozwiązań Pareto-optymalnych (możliwych scenariuszy dla podjęcia decyzji). Dowodzi to zatem konieczności rozpatrywania problemu maksymalizacji związków bioaktywnych w ekstraktach w aspekcie projekt - rzeczywista sytuacja (analiza procesu wyników optymalizacji z udziałem decydenta). Dlatego też decydent może wybrać parametry ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo w oparciu o wiedzę i preferencje, a także praktyczne wymagania techniczno-inżynierskie. W takim procesie podejmowania decyzji dużym ułatwieniem jest przedstawiony w trójwymiarowej przestrzeni zmiennych decyzyjnych zbiór rozwiązań Pareto optymalnych (na tle rozwiązań zdominowanych).

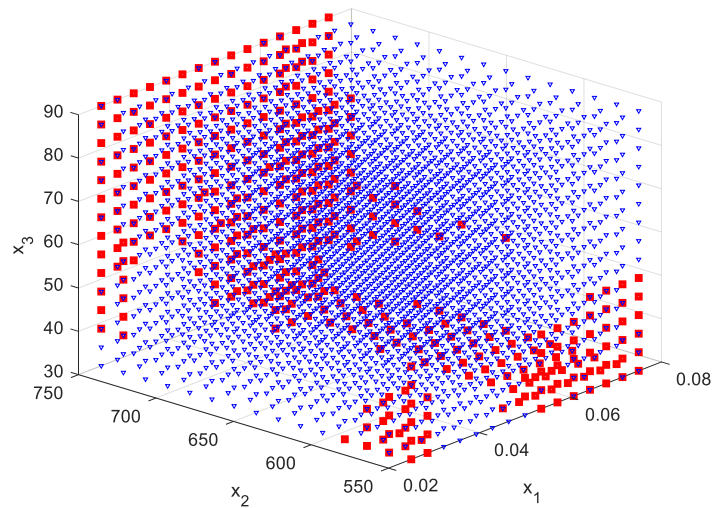
Dowodzono, że istnieje stosunkowo duży obszar niezdominowanych rozwiązań. Wykazano, że dla maksymalizacji czterech analizowanych kryteriów jakości ekstraktów z *Levisticum officinale* można wybrać wiele opcji. Przede wszystkim zastosować warunki brzegowe samego procesu, tj. wydłużenie czasu procesu ekstrakcji, a także zwiększenie mocy mikrofal i stosunku biomasy do wody. Druga opcja wskazuje, że osiągnięcie funkcji celu (maksymalizację kryteriów) przy niskim stosunku korzeni z lubczyku do ekstrahenta przy założeniu zwiększonej mocy mikrofal lub wydłużonego czasu ekspozycji na ich działanie. Natomiast zwiększenie stosunku biomasy do rozpuszczalnika pozwala na zmniejszenie mocy mikrofal i skrócenie procedury dla osiągnięcia satysfakcjonujących poziomów związków bioaktywnych. Poruszając się dalej w trójwymiarowej przestrzeni rozwiązań Pareto-optymalnych można dostrzec także, że wykorzystanie średnich mocy mikrofal i średnich stosunków biomasa/ekstrahent można skrócić czas całego procesu ekstrakcyjnego. Zatem tutaj pojawia się elastyczność możliwości podejmowania decyzji o sterowaniu procesem ekstrakcji wodnej, wspomaganej mikrofalowo.



Rysunek 29. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami  $K_1$  (TPC całkowita zawartość fenoli – zmaksymalizowana),  $K_2$  (TFC całkowita zawartość flawonoidów),  $K_3$  (całkowita aktywność przeciwutleniająca TAA). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto (front Pareto), kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.



Rysunek 30. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami  $K_1$  (TPC całkowita zawartość fenoli - zmaksymalizowana),  $K_2$  (TFC całkowita zawartość flawonoidów - zmaksymalizowana),  $K_4$  (RSC zawartość cukru redukującego). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane. Dla zmaksymalizowanych kryteriów 0 jest najlepszym scenariuszem



Rysunek 31. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (Stosunek próbka/rozpuszczalnik),  $x_2$  (moc mikrofal) i  $x_3$  (czas). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

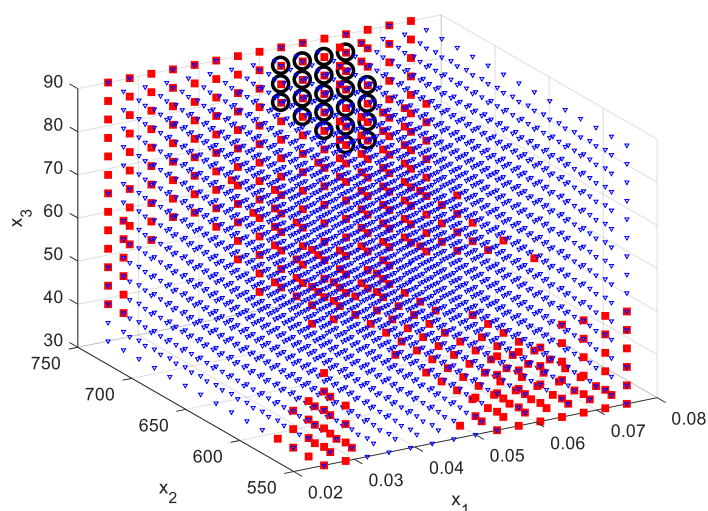
**Tabela 5.** Optymalne rozwiązania z frontu Pareto dla zmiennych decyzyjnych

$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)	$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)
0,0250	550,0000	30,0000	0,0607	721,4286	34,2857
0,0250	550,0000	34,2857	0,0607	735,7143	30,0000
0,0250	550,0000	38,5714	0,0607	735,7143	34,2857
0,0250	550,0000	42,8571	0,0607	735,7143	38,5714
0,0250	550,0000	47,1429	0,0607	735,7143	42,8571
0,0250	550,0000	51,4286	0,0607	735,7143	60,0000
0,0250	564,2857	30,0000	0,0607	735,7143	64,2857
0,0250	564,2857	34,2857	0,0607	735,7143	68,5714
0,0250	564,2857	38,5714	0,0607	735,7143	72,8571
0,0250	564,2857	42,8571	0,0607	735,7143	81,4286
0,0250	578,5714	30,0000	0,0607	735,7143	85,7143
0,0250	578,5714	34,2857	0,0607	735,7143	90,0000
0,0250	578,5714	38,5714	0,0607	750,0000	30,0000
0,0250	592,8571	30,0000	0,0607	750,0000	34,2857
0,0250	735,7143	38,5714	0,0607	750,0000	38,5714
0,0250	735,7143	42,8571	0,0607	750,0000	42,8571
0,0250	735,7143	47,1429	0,0607	750,0000	47,1429
0,0250	735,7143	51,4286	0,0607	750,0000	51,4286
0,0250	735,7143	55,7143	0,0607	750,0000	55,7143
0,0250	735,7143	60,0000	0,0607	750,0000	60,0000
0,0250	750,0000	38,5714	0,0607	750,0000	64,2857
0,0250	750,0000	42,8571	0,0607	750,0000	68,5714
0,0250	750,0000	47,1429	0,0607	750,0000	72,8571
0,0250	750,0000	51,4286	0,0607	750,0000	77,1429
0,0250	750,0000	55,7143	0,0607	750,0000	81,4286
0,0250	750,0000	60,0000	0,0607	750,0000	85,7143

0,0250	750,0000	64,2857	0,0607	750,0000	90,0000
0,0250	750,0000	68,5714	0,0643	550,0000	30,0000
0,0250	750,0000	72,8571	0,0643	550,0000	34,2857
0,0250	750,0000	77,1429	0,0643	550,0000	38,5714
0,0250	750,0000	81,4286	0,0643	550,0000	42,8571
0,0250	750,0000	85,7143	0,0643	550,0000	47,1429
0,0250	750,0000	90,0000	0,0643	550,0000	51,4286
0,0286	550,0000	30,0000	0,0643	564,2857	30,0000
0,0286	550,0000	34,2857	0,0643	578,5714	30,0000
0,0286	550,0000	38,5714	0,0643	592,8571	30,0000
0,0286	550,0000	42,8571	0,0643	607,1429	30,0000
0,0286	564,2857	30,0000	0,0643	621,4286	30,0000
0,0286	564,2857	34,2857	0,0643	635,7143	30,0000
0,0286	564,2857	38,5714	0,0643	650,0000	30,0000
0,0286	564,2857	42,8571	0,0643	664,2857	30,0000
0,0286	578,5714	30,0000	0,0643	678,5714	30,0000
0,0286	578,5714	34,2857	0,0643	692,8571	30,0000
0,0286	578,5714	38,5714	0,0643	707,1429	30,0000
0,0286	750,0000	51,4286	0,0643	721,4286	30,0000
0,0286	750,0000	55,7143	0,0643	721,4286	34,2857
0,0286	750,0000	60,0000	0,0643	721,4286	38,5714
0,0286	750,0000	64,2857	0,0643	735,7143	34,2857
0,0286	750,0000	68,5714	0,0643	735,7143	42,8571
0,0286	750,0000	72,8571	0,0643	735,7143	47,1429
0,0286	750,0000	77,1429	0,0643	735,7143	51,4286
0,0286	750,0000	81,4286	0,0643	735,7143	55,7143
0,0286	750,0000	85,7143	0,0643	735,7143	60,0000
0,0286	750,0000	90,0000	0,0643	735,7143	64,2857
0,0321	564,2857	30,0000	0,0643	735,7143	68,5714
0,0321	578,5714	30,0000	0,0643	735,7143	72,8571
0,0321	750,0000	51,4286	0,0643	735,7143	85,7143
0,0321	750,0000	55,7143	0,0643	735,7143	90,0000
0,0321	750,0000	60,0000	0,0643	750,0000	30,0000
0,0321	750,0000	64,2857	0,0643	750,0000	34,2857
0,0321	750,0000	68,5714	0,0643	750,0000	38,5714
0,0321	750,0000	72,8571	0,0643	750,0000	42,8571
0,0321	750,0000	77,1429	0,0643	750,0000	47,1429
0,0321	750,0000	81,4286	0,0643	750,0000	51,4286
0,0321	750,0000	85,7143	0,0643	750,0000	55,7143
0,0321	750,0000	90,0000	0,0643	750,0000	60,0000
0,0357	750,0000	55,7143	0,0643	750,0000	64,2857
0,0357	750,0000	60,0000	0,0643	750,0000	68,5714
0,0357	750,0000	64,2857	0,0643	750,0000	72,8571
0,0357	750,0000	68,5714	0,0643	750,0000	77,1429
0,0357	750,0000	72,8571	0,0643	750,0000	81,4286
0,0357	750,0000	77,1429	0,0643	750,0000	85,7143
0,0357	750,0000	81,4286	0,0643	750,0000	90,0000
0,0357	750,0000	85,7143	0,0679	550,0000	30,0000
0,0357	750,0000	90,0000	0,0679	550,0000	34,2857
0,0393	750,0000	55,7143	0,0679	550,0000	38,5714

0,0393	750,0000	60,0000	0,0679	550,0000	42,8571
0,0393	750,0000	64,2857	0,0679	550,0000	47,1429
0,0393	750,0000	68,5714	0,0679	550,0000	51,4286
0,0393	750,0000	72,8571	0,0679	564,2857	30,0000
0,0393	750,0000	77,1429	0,0679	578,5714	30,0000
0,0393	750,0000	81,4286	0,0679	592,8571	30,0000
0,0393	750,0000	85,7143	0,0679	607,1429	30,0000
0,0393	750,0000	90,0000	0,0679	621,4286	30,0000
0,0429	735,7143	64,2857	0,0679	635,7143	30,0000
0,0429	750,0000	51,4286	0,0679	650,0000	30,0000
0,0429	750,0000	55,7143	0,0679	664,2857	30,0000
0,0429	750,0000	60,0000	0,0679	678,5714	30,0000
0,0429	750,0000	64,2857	0,0679	692,8571	30,0000
0,0429	750,0000	68,5714	0,0679	707,1429	30,0000
0,0429	750,0000	72,8571	0,0679	721,4286	30,0000
0,0429	750,0000	77,1429	0,0679	735,7143	30,0000
0,0429	750,0000	81,4286	0,0679	735,7143	34,2857
0,0429	750,0000	85,7143	0,0679	735,7143	38,5714
0,0429	750,0000	90,0000	0,0679	735,7143	42,8571
0,0464	735,7143	55,7143	0,0679	735,7143	47,1429
0,0464	750,0000	42,8571	0,0679	735,7143	51,4286
0,0464	750,0000	47,1429	0,0679	735,7143	55,7143
0,0464	750,0000	51,4286	0,0679	735,7143	60,0000
0,0464	750,0000	55,7143	0,0679	735,7143	64,2857
0,0464	750,0000	60,0000	0,0679	735,7143	68,5714
0,0464	750,0000	64,2857	0,0679	735,7143	72,8571
0,0464	750,0000	68,5714	0,0679	750,0000	30,0000
0,0464	750,0000	72,8571	0,0679	750,0000	34,2857
0,0464	750,0000	77,1429	0,0679	750,0000	38,5714
0,0464	750,0000	81,4286	0,0679	750,0000	42,8571
0,0464	750,0000	85,7143	0,0679	750,0000	47,1429
0,0464	750,0000	90,0000	0,0679	750,0000	51,4286
0,0500	550,0000	34,2857	0,0679	750,0000	55,7143
0,0500	550,0000	38,5714	0,0679	750,0000	60,0000
0,0500	564,2857	30,0000	0,0679	750,0000	64,2857
0,0500	735,7143	38,5714	0,0679	750,0000	68,5714
0,0500	735,7143	47,1429	0,0679	750,0000	72,8571
0,0500	735,7143	51,4286	0,0679	750,0000	77,1429
0,0500	735,7143	55,7143	0,0679	750,0000	81,4286
0,0500	735,7143	60,0000	0,0679	750,0000	85,7143

Ze względu na wyznaczoną liczbę rozwiązań Pareto-optimalnych, zastosowano w kolejnym kroku podejście, związane z wprowadzaniem preferencji w procedurze optymalizacji. Wykorzystano metodę redukcji zbiorów Pareto, a nawigację po zbiorach prowadzono metodą aprioryczną bazującą na preferencjach procesu podejmowania decyzji do ukierunkowania znalezienia optymalnych rozwiązań na preferowany region, poprzez odmienne ważenie kryteriów i zainteresowanie alternatywnymi scenariuszami rozwiązań. Efekty takiego podejścia do redukcji zbioru rozwiązań przedstawiono na rysunku 32.



Rysunek 32. Wizualizacja rozwiązań smart Pareto na tle rozwiązań optymalnych z frontu Pareto w przestrzeni zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (moc mikrofal) i  $x_3$  (czas). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane, czarne punkty/koła oznaczają rozwiązania smart Pareto.

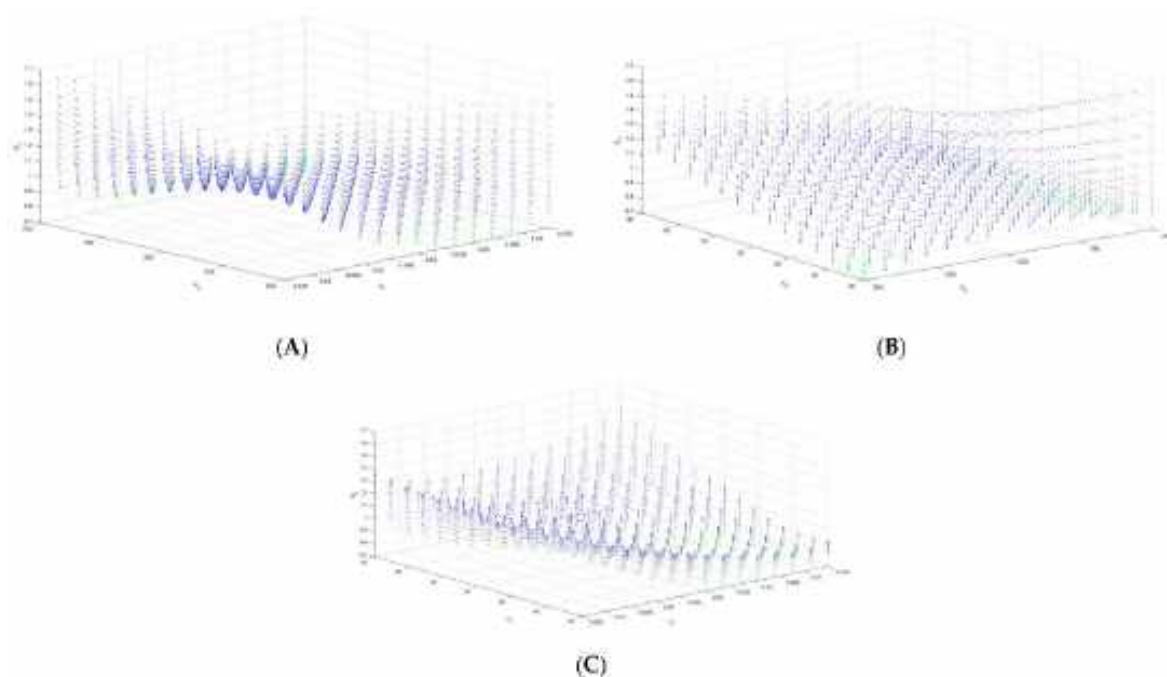
Redukcja rozwiązań z frontów Pareto i podejście tzw. Smart Pareto, pozwoliło uzyskać podzbiór rozwiązań optymalnych (rozwiązań preferowanych). Nadanie wag kryteriom pozwoliło na określenie większej ważności trzem pierwszym kryteriom jakości ekstraktów (tab. 6). W podziorach optymalnych wykazano, że dla satysfakcjonującego poziomu związków biologicznie czynnych, ekstrakcję wodną powinno się prowadzić przy maksymalnej mocy mikrofal na poziomie 750 W. Rozwiązania preferowane uzyskano dla stosunku biomasy *Levisticum officinale* do rozpuszczalnika w zakresie od 0,0536 g/ml do 0,0679 g/ml. Natomiast preferowany optymalny czas prowadzenia ekstrakcji wodnej wspomaganą mikrofalowo był rzędu od 64,2857 do 85,7143 sekund. Zatem dla maksymalizacji zawartości związków fenolowych, flawonoidów oraz potencjału przeciwutleniającego nie jest oczywiste, by ekstrakcja prowadzona była przy maksymalnych parametrach procesów.

Tabela 6. Redukcja rozwiązań z frontu Pareto- podzbiory rozwiązań optymalnych (Smart Pareto) dla zmiennych decyzyjnych

$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)	$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)
0.0536	750	77.1429	0.0607	750	85.7143
0.0536	750	81.4286	0.0643	750	64.2857
0.0536	750	85.7143	0.0643	750	68.5714
0.0571	750	72.8571	0.0643	750	72.8571
0.0571	750	77.1429	0.0643	750	77.1429
0.0571	750	81.4286	0.0643	750	81.4286
0.0571	750	85.7143	0.0643	750	85.7143

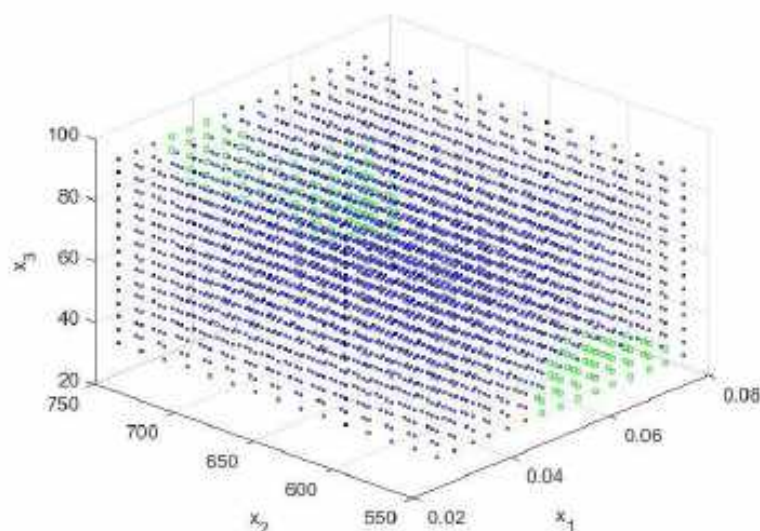
0.0607	750	68.5714	0.0679	750	64.2857
0.0607	750	72.8571	0.0679	750	68.5714
0.0607	750	77.1429	0.0679	750	72.8571
0.0607	750	81.4286	0.0679	750	77.1429

Kolejnym zaproponowanym etapem poszukiwania rozwiązań optymalnych była analiza post-Pareto, obejmująca określenie odległości punktów z frontu od idealnego „nieosiągalnego” punktu Utopii, bazując na dodatkowym wkładzie decydentów w decyzję, które rozwiązania kompromisowe zostaną zaakceptowane. Takie podejście umożliwiło zawężanie zbioru optymalnego Pareto, a jednocześnie pozwoliło na zapewnienie decydentowi dostępu do zbioru rozwiązań o praktycznym wymiarze. Zestawy rozwiązań kompromisowych w funkcji dwóch zmiennych decyzyjnych przedstawiono na rysunkach 33-34. Natomiast dla pełniejszej wizualizacji, rysunek 35 przedstawia zbiory rozwiązań kompromisowych w trójwymiarowej przestrzeni wszystkich analizowanych zmiennych/parametrów procesu ekstrakcji.



Rysunek 33. Zestawy rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych A)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda) i  $x_2$  (moc mikrofal), B)  $x_2$  (moc mikrofal) i  $x_3$  (czas), C)  $x_1$  (Stosunek próbka/rozpuszczalnik) i  $x_3$  (czas). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Analiza rozwiązań kompromisowych w przestrzeni zmiennych decyzyjnych pokazuje, że występują one w dwóch podzbiorach (rys. 34).



Rysunek 34. Ilustracja rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (moc mikrofal) i  $x_3$  (czas). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Zestaw Pareto – kompromisowych rozwiązań przedstawiono w tabeli 7. Minimalizacja odległości rozwiązań niezdominowanych od punktu Utopii, pokazując że dla jednoczesnej maksymalizacji kryteriów decyzyjnych, proces ekstrakcji może być sterowany w pewnych zakresach zmiennych decyzyjnych.

Tabela 7. Zestaw kompromisowych rozwiązań Pareto do ekstrakcji MAE

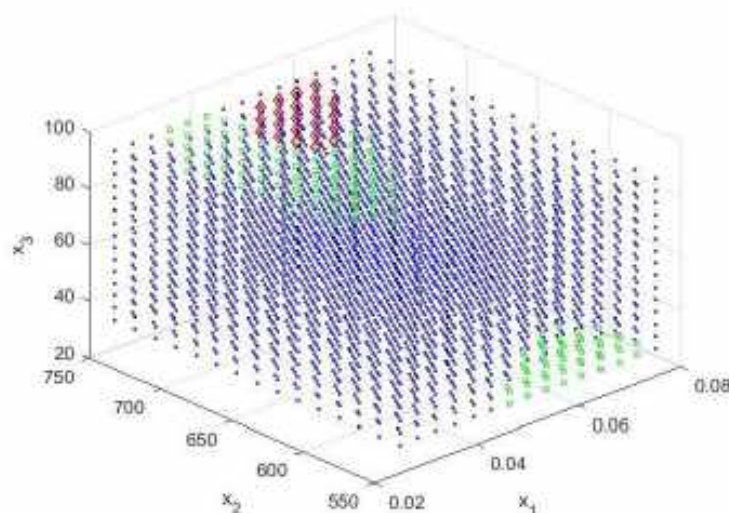
$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)	$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc mikrofal)	$x_3$ (czas)
0,0357	750,0000	85,7143	0,0643	564,2857	30,0000
0,0357	750,0000	90,0000	0,0643	564,2857	34,2857
0,0393	750,0000	72,8571	0,0643	564,2857	38,5714
0,0393	750,0000	77,1429	0,0643	578,5714	30,0000
0,0393	750,0000	81,4286	0,0643	578,5714	34,2857
0,0393	750,0000	85,7143	0,0643	578,5714	38,5714
0,0393	750,0000	90,0000	0,0643	592,8571	30,0000
0,0429	750,0000	68,5714	0,0643	721,4286	47,1429
0,0429	750,0000	72,8571	0,0643	721,4286	51,4286
0,0429	750,0000	77,1429	0,0643	721,4286	55,7143
0,0429	750,0000	81,4286	0,0643	735,7143	42,8571
0,0429	750,0000	85,7143	0,0643	735,7143	47,1429
0,0429	750,0000	90,0000	0,0643	735,7143	51,4286
0,0464	550,0000	30,0000	0,0643	735,7143	55,7143
0,0464	550,0000	34,2857	0,0643	735,7143	60,0000
0,0464	750,0000	64,2857	0,0643	750,0000	38,5714
0,0464	750,0000	68,5714	0,0643	750,0000	42,8571
0,0464	750,0000	72,8571	0,0643	750,0000	47,1429
0,0464	750,0000	77,1429	0,0643	750,0000	51,4286
0,0464	750,0000	81,4286	0,0643	750,0000	55,7143
0,0464	750,0000	85,7143	0,0643	750,0000	60,0000
0,0500	550,0000	30,0000	0,0643	750,0000	64,2857

0,0500	550,0000	34,2857	0,0679	550,0000	30,0000
0,0500	550,0000	38,5714	0,0679	550,0000	34,2857
0,0500	564,2857	30,0000	0,0679	550,0000	38,5714
0,0500	750,0000	60,0000	0,0679	564,2857	30,0000
0,0500	750,0000	64,2857	0,0679	564,2857	34,2857
0,0500	750,0000	68,5714	0,0679	564,2857	38,5714
0,0500	750,0000	72,8571	0,0679	578,5714	30,0000
0,0500	750,0000	77,1429	0,0679	578,5714	34,2857
0,0500	750,0000	81,4286	0,0679	721,4286	42,8571
0,0536	550,0000	30,0000	0,0679	721,4286	47,1429
0,0536	550,0000	34,2857	0,0679	721,4286	51,4286
0,0536	550,0000	38,5714	0,0679	721,4286	55,7143
0,0536	564,2857	30,0000	0,0679	735,7143	38,5714
0,0536	564,2857	34,2857	0,0679	735,7143	42,8571
0,0536	564,2857	38,5714	0,0679	735,7143	47,1429
0,0536	750,0000	55,7143	0,0679	735,7143	51,4286
0,0536	750,0000	60,0000	0,0679	735,7143	55,7143
0,0536	750,0000	64,2857	0,0679	735,7143	60,0000
0,0536	750,0000	68,5714	0,0679	750,0000	34,2857
0,0536	750,0000	72,8571	0,0679	750,0000	38,5714
0,0571	550,0000	30,0000	0,0679	750,0000	42,8571
0,0571	550,0000	34,2857	0,0679	750,0000	47,1429
0,0571	550,0000	38,5714	0,0679	750,0000	51,4286
0,0571	550,0000	42,8571	0,0679	750,0000	55,7143
0,0571	564,2857	30,0000	0,0679	750,0000	60,0000
0,0571	564,2857	34,2857	0,0679	750,0000	64,2857
0,0571	564,2857	38,5714	0,0714	550,0000	30,0000
0,0571	578,5714	30,0000	0,0714	550,0000	34,2857
0,0571	578,5714	34,2857	0,0714	564,2857	30,0000
0,0571	735,7143	55,7143	0,0714	564,2857	34,2857
0,0571	735,7143	60,0000	0,0714	721,4286	38,5714
0,0571	750,0000	51,4286	0,0714	721,4286	42,8571
0,0571	750,0000	55,7143	0,0714	721,4286	47,1429
0,0571	750,0000	60,0000	0,0714	721,4286	51,4286
0,0571	750,0000	64,2857	0,0714	735,7143	38,5714
0,0571	750,0000	68,5714	0,0714	735,7143	42,8571
0,0607	550,0000	30,0000	0,0714	735,7143	47,1429
0,0607	550,0000	34,2857	0,0714	735,7143	51,4286
0,0607	550,0000	38,5714	0,0714	735,7143	55,7143
0,0607	550,0000	42,8571	0,0714	735,7143	60,0000
0,0607	564,2857	30,0000	0,0714	750,0000	34,2857
0,0607	564,2857	34,2857	0,0714	750,0000	38,5714
0,0607	564,2857	38,5714	0,0714	750,0000	42,8571
0,0607	578,5714	30,0000	0,0714	750,0000	47,1429
0,0607	578,5714	34,2857	0,0714	750,0000	51,4286
0,0607	578,5714	38,5714	0,0714	750,0000	55,7143
0,0607	735,7143	47,1429	0,0714	750,0000	60,0000
0,0607	735,7143	51,4286	0,0714	750,0000	64,2857
0,0607	735,7143	55,7143	0,0750	735,7143	38,5714
0,0607	735,7143	60,0000	0,0750	735,7143	42,8571

0,0607	750,0000	42,8571	0,0750	735,7143	47,1429
0,0607	750,0000	47,1429	0,0750	735,7143	51,4286
0,0607	750,0000	51,4286	0,0750	750,0000	34,2857
0,0607	750,0000	55,7143	0,0750	750,0000	38,5714
0,0607	750,0000	60,0000	0,0750	750,0000	42,8571
0,0607	750,0000	64,2857	0,0750	750,0000	47,1429
0,0607	750,0000	68,5714	0,0750	750,0000	51,4286
0,0643	550,0000	30,0000	0,0750	750,0000	55,7143
0,0643	550,0000	34,2857	0,0750	750,0000	60,0000
0,0643	550,0000	38,5714			

Dla pozyskania ekstraktów o satysfakcjonującym składzie proces może przebiegać według scenariusza, w którym można wykorzystać obniżony wskaźnik biomasy do wody (od 0,0357 do 0,0464 g/ml), jednak przy uwzględnieniu najwyższej mocy mikrofal. Natomiast zwiększenie stosunku biomasa/woda do 0,0571 g/ml, pozwala obniżyć znacząco moc mikrofal, jednocześnie skracając czas samego procesu.

Dla porównania obu procedur na rysunku 35 zestawiono rozwiązania preferowane z frontu Pareto na tle rozwiązań kompromisowych. Podkreślić należy, że na tym etapie to od decydenta zależy, która analiza będzie miała większe znaczenie praktyczne przy projektowaniu i sterowaniu procesem ekstrakcji, wspomaganej mikrofalowo.



Rysunek 35. Wizualizacja rozwiązań smart Pareto na tle rozwiązań kompromisowych. Kolor czerwony – inteligentne rozwiązanie Pereto, Kolor zielony – rozwiązania kompromisowe, Kolor niebieski – rozwiązania zdominowane.

Teoretycznie, rozwiązania kompromisowe, ustalone od akceptowalnej odległości od punktu Utopii, tworzą konkretne zbiory, w których może poruszać się decydent. W wizualizacji 3D w przestrzeni wszystkich zmiennych decyzyjnych elementy tego zbioru są równocennymi rozwiązaniami kompromisowymi. Jednak czasem prowadzić to może do problemu w podejmowaniu decyzji w rzeczywistym procesie. Często istnieje potrzeba wybrania i wskazania jednego konkretnego i preferowanego rozwiązania z zestawu

rozwiązań kompromisowych. Zatem spośród zbioru rozwiązań kompromisowych wskazano takie, którego odległość od punktu Utopii była najmniejsza wśród wszystkich analizowanych rozwiązań. Wskazano, że takim optymalnym rozwiązaniem kompromisowym, był punkt w przestrzeni zmiennych decyzyjnych o współrzędnych  $x_1 = 0,0643$  g/ml,  $x_2 = 550$  W oraz  $x_3 = 30$  s (wyodrębniono zatem tzw. „super” rozwiązanie kompromisowe).

Ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE) jest procesem, któremu aktualnie poświęca się w literaturze dużą uwagę. Wynika to z faktu, że metoda ta pozwala na znaczące skrócenie czasu przetwarzania i zużycia ekstrahentów w odniesieniu do ekstrakcji konwencjonalnej. Dodatkowo umożliwia realizację zasad i celów zielonej chemii, ze względu na możliwość wykorzystania wody jako ekologicznego rozpuszczalnika. Zainteresowanie procesem ekstrakcji wspomaganej mikrofalowo wynika w dużej mierze z możliwości poprawy wydajności pozyskiwania związków bioaktywnych z biomasy roślinnej, w tym związków o działaniu przeciwutleniającym. Dlatego też coraz większą wagę przywiązuje się do projektowania i optymalizacji procesów ekstrakcji. Ma to bowiem szczególne znaczenie nie tylko w zapobieganiu stratom związków bioaktywnych, wrażliwych na parametry procesu, ale także w minimalizacji kosztochłonności samej procedury ekstrakcyjnej (Azzouzi i in., 2021). W badaniach własnych zmiennymi procesowymi, które determinowały efektywność pozyskiwania związków bioaktywnych, były czas ekstrakcji, moc mikrofal oraz stosunek biomasy roślinnej do rozpuszczalnika. Wykazano, że dla zwiększenia wydajności pozyskiwania związków fenolowych i cukrów redukujących, zwiększony stosunek biomasy korzeni *Levisticum officianle* do wody był bardziej korzystny. Natomiast wskaźnik odmiennie wpływał na poziom flawonoidów oraz potencjał przeciwutleniający ekstraktów. Wykazano, że po przekroczeniu środkowej, analizowanej wartości tego współczynnika następował spadek zawartości tych związków w ekstraktach. Kim i Lim (2020) również badali wpływ stosunku *Citrusunshiu pomace* do rozpuszczalnika na wydajność pozyskiwania flawonoidów. Ilość tych bioaktywnych związków wzrastała wraz ze wzrostem tego parametru ekstrakcji. Jednak badacze nie zaobserwowali istotnych statystycznie różnic. Co prawda zdaniem Iglesias-Carres i in. (2019) wysoki stosunek biomasa/rozsuszczałnik prowadzi do poprawy wydajność ekstrakcji związków bioaktywnych, co badacze tłumaczą zwiększoną różnicą stężeń na granicy próbka i ekstrahent. Jednak, jak wskazuje Assefa i in. (2017) prowadzenie ekstrakcji przy zwiększonym wykorzystaniu biomasy jest ekonomicznie nieuzasadnione, ponieważ wiąże się po pierwsze z uzyskaniem nieistotnych różnic w poziomie związków bioaktywnych,

a po drugie ze zwiększonym zużyciem energii w kolejnych etapach zatężania wytwarzanych ekstraktów. Badania Vu i in. (2019) wykazały, że wydajność procesu ekstrakcji, w której wykorzystano skórki banana, uległa drastycznemu zmniejszeniu, gdy procedurę prowadzoną przy zwiększonych proporcjach biomasa/rozpuszczalnik. Zdaniem autorów, zbyt duże zwiększenie wskaźnika próbka/rozpuszczalnik prowadzi do spadku koncentracji związków fenolowych oraz potencjału przeciwutleniającego w testach DPPH i FRAP. Hayat i in. (2009) wysunęli hipotezę, że obserwowane tendencje wynikać mogą z procesu pęcznienia surowca roślinnego, co z kolei prowadzi do zwiększenia strefy kontaktu pomiędzy biologiczną matrycą i ekstrahentem. Dahmoune i in. (2015) podkreślają, że dla projektowania ekstrakcji na skalę przemysłową potrzebne są wstępne badania eksperymentalne, prowadzone pod kątem maksymalizacji wydajności ekstrakcji bioaktywnych związków w aspekcie minimalizacji wykorzystywanych rozpuszczalników i matryc roślinnych. Biorąc pod uwagę powyższe, Kim i Lim (2020) wysunęli wniosek, by procedura optymalizacji ekstrakcji wspomaganą mikrofalowo, uwzględniała dobór odpowiedniego zakresu stosunku masy próbki do rozpuszczalnika.

Badania nad ekstrakcją związków czynnych z korzeni *Levisticum officinale* wykazały także wpływ czasu procesu na poziom związków fenolowych, flawonoidów, cukrów oraz potencjał przeciwutleniający. Stwierdzono, że wydłużenie czasu skutkowało zwiększeniem puli tych związków, co prawda wydłużanie czasu nie skutkowało już tak dużymi wzrostami. Jednak w przypadku potencjału przeciwutleniającego, ocenianego testem DPPH, nastąpił spadek tego parametru po przekroczeniu pewnego czasu granicznego. Potwierdzają to wyniki badań, uzyskane przez Kim i Lim (2020), w których stwierdzono, że wydajność ekstrakcji flawonoidów z *Citrusunshiu pomace* osiągała maksymalny poziom w określonym czasie, po którym nie następowała już istotna zmiana tego parametru. Do podobnych spostrzeżeń dotarli także Mokrani i Madani (2016), którzy oceniali wpływ czasu na efektywność ekstrakcji związków fenolowych i zdolność przeciwutleniającą owoców brzoskwini. Zdaniem badaczy obserwowane zjawisko wynika bezpośrednio z drugiego prawa dyfuzji Ficka, zgodnie z którym po pewnym czasie, w układzie reakcyjnym nastąpi ostateczna równowaga stężeń, pomiędzy biomasa roślinną a rozpuszczalnikiem (Mokrani i Madani, 2016). Vu i in. (2019) podkreślają, że to czas jest parametrem ekstrakcji o kluczowym znaczeniu, a w przypadku ekstrakcji z wykorzystaniem mikrofal to znaczenie jest jeszcze większe. Dlatego też wskazuje się na ważne zadanie optymalizacji, które pozwoli określić odpowiedni zakres czasowy prowadzenia ekstrakcji. Dahmoune i in. (2015) wskazują, że wydłużanie czasu ekstrakcji powyżej optymalnego zakresu prowadzić może

do spadku wydajność pozyskiwania składników bioaktywnych z matrycy roślinnej, ze względu na fakt, iż może nastąpić niekontrolowany wzrost temperatury i termiczna degradacja związków przeciwutleniających.

Ostatnim optymalizowanym w tych badaniach parametrem procesu ekstrakcji wspomaganą mikrofalowo, była moc magnetronu. 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. Mandal i in. (2023) również potwierdzili, że energia mikrofalowa jest determinantem efektywności ekstrakcji związków fenolowych. Jednak badacze podkreślają, że zbyt duże zwiększanie mocy mikrofal może prowadzić do zakłócania dynamicznej struktury próbki i degradacji związków bioaktywnych (Mandal i in., 2023). Dodatkowo nieuzasadnione zwiększanie energii mikrofalowej nie prowadzi już do istotnego podwyższenia wydajności ekstrakcji związków czynnych, a wiąże się z większymi nakładami ekonomicznymi (Vu i in., 2019).

Zatem, jak wskazuje wielu badaczy, istnieje potrzeba nie tylko projektowania procesu ekstrakcji, ale również optymalizacji jej wydajności. Ma to szczególne znaczenie dla ekstrakcji wspomaganą mikrofalowo, gdyż docelowo może zmniejszyć energochłonność procesu. Dlatego też problemy optymalizacyjne w rzeczywistych procesach cechują się wieloma, niekiedy sprzecznymi celami. Podkreślić należy, że zaproponowane w pracy procedury wielocelowej optymalizacji ekstrakcji wspomaganą mikrofalowo, to nie tylko poszukiwanie zbioru rozwiązań (parametrów procesu), ale także proces decyzyjny, oparty na wiedzy, doświadczeniu i preferencjach decydenta. Dopiero integracja metod komputerowych ze stanowiskiem decydenta pozwoli na wskazanie zbioru lub regionu optymalnych rozwiązań, które pozwolą na sterowanie procesem ekstrakcji. Przedstawione w pracy efekty procedur optymalizacyjnych pozwolą decydującym na podjęcie decyzji metodą *a posteriori*. W takim przypadku wygenerowane bez preferencji decydenta, zestawy rozwiązań Pareto-optymalnych, preferowanych i kompromisowych, mogą być mu dostarczone do podjęcia decyzji na podstawie najbardziej preferowanych opcji spośród alternatyw (Ferreira i in., 2007, July).

Zatem rozwijana w tej pracy metoda pozwala na stworzenie procesu sekwencyjnego, w którym decydent podejmie decyzje o parametrach procedury ekstrakcyjnej, wiedząc, że wybiera spośród rozwiązań niezdominowanych, a optymalizacja każdego analizowanego kryterium odpowiada maksymalnej wartości tego kryterium. Jeśli jednak w procesie decyzyjnym nastąpi potrzeba uznania większej ważności poszczególnych kryteriów, to

zaproponowana procedura również to umożliwia, wskazując rozwiązania preferowane (Ferreira i in., 2007; Zio i Bazzo, 2011).

#### **4.4. Podsumowanie badań nad optymalizacją wielokryterialną ekstrakcji wodnej, wspomaganej mikrofalowo**

Biomasa korzeni *Levisticum officinale* jest zasobna w związki bioaktywne o wysokim potencjale przeciwutleniającym. Wykazano także, że ekstrakcja wodna, wspomagana mikrofalowo, jest odpowiednią metodą do ekologicznego pozyskiwania fitozwiązków z biomasy lubczyku. Dla zastosowań przemysłowych i udoskonalenia takiej procedury ekstrakcyjnej stworzono modele matematyczne, o prawidłowej zdolności predykcyjnej, które wykorzystano w procedurach optymalizacyjnych i prognozowania parametrów procesu. Wskazano zestawy rozwiązań Pareto-optymalnych, kompromisowych oraz preferowanych, które pozwolą na maksymalizację wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych z biomasy roślinnej. Zoptymalizowane warunki przetwarzania pozwolą nie tylko na ulepszenie procesu ekstrakcji, ale również są niezbędne w zwiększeniu skali produkcji ekologicznej związków o potencjale przeciwutleniającym, przeznaczonych dla różnych gałęzi przemysłu, w tym zastosowania w farmacji, żywności czy agronomii. Zaproponowane w pracy procedury wielocelowej optymalizacji umożliwią nie tylko poszukiwanie zbioru rozwiązań optymalnych (parametrów procesu), ale także ułatwią proces decyzyjny, oparty na wiedzy, doświadczeniu i preferencjach decydenta. W podzbiorach optymalnych wykazano, że dla satysfakcjonującego poziomu związków bioaktywnych, ekstrakcja powinna być przeprowadzona przy maksymalnej mocy mikrofal na poziomie 750 W. Rozwiązania preferowane uzyskano dla stosunku biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody w zakresie od 0,0536 g/ml do 0,0679 g/ml. Preferowany optymalny czas ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo kształtował się od 64,2857 do 85,7143 sekund. Przeprowadzone badania oraz metody optymalizacji wielokryterialnej wskazują na dalszą potrzebę badań w tym zakresie dla wskazania większej roli decydenta oraz zwiększania skali ekstrakcji wspomaganej mikrofalowo do zastosowań przemysłowych.

#### 4.5. Wyniki optymalizacji wielokryterialnej ekstrakcji wodnej, wspomaganej ultradźwiękami w odniesieniu do maksymalizacji pozyskiwania czynnych fitozwiązków z korzeni *Levisticum officinale*

Dane eksperymentalne dopasowano przy użyciu modelu wielomianu wielu zmiennych. Współczynniki regresji otrzymanych równań opisujących poszczególne kryteria jakości K<sub>1</sub>-K<sub>4</sub> ekstraktów w aspekcie analizowanych czynników/zmiennych decyzyjnych przedstawiano jako:

$$K_1(x_1, x_2, x_3) = 166,92 + 4852,1 * x_1 + (-0,956) * x_2 + (-20,533) * x_3 + 5,58 * x_1 * x_2 + 213,7 * x_1 * x_3 + 0,043 * x_2 * x_3 + (-49105,96) * x_1^2 + 0,0012 * x_2^2 + 0,66 * x_3^2 \quad (28)$$

$$K_2(x_1, x_2, x_3) = -126 + 10707,8 * x_1 + 0,29 * x_2 + 44,8 * x_3 + 2,89 * x_1 * x_2 + 105,3 * x_1 * x_3 + 0,045 * x_2 * x_3 + (-87147,45) * x_1^2 + (-0,0026) * x_2^2 + (-3,87) * x_3^2 \quad (29)$$

$$K_3(x_1, x_2, x_3) = 22,9 + 2122,25 * x_1 + (-0,03) * x_2 + (-5,97) * x_3 + 0,32 * x_1 * x_2 + (-2,22) * x_1 * x_3 + 0,012 * x_2 * x_3 + (-16726,9) * x_1^2 + (-0,00029) * x_2^2 + 0,387 * x_3^2 \quad (30)$$

$$K_4(x_1, x_2, x_3) = 4,02 + 87,53 * x_1 + 0,02 * x_2 + (-1,79) * x_3 + 0,035 * x_1 * x_2 + 21,12 * x_1 * x_3 + 0,003 * x_2 * x_3 + (-1197,48) * x_1^2 + (-0,0001) * x_2^2 + 0,059 * x_3^2 \quad (31)$$

W równaniu (28) K<sub>1</sub>, x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> i x<sub>3</sub> reprezentują odpowiednio zawartość związków fenolowych, stosunek biomasy do rozpuszczalnika, moc mikrofal i czas ekstrakcji. Analiza współczynników regresji w równaniu (28) pokazała, że zarówno czas procesu, jak i energia mikrofalowa miały negatywny wpływ, podczas gdy stosunek biomasa/woda miał pozytywny wpływ na całkowitą pulę polifenoli (TPC). Podobną zależność stwierdzono dla K<sub>3</sub> (całkowity potencjał przeciw utleniający, TAA). Natomiast dla K<sub>2</sub> (całkowita zawartość flawonoidów) wykazano, że wszystkie czynniki miały pozytywny wpływ na tę cechę ekstraktów z *Levisticum officinale*. Dla zawartości cukrów redukujących (RSC, K<sub>4</sub>) pozytywny wpływ korelował ze stosunkiem biomasy korzeni do wody oraz mocą mikrofal, podczas gdy czas ekstrakcji miał negatywny wpływ na RSC.

Analizę zaproponowanych modeli, ekstrakcji wodnej korzeni *Levisticum officinale*, wspomaganej ultradźwiękami, przedstawiono w tabeli nr 8. Wysokie wartości R<sup>2</sup> (>0,80), wynoszące odpowiednio dla TPC (K<sub>1</sub>) 0,91, TFC (K<sub>2</sub>) 0,88, TAA 0,93 i dla RSC 0,91,

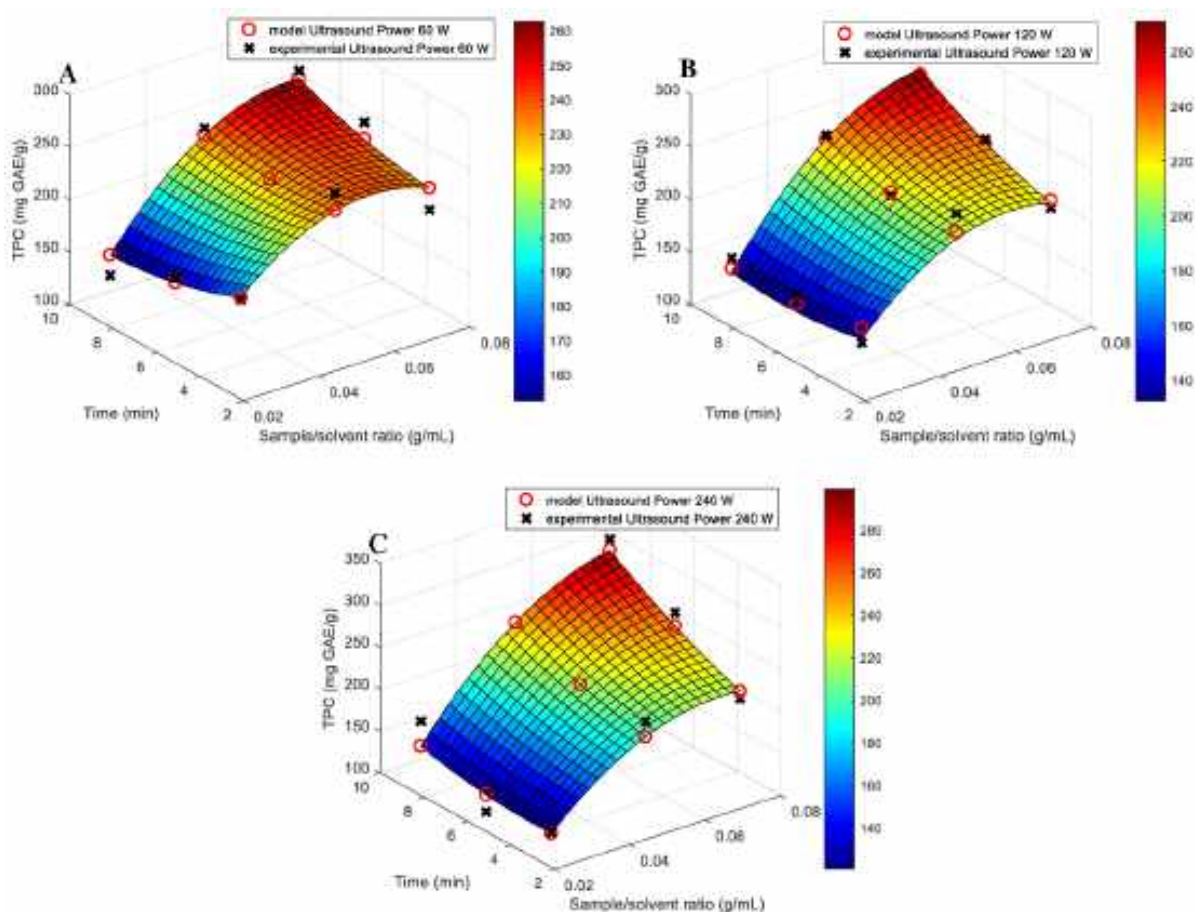
wskazują, że modele bazujące na wielomianach wielu zmiennych, wystarczająco dobrze odzwierciedlały dane eksperymentalne. Według Ahmeda i in. (2022) wysoką korelację i silne dopasowanie wykazuje model regresji z wartością  $R^2$  większą niż 0,9. Dodatkowo analizy pokazały, że wartości dopasowanego  $R^2$  kształtowały się na poziomie odpowiednio 0,86, 0,80, 0,89, 0,85 dla TPC, TFC, TAA i RSC, co potwierdza prawidłowe dopasowanie modelu (tab. 8). Na podstawie analiz stwierdzić można, że stworzone modele cechowała zdolność predykcyjna cech ekstraktów z *Levisticum officinale* w zależności od parametrów procesu ekstrakcji.

Tabela 8. Wskaźniki dopasowania modelu do wyników eksperymentalnych dla kryteriów decyzyjnych oraz statystyka F i wartość p dla kryteriów decyzyjnych

Wskaźniki	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>
MSE	373,84	1308,28	16,84	1,11
$R^2$	0,91	0,872	0,927	0,905
dopasowany $R^2$	0,86	0,804	0,889	0,854
Fstat	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>
sse	6,36E+03	2,22E+04	286,1482	18,8592
dfe	17	17	17	17
dfr	9	9	9	9
ssr	6,13E+04	1,51E+05	3,64E+03	1,79E+02
f	18,21	12,796	24,0004	17,9322
pval	4,74E-07	6,05E-06	5,91E-08	5,31E-07

Legenda: sse - Suma błędów podniesionych do kwadratu (reszt), określona jako wartość liczbowa; dfe – Błąd stopni swobody (dla modelu); dfr – n-2; ssr - Suma kwadratów wynikająca z regresji (SSR) lub wyjaśniona suma kwadratów (ESS) to suma różnic między wartością przewidywaną a średnią zmiennej zależnej, pval – A wektor wartości p do sprawdzania, czy elementy b są 0

Dopasowanie modeli wielomianowych do wyników eksperymentalnych zawartości związków fenolowych wraz z interpolacją pokazano na rysunku 36.

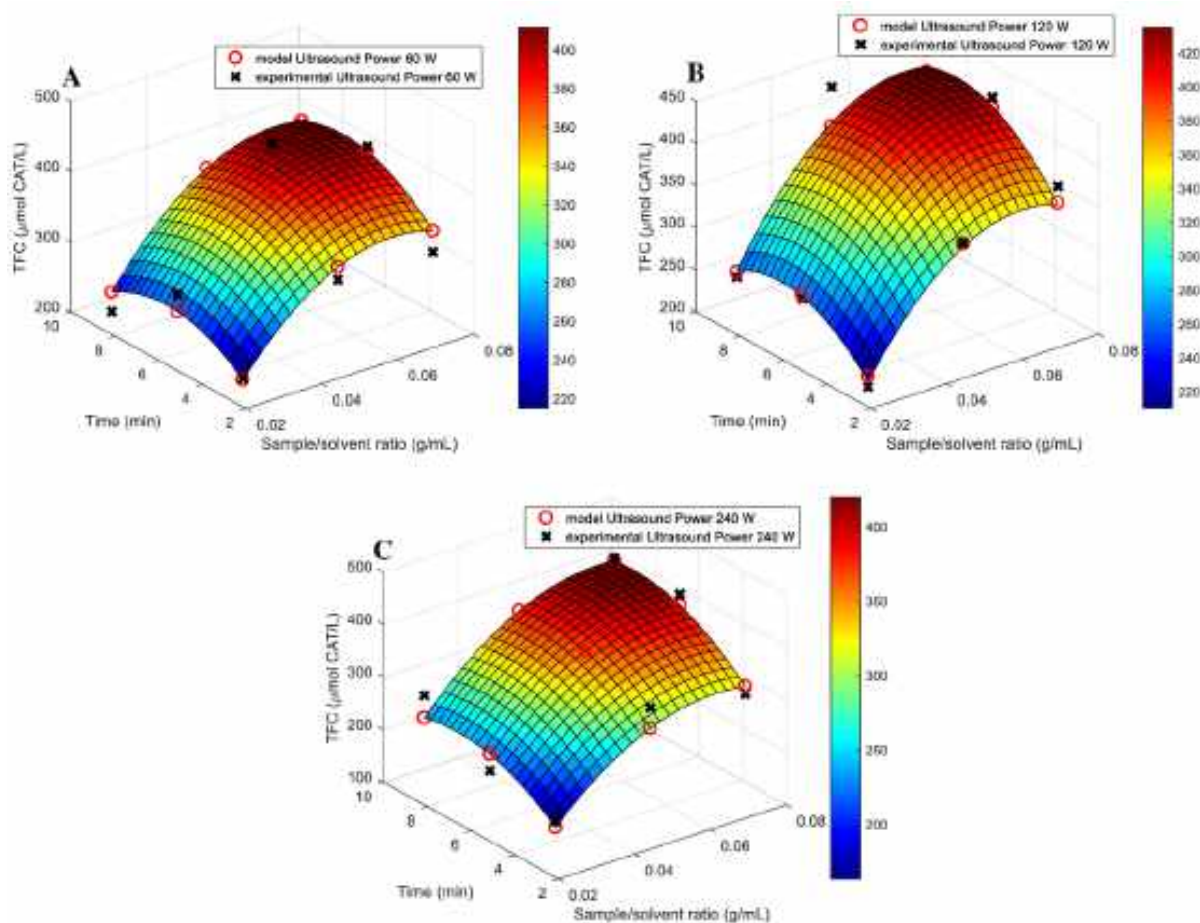


Rysunek 36. Wartości eksperymentalne i przewidywane (funkcja regresji z interpolacją) dla TPC w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda, g/mL) i  $x_2$  (czas, min) dla A) mocy ultradźwięków  $x_2=60$  W, B) mocy ultradźwięków  $x_2=120$  W, C) moc ultradźwięków  $x_2=240$  W. Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

Badania wykazały, że zawartość związków fenolowych w ekstraktach ulegała zwiększeniu, gdy ekstrakcję korzeni *Levisticum officinale*, prowadzono przy wykorzystaniu zwiększonego stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika. Co prawda, wzrosty TPC nie były już tak znaczące, kiedy zwiększono wskaźnik stosunku masy korzeni do wody z 0,05 do 0,075 g/ml. Dodatkowo stwierdzono, że wydłużanie czasu ekstrakcji prowadziło do wytworzenia ekstraktów z wyższym poziomem związków fenolowych. Badania wykazały również, że zwiększanie mocy ultradźwięków wpływało na całkowitą pulę fenoli ekstrahowanych z *Levisticum officinale*. Najwyższą wydajność ekstrakcji TPC (powyżej 300 mg GAE/g) odnotowano dla ekstraktów, wytworzonych przy zastosowaniu stosunku biomasa/roztwór rzędu 0,075 g/ml, w czasie 9 minut i przy mocy ultradźwięków 240 W. Potwierdzają to wyniki badań uzyskanych przez Nikolić i in. (2023), w których analizowali wpływ parametrów ekstrakcji, wspomaganą ultradźwiękami, na zawartość

związków fenolowych w ekstraktach. Zdaniem badaczy zmiana stosunku rozpuszczalnika do biomasy roślinnej miała również większy wpływ na TPC niż czas procesu. Do podobnych spostrzeżeń doszli Brahmi i in. (2022), którzy analizowali wpływ warunków ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami na ilość ekstrahowanych związków fenolowych z *Opuntia ficus-indica*. Badacze wykazali, że zarówno zawartość związków fenolowych, jak i potencjał przeciwutleniający ekstraktów, osiągały pewien poziom w określonym czasie, po którym nie obserwowano już istotnych różnic wywołanych zwiększeniem tego parametru ekstrakcji. Również Irakli i in. (2018), którzy wykazali, że całkowita zawartość polifenoli w ekstraktach zwiększała się wraz z wydłużaniem czasu ekstrakcji, jednak odnotowali czas graniczny oddziaływania ultradźwięków, po którym wydajność ekstrakcji TPC stabilizowała się i następnie stopniowo zmniejszała. Medina-Torres i in. (2017) tłumaczą te spostrzeżenia, faktem, że czas ekstrakcji, wspomaganą ultradźwiękami, podzielony jest generalnie na dwie fazy. Pierwsza z nich to „etap przemywania” i to właśnie podczas tego procesu ekstrahuje się maksymalna ilość związków czynnych. Natomiast w kolejnym etapie tzw. „fazy powolnej ekstrakcji”, związki zawarte w biomacie roślinnej przenoszone są do rozpuszczalnika na zasadzie mechanizmu dyfuzyjnego. Dlatego tak ważne jest określanie wpływu czasu procedury ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami i optymalizacja tego parametru, bo nieumiejętnie sterowanie takim procesem i wydłużanie czasu procedury może w konsekwencji prowadzić do degradacji bioaktywnych związków, wywołanej przez promieniowanie generowane przez ultradźwięki (Brahmi i in., 2022). Kutlu i in. (2022) podkreślają także, że dla wydajności ekstrakcji związków fenolowych istotne znaczenie ma moc ultradźwięków. Wymienieni badacze, stwierdzili, że ilość ekstrahowanych z *Artemisia dracunculus* L. TPC wzrastała o 15% wraz ze wzrostem mocy ultradźwiękowej przy tym samym analizowanym czasie sonikacji i stosunku rozpuszczalnika do próbki. Do podobnych spostrzeżeń dotarli del Pilar Garcia-Mendoza i in. (2021), którzy ekstrahowali związki czynne z *Juglans regia* L. Stwierdzili, że poziom TPC w ekstraktach uległ zwiększeniu o 12%, gdy proces prowadzono przy podwyższonej mocy ultradźwiękowej (od 180 do 220 W).

Analiza poziomu flawonoidów w ekstraktach z korzeni *Levisticum officinale* pokazała, że na tę cechę wpływały parametry procesu ekstrakcji, wspomaganą ultradźwiękami (rys 37). Stwierdzono, że wydłużanie czasu procedury ekstrakcyjnej generalnie skutkowało wyższą pulą flawonoidów w próbkach. Jednak nie obserwowano już tak znaczących różnic w TFC dla czasu ekstrakcji 6 minut oraz 9 minut.

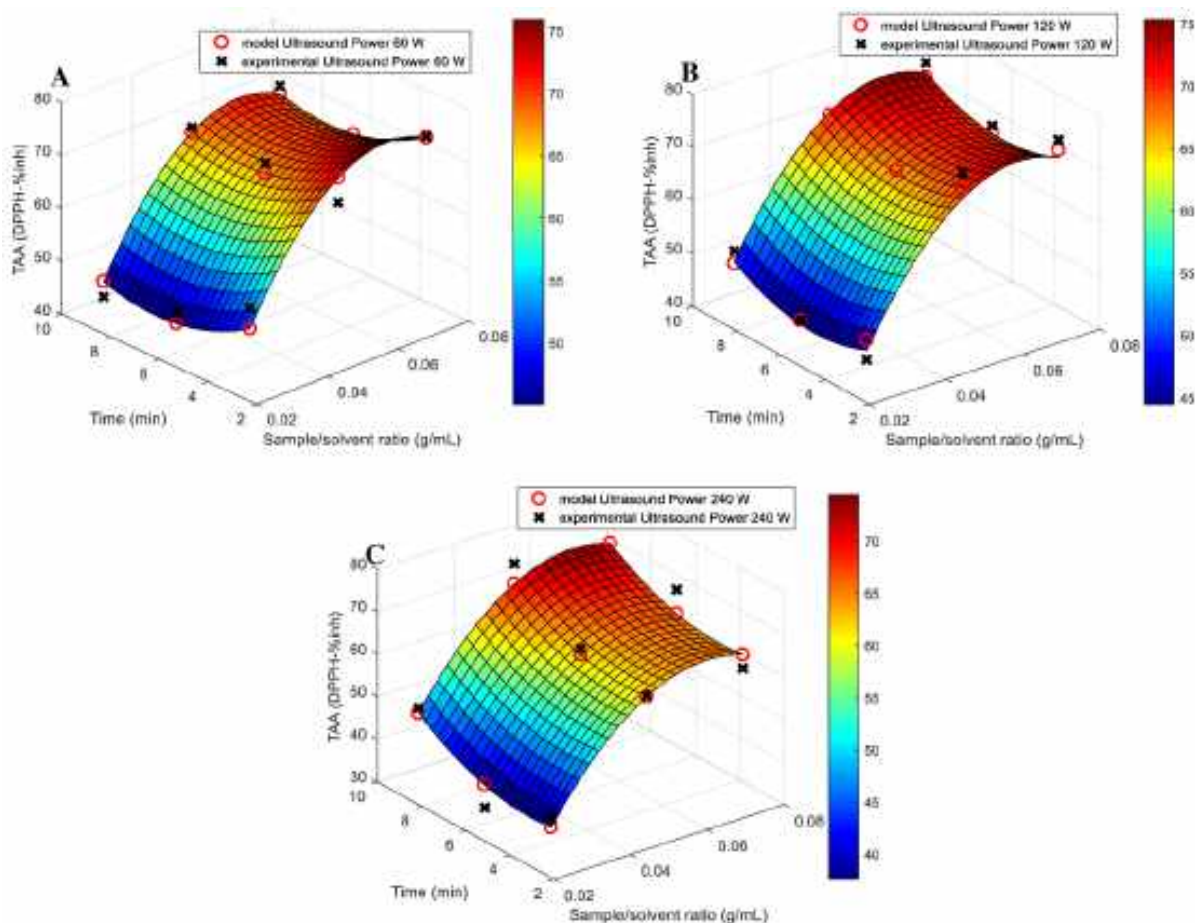


Rysunek 37. Funkcja interpolacji i regresji kryterium K2 (TFC, całkowita zawartość flawonoidów) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/ml)) i  $x_3$  (czas (min)) dla  $x_2=60$  W (moc ultradźwięków). Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

Badania wykazały także, że poziom flawonoidów w ekstraktach zmieniał się wraz ze zmianami stosunku biomasy korzeni do rozpuszczalnika. Zmiany te były tym większe im dłuższy był czas procesu ekstrakcji. Analizując wpływ mocy ultradźwięków, stwierdzono, że najniższa koncentracja TFC wystąpiła w ekstraktach, pozyskanych przy wspomaganie procesu ultradźwiękami o mocy 60 W. Natomiast wzrost flawonoidów w wodnych ekstraktach był największy w efekcie zastosowania mocy na poziomie 120 W. Assefa i in. (2017) oceniali wpływ czasu ekstrakcji na aktywność przeciwutleniającą i zawartość flawonoidów w ekstraktach z *Citrus junos*. Badania wymienionych autorów dowiodły, że potencjał antyoksydacyjny oraz poziom flawonoidów wzrastały z wydłużaniem procesu ekstrakcji do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już stałą wartość. Badacze sugerują, że spowodowane jest to faktem, że zarówno związki przeciwutleniające, jak i flawonoidy zostały całkowicie wyekstrahowane. Do podobnych spostrzeżeń dotarli także w kwestii wpływu zmian stosunku biomasy do

rozpuszczalnika. Dlatego badacze podkreślają konieczność optymalizacji tych parametrów procesu ekstrakcji. Nieprzemysłane zwiększanie wykorzystania biomasy roślinnej to nie tylko negatywne skutki ekonomiczne, ale także zaburzenie wydajności pozyskiwania związków bioaktywnych z różnych matryc, która bazuje na zasadach przenoszenia masy. Racjonalne sterowanie procesem pod względem tego parametru prowadzi do zmniejszenia zużycia biomasy, co z kolei skutkuje zmniejszeniem kosztów procesu i energii (Assefa i in., 2017).

Wykazano, że dla zwiększenia TAA wydłużanie czasu procedury ekstrakcyjnej oraz zwiększania stosunku biomasy roślinnej do wody było korzystne. Jednak przy wspomaganie procesu ultradźwiękami o mocy 60-120 W, przy średnich analizowanych parametrach czasu oraz wymienionego stosunku biomasy, obserwowano pewien stan stabilizacji w całkowitym potencjale przeciwutleniającym, wyrażonym jako % inh DPPH (rys. 38).

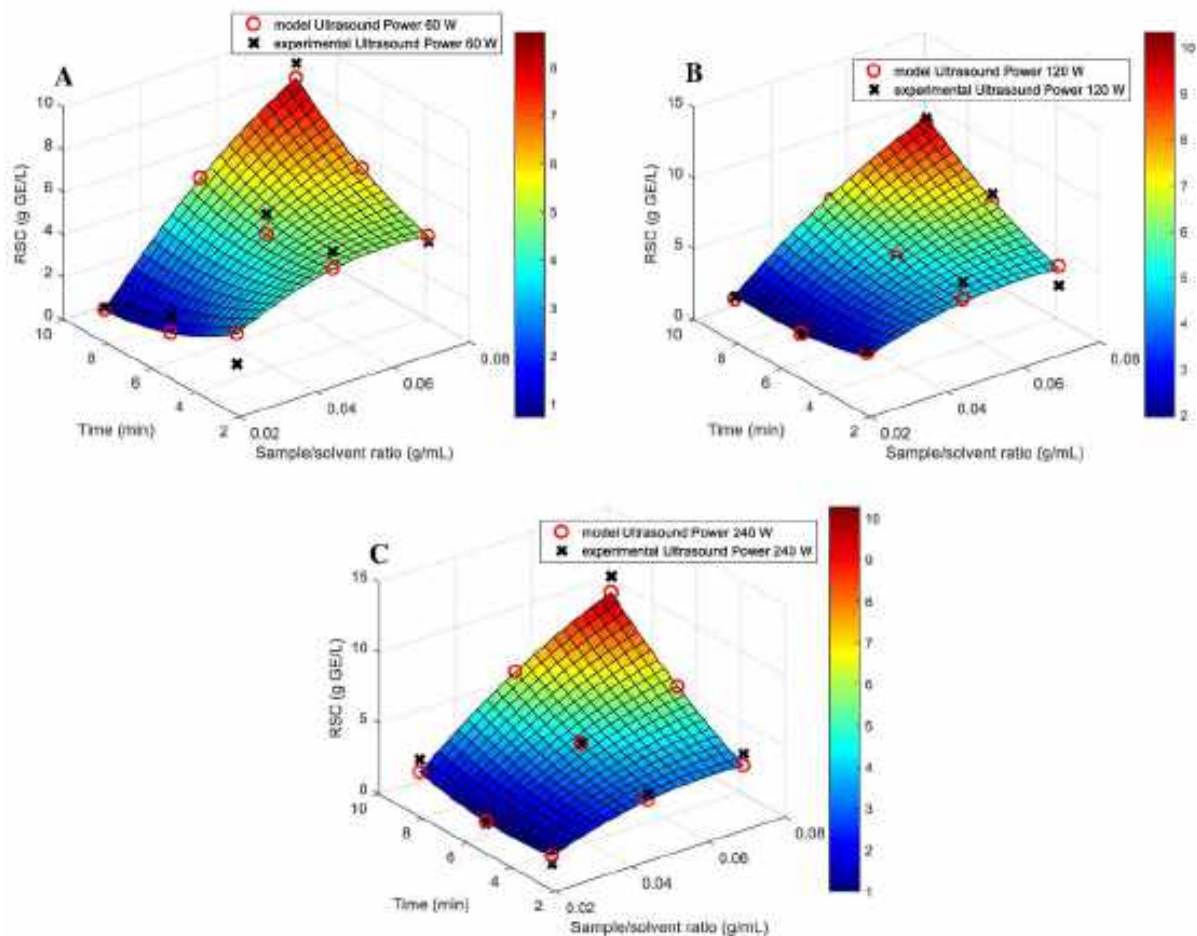


Rysunek 38. Funkcja interpolacji i regresji kryterium K3 (TAA, całkowita aktywność przeciwutleniająca) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/ml)) i  $x_3$  (czas (min)) dla  $x_2=60$  W (moc ultradźwięków). Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

Dodatkowo zwiększenie mocy ultradźwięków do maksymalnej analizowanej (240 W) nie prowadziło już do znaczących zmian w TAA ekstraktów. Nikolić i in. (2023) stwierdzili

nawet, że wydłużanie czasu UAE i nadmierne zwiększanie stosunku ciała stałego/ciecz prowadzi do zmniejszenia potencjału przeciwutleniającego ekstraktów z *Centaurium erythraea*. Autorzy sugerują, że efektem wydłużonej ekspozycji na energię kawitacji może być degradacja metabolitów roślinnych i zmniejszenie potencjału antyoksydacyjnego związków. Babotã i in. (2022) wskazują dodatkowo, że zbyt duże zwiększanie stosunku matrycy roślinnej do rozpuszczalnika, może po osiągnięciu pewnej fazy granicznej, ograniczyć już przenikanie masy, co prowadzi do zmniejszenia wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych.

Odmienne kształtowała się sytuacja z zawartością cukrów redukujących (rys 39).



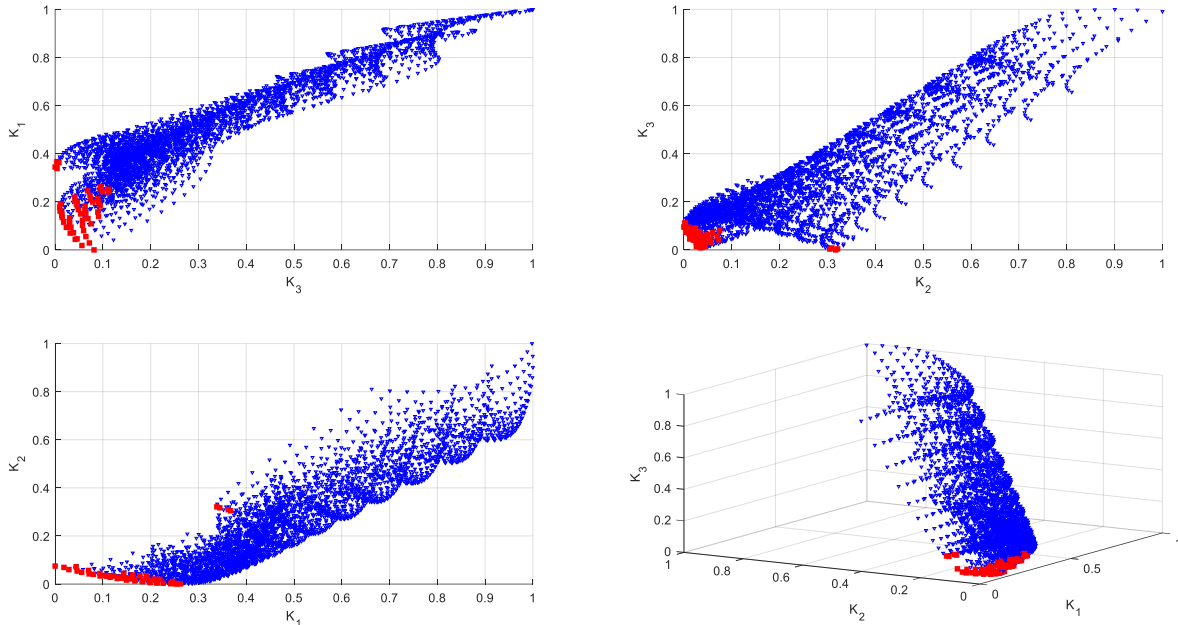
Rysunek 39. Funkcja interpolacji i regresji kryterium K4 (RSC, zawartość cukru redukującego) w funkcji parametrów procesu (zmiennych decyzyjnych)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda (g/ml)) i  $x_3$  (czas (min)) dla  $x_2=60$  W (moc ultradźwięków). Legenda: Time – czas, Sample/solvent ratio - stosunek biomasa/woda

RSC nie ulegało zmianom jeśli wydłużony był czas ekstrakcji, przy zastosowaniu niskich stosunków biomasa/woda. Natomiast w pozostałych analizowanych przypadkach cecha ta ulegała zwiększeniu wraz z wydłużeniem trwania procedury. Podwyższona moc ultradźwięków skutkowała wyższą wydajnością ekstrakcji cukrów. Jednak różnice pomiędzy mocą 120 a 240 W nie były już znaczące. Do podobnych spostrzeżeń doszli

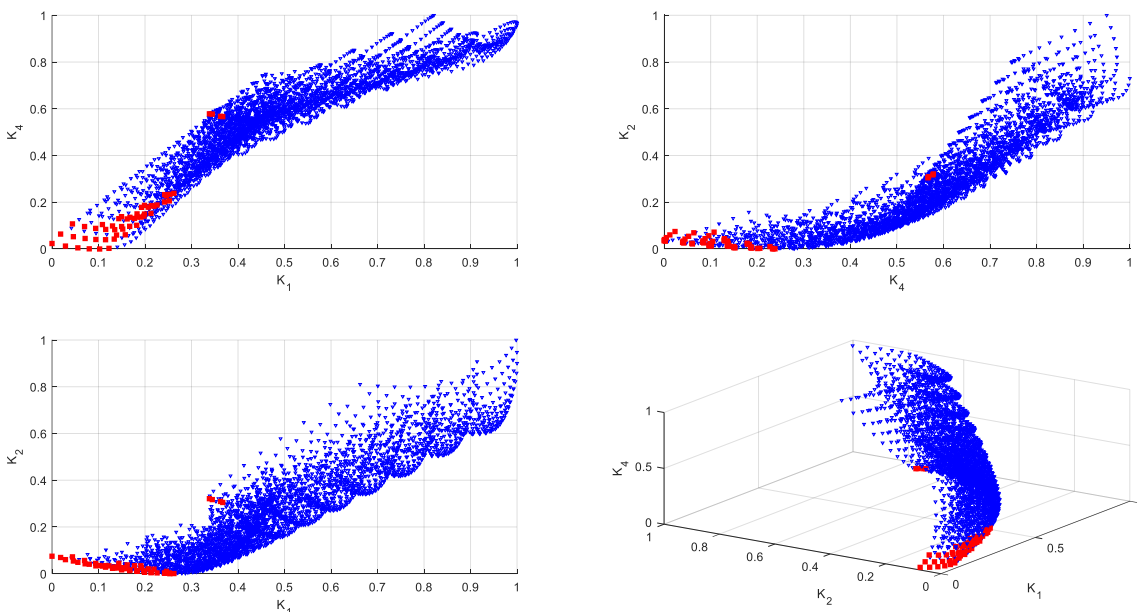
Mondal i in. (2023), którzy analizowali wydajność ekstrakcji cukrów redukujących z korzeni *Arctium lappa* L. Badacze wykazali, że największą koncentrację cukrów zawierały ekstrakty, wytworzone przy podwyższonych parametrach ekstrakcji, wspomaganiej ultradźwiękowo (stosunek biomasy do rozpuszczalnika oraz czas procesu). Jednak, jak podkreślają AlYammahi i in. (2023), w literaturze, dotyczącej ultradźwiękowej ekstrakcji cukrów, istnieje niewiele doniesień na ten temat. Szczególnie w aspekcie ukierunkowanej optymalizacji parametrów ekstrakcji dla maksymalizacji pozyskiwania cukrów redukujących. AlYammahi i in. (2023) oceniali wpływ parametrów ekstrakcji poziom cukrów w ekstraktach wytworzonych przy udziale ultradźwięków z *Phoenix dactylifera*.. Badacze wykazali, że zarówno czas ekstrakcji, jak i stosunek biomasy do rozpuszczalnika, miały znaczący wpływ na tę cechę ekstraktów. Autorzy tłumaczyli obserwowane zależności zwiększoną rozpuszczalnością cukrów w rozpuszczalniku, czego efektem jest podwyższone uwalnianie i dyfuzyjność tych związków z biomasy roślinnej. Nuerxiami i in. (2019) wskazują, że nieuzasadnione przedłużanie czasu ekstrakcji prowadzi już do zmniejszania szybkości ekstrakcji i ilości ekstrahowanych cukrów. Natomiast da Silva Donadone i in. (2020) wysunęli wniosek, że dodatkowym aspektem procesu ekstrakcji, determinującym wydajność pozyskiwania węglowodanów z matrycy roślinnej, jest moc ultradźwięków. Chen i in. (2015) wykazali, że ekstrakcja RSC z owoców morwy była podwyższona w efekcie zwiększenia mocy ultradźwięków z 60 do 180 W. Hu i in. (2018) tłumaczą to faktem, że podwyższona moc ultradźwięków zwiększa efekt kawitacji i wibracji, a tym samym prowadzi do większej dezintegracji ścian komórkowych matrycy roślinnej, przez co wspomaga rozpuszczanie i dyfuzję węglowodanów.

Wygenerowane modele matematyczne, wraz z interpolacją oraz odpowiednimi równaniami zostały w dalszej procedurze wykorzystane do optymalizacji parametrów procesów ekstrakcji. Optymalizacja miała na celu wskazaniu zbiorów rozwiązań optymalnych, które pozwolą na pozyskanie ekstraktów o jak najwyższym poziomie TPC, TFC, TAA oraz RSC. Na rysunkach 40-41 przedstawiono fronty Pareto w przestrzeni kryteriów decyzyjnych (TPC, TFC, TAA, RSC). W analizowanej przestrzeni kryteriów wystąpiły dwa zbiory rozwiązań optymalnych. Przedstawienie frontów w obszarze kryteriów decyzyjnych (opcja 2D oraz 3D) pozwoliło na uzyskanie globalnego spojrzenia w całą badaną domenę efektywności procedury ekstrakcyjnej, określonej w kategoriach maksymalizacji poszczególnych kryteriów decyzyjnych. Podkreślić należy, że obserwowane na rysunkach 40 i 41 zależności, uzyskano już po procesie normowania kryteriów decyzyjnych, w efekcie którego, dla zmaksymalizowanych kryteriów

decyzyjnych, 0 jest najlepszym scenariuszem. Ukazany wieloaspektowy stopień trudności problemu badawczego, a także postoptymalizacyjna teoria podejmowania decyzji wymagały zobrazowania efektów optymalizacji wielokryterialnej (rys. 42) w przestrzeni zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (moc ultradźwięków) i  $x_3$  (czas).

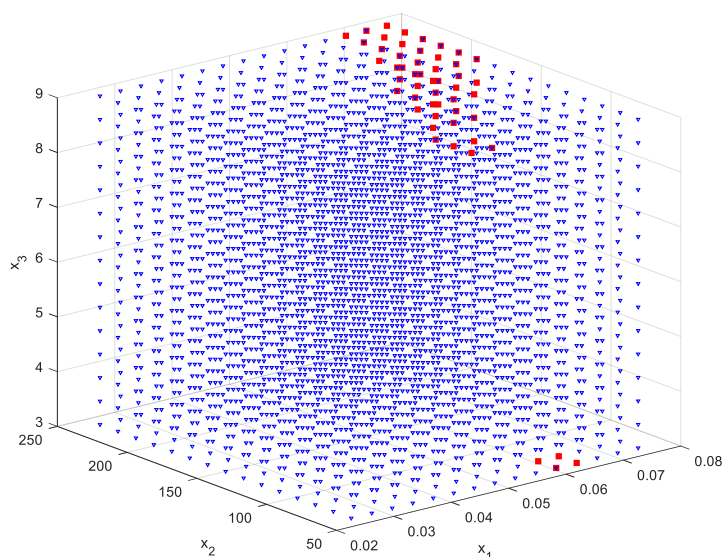


Rysunek 40. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami  $K_1$  (TPC całkowita zawartość fenoli – zmaksymalizowana),  $K_2$  (TFC całkowita zawartość flawonoidów – zmaksymalizowana),  $K_3$  (TAA całkowita aktywność przeciwutleniająca – zmaksymalizowana). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.



Rysunek 41. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji dla zależności między kryteriami  $K_1$  (TPC całkowita zawartość fenoli – zmaksymalizowana),  $K_2$  (TFC całkowita zawartość flawonoidów – zmaksymalizowana),  $K_4$  (RSC zawartość cukru redukującego). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Zatem w tym zadaniu optymalizacyjnym uwzględniono kilka celów jednocześnie, a efektem optymalizacji wielokryterialnej, będzie wygenerowanie zbiorów optymalnych rozwiązań, bazując na kompromisie pomiędzy różnymi celami, a także odpowiadającymi im wartościami zmiennych decyzyjnych (Woinaroschy i Damsa, 2017). Analiza frontów Pareto pokazała, że rozwiązania optymalne w przestrzeni zmiennych decyzyjnych tworzyły dwa rozłączne zbiory. Wspomnieć należy także, że parametry ekstrakcji wodnej wspomaganiej ultradźwiękami (tj. zmienne decyzyjne  $x_1$ ,  $x_2$  i  $x_3$ ) były jednocześnie determinantami funkcji celu ze zidentyfikowaną dziedziną. Nawigując po frontach Pareto, wykazano, że dla jednoczesnej maksymalizacji kryteriów decyzyjnych można przyjąć dwa scenariusze. Pierwszy z nich zakłada, że ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami można prowadzić przez 3 minuty, przy zastosowaniu niskich mocy ultradźwięków (od 60,0000 do 72,8571 W) i stosunku biomasy do rozpuszczalnika rzędu od 0,0607 do 0,0643 g/ml (tab. 9).



Rysunek 42. Zestawy rozwiązań Pareto dla maksymalizacji równań regresji w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (moc ultradźwięków) i  $x_3$  (czas). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Drugi scenariusz bazuje na drugim zbiorze rozwiązań Pareto-optymalnych. W tym przypadku maksymalizację kryteriów można uzyskać poprzez ekstrakcję wodną przy stosunku biomasy *Levisticum officinale* do rozpuszczalnika na poziomie 0,0643 g/ml w czasie od 8,1429 do 9,0000 minut, przy wspomaganii ultradźwiękami o mocy od 162,8571 do 201,4286 W. Zatem dla uzyskania satysfakcjonującej maksymalizacji TPC, TFC, TAA oraz RSC w ekstraktach nie jest wymagane stosowanie warunków brzegowych procesu (maksymalnych wartości parametrów). W zbiorze rozwiązań Pareto-optymalnych

(tab. 9) pokazano również, że maksymalizacja kryteriów może nastąpić w efekcie zwiększenia wskaźnika biomasa roślinna/woda (0,714 g/ml), kiedy to procedura ekstrakcyjna może być prowadzona przy średnich analizowanych mocach ultradźwięków (150 – 188,5714 W) w czasie od 7,7143 do 9,000 minut.

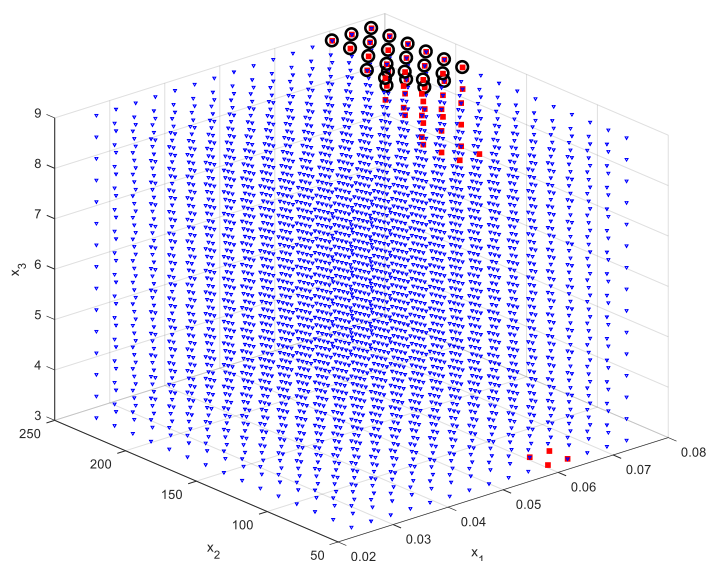
Tabela 9. Optymalne wartości zmiennych decyzyjnych - rozwiązania z frontu Pareto

$X_{1opt}$ (stosunek biomasa/woda)	$X_{2opt}$ (moc ultradźwięków)	$X_{3opt}$ (czas)	$X_{1opt}$ (stosunek biomasa/woda)	$X_{2opt}$ (moc ultradźwięków)	$X_{3opt}$ (czas)
0,0607	60,0000	3,0000	0,0679	188,5714	8,5714
0,0607	72,8571	3,0000	0,0679	188,5714	9,0000
0,0643	60,0000	3,0000	0,0679	201,4286	8,5714
0,0643	72,8571	3,0000	0,0679	201,4286	9,0000
0,0643	162,8571	8,1429	0,0679	214,2857	9,0000
0,0643	162,8571	8,5714	0,0679	227,1429	9,0000
0,0643	162,8571	9,0000	0,0679	240,0000	9,0000
0,0643	175,7143	8,5714	0,0714	150,0000	7,7143
0,0643	175,7143	9,0000	0,0714	162,8571	7,7143
0,0643	188,5714	8,5714	0,0714	162,8571	8,1429
0,0643	188,5714	9,0000	0,0714	162,8571	8,5714
0,0643	201,4286	9,0000	0,0714	175,7143	8,1429
0,0679	150,0000	7,7143	0,0714	175,7143	8,5714
0,0679	162,8571	7,7143	0,0714	175,7143	9,0000
0,0679	162,8571	8,1429	0,0714	188,5714	8,1429
0,0679	162,8571	8,5714	0,0714	188,5714	8,5714
0,0679	175,7143	7,7143	0,0714	188,5714	9,0000
0,0679	175,7143	8,1429	0,0714	201,4286	8,5714
0,0679	175,7143	8,5714	0,0714	201,4286	9,0000
0,0679	175,7143	9,0000	0,0714	214,2857	8,5714
0,0679	188,5714	8,1429	0,0714	214,2857	9,0000

Zdaniem Woinaroschy i Damsa (2016) efektem optymalizacji wielokryterialnej (w przeciwieństwie do optymalizacji z tylko jednym celem) jest wyznaczenie wielu punktów (rys. 42; tab. 9). Te punkty określane są jako optymalne w takim znaczeniu, że poprawę jednego celu (kryterium) można osiągnąć jedynie w przypadku pogorszenia jednego lub większej liczby pozostałych (kryteriów) (Rangaiah, 2009).

Zdaniem Kao i Jacobson (2008) analiza dużego zbioru rozwiązań Pareto-optymalnych stanowić może swoistego rodzaju wyzwanie. Często istnieje potrzeba, zgłaszana przez decydentów w procesach technologicznych, a nie inżynierów, związana z koniecznością dokonywania wyboru z małego zestawu preferowanych rozwiązań optymalnych w sensie Pareto. Z jednej strony uzyskanie dużych zbiorów rozwiązań Pareto-optymalnych jest podejściem idealnym (od strony formalnej), dodatkowo zapewniającym decydentowi zróżnicowany zestaw rozwiązań. Jednak w wielu sytuacjach, w których decydent ma

nieprzecenione znaczenie, jego preferencje wskazują na często niepraktyczne identyfikowanie dobrego podzbioru rozwiązań spośród zbyt wielu opcji (Kasprzak i in., 2000; Mattson i in., 2004). Zatem w przedstawionych badaniach skupiono się poszerzeniu procedury optymalizacji wielocelowej, która miała na celu generowanie mniejszych podzbiorów rozwiązań Pareto-optymalnych nazywanych rozwiązaniami preferowanymi (da Silva Donadone i in., 2020); Kasprzak i Lewis, 2001; Messac i Mattson, 2004). Efekty takiego podejścia do nawigacji i redukcji zbioru rozwiązań Pareto-optymalnych pokazano na rysunku 43.



Rysunek 43. Wizualizacja rozwiązań smart Pareto na tle rozwiązań optymalnych z frontu Pareto w przestrzeni zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (moc ultradźwięków) i  $x_3$  (czas). Kolor czerwony oznacza rozwiązania optymalne w sensie Pareto, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane, czarne punkty/koła oznaczają rozwiązania smart Pareto.

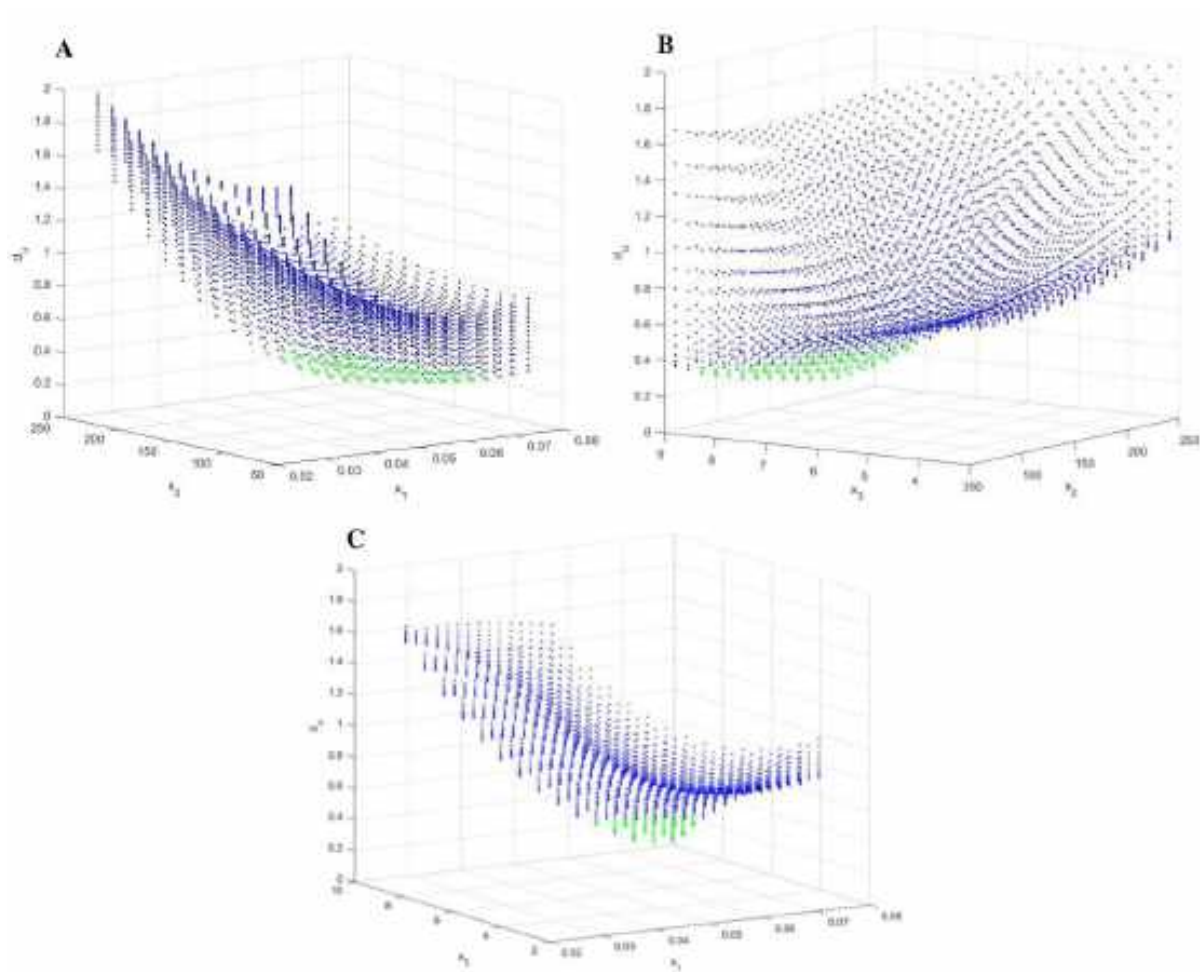
Redukcja zbiorów Pareto i wykorzystanie podejścia tzw. Smart Pareto, umożliwiło wyznaczenie podzbiorów rozwiązań preferowanych. Przyznanie wag kryteriom skupione było na nadaniu większej ważności trzem pierwszym kryteriom jakości ekstraktów wodnych, pozyskanych na drodze ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami ( $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ) (tabela 10). W podzbiorach optymalnych (rys. 43; tab. 10) odnotowano, że podwyższonej wydajności TPC, TFC oraz TAA (maksymalizacji z wagami kryteriów  $K_1$ - $K_3$ ) procedura ekstrakcyjna może być prowadzona w czasie 8,5714 minut, przy zachowaniu stosunku biomasa/rozpuszczalnik – 0,0679, 0,0714, 0,0750 g/ml oraz mocy ultradźwięków – 201,4286, 214,2857 i 188,5714 W. Natomiast druga opcja w tym podzbiorze wskazuje na brzegowy (analizowany) czas ekstrakcji, wynoszący 9 minut, stosunek masy korzeni

*Levisticum officinale* do wody na poziomie od 0,0643 do 0,0750 g/ml oraz mocy ultradźwięków od 175,7143 do 240,0000 W.

Tabela 10. Zestaw rozwiązań preferowanych z frontów Pareto – podejście smart Pareto

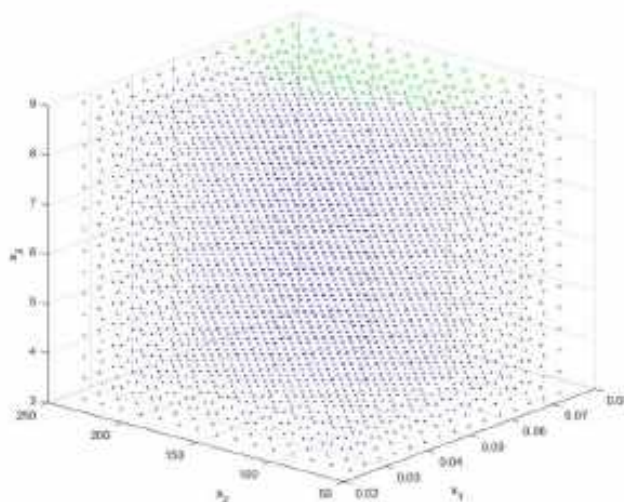
X1 (stosunek biomasa/woda)	X2 (moc ultradźwięków)	X3 (czas)	X1 (stosunek biomasa/woda)	X2 (moc ultradźwięków)	X3 (czas)
0,0643	188,5714	9,0000	0,0714	201,4286	9,0000
0,0643	201,4286	9,0000	0,0714	214,2857	8,5714
0,0679	175,7143	9,0000	0,0714	214,2857	9,0000
0,0679	188,5714	9,0000	0,0714	227,1429	9,0000
0,0679	201,4286	8,5714	0,0714	240,0000	9,0000
0,0679	201,4286	9,0000	0,0750	175,7143	9,0000
0,0679	214,2857	9,0000	0,0750	188,5714	8,5714
0,0679	227,1429	9,0000	0,0750	188,5714	9,0000
0,0679	240,0000	9,0000	0,0750	201,4286	9,0000
0,0714	175,7143	9,0000	0,0750	214,2857	9,0000
0,0714	188,5714	8,5714	0,0750	227,1429	9,0000
0,0714	188,5714	9,0000	0,0750	240,0000	9,0000
0,0714	201,4286	8,5714			

Przechodząc do dalszej analizy procedury wielokryterialnej optymalizacji, która stanowi ważną część badań operacyjnych, podkreślić należy, że nie ma w niej jednego optymalnego rozwiązania problemów wielocelowych, ale zbiór rozwiązań. Można z tego zbioru wyodrębnić rozwiązania optymalne w sensie Pareto, wydajne, niezdominowane, kompromisowe lub równoważne (Gebreel, 2023). Na tym etapie badań skupiono się na wyznaczeniu zbioru rozwiązań kompromisowych. Poszukiwanie tych rozwiązań opierało się na definicji punktu Utopii (idealny, nieosiągalny punkt). Najlepsze rozwiązanie z tego zbioru ma najmniejszą Euklidesową odległość od punktu Utopii. Wykorzystanie tej procedury optymalizacyjnej stanowi rozszerzenie metod kompromisowych, zaproponowanych przez Gebreel, (2021) i Gebreel (2023), w których badacz wskazuje na możliwości rozwiązywania wielocelowych problemów optymalizacyjnych, bazującej na uzyskaniu najlepszego rozwiązania, które będzie w przestrzeni położone blisko punktu Utopii. Zbiory rozwiązań kompromisowych w przestrzeni dwóch zmiennych decyzyjnych pokazano na rysunku 44.



Rysunek 44. Zestawy rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych A)  $x_1$  (stosunek biomasa/woda) i  $x_2$  (moc ultradźwięków), B)  $x_2$  (moc ultradźwięków) i  $x_3$  (czas), C)  $x_1$  (stosunek próbka/rozpuszczalnik) i  $x_3$  (czas). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Dla lepszej wizualizacji i zwiększenia możliwości operacyjnych decydenta, na rysunku 45 pokazano zbiór rozwiązań kompromisowych w przestrzeni wszystkich analizowanych zmiennych decyzyjnych. Położenie tych punktów zbiorów określono w tabeli 11.



Rysunek 45. Ilustracja rozwiązań kompromisowych bazujących na odległości od punktu Utopii w funkcji zmiennych decyzyjnych  $x_1$  (stosunek biomasa/woda),  $x_2$  (czas) i  $x_3$  (Moc ultradźwięków). Kolor zielony oznacza rozwiązania kompromisowe, kolor niebieski oznacza rozwiązania zdominowane.

Wykazano bardzo duży zestaw rozwiązań kompromisowych. Wartości zmiennych decyzyjnych dla tego podzbioru kształtowały się od średnich do maksymalnych analizowanych (warunki brzegowe) wartości stosunku biomasy *Levisticum officinale* do rozpuszczalnika. Czas procedury ekstrakcyjnej rozpoczynał się od 8,1429 do 9 minut. Natomiast moc miała szeroki zakres od 85,7143 do 240,0000 W. Zatem przedstawiona procedura daje decydentowi duże możliwości i pokazuje precyzyjne opcje sterowania procesem ekstrakcji, wspomaganą ultradźwiękami, dla maksymalizacji całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów, cukrów oraz potencjału przeciwutleniającego.

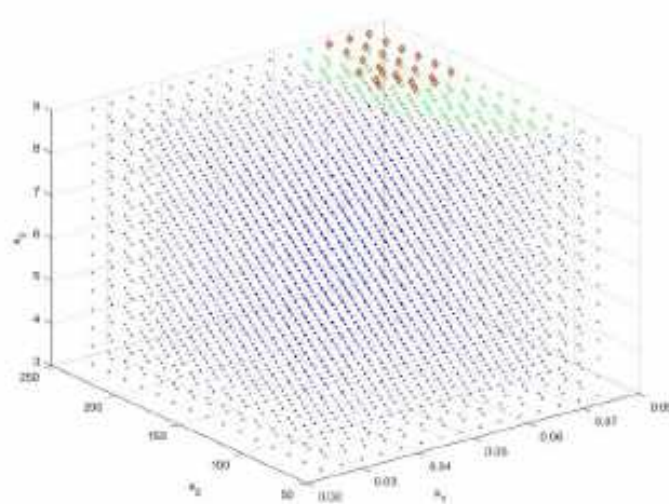
Tabela 11. Rozwiązania kompromisowe, bazujące na odległości od punktu Utopii

$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc ultradźwięków)	$x_3$ (czas)	$x_1$ (stosunek biomasa/woda)	$x_2$ (moc ultradźwięków)	$x_3$ (czas)
0,0607	162,8571	9,0000	0,0714	137,1429	9,0000
0,0607	175,7143	9,0000	0,0714	150,0000	8,1429
0,0607	188,5714	9,0000	0,0714	150,0000	8,5714
0,0607	201,4286	9,0000	0,0714	150,0000	9,0000
0,0607	214,2857	9,0000	0,0714	162,8571	8,1429
0,0607	227,1429	9,0000	0,0714	162,8571	8,5714
0,0607	240,0000	9,0000	0,0714	162,8571	9,0000
0,0643	124,2857	9,0000	0,0714	175,7143	8,1429
0,0643	137,1429	9,0000	0,0714	175,7143	8,5714
0,0643	150,0000	9,0000	0,0714	175,7143	9,0000
0,0643	162,8571	8,5714	0,0714	188,5714	8,1429

0,0643	162,8571	9,0000	0,0714	188,5714	8,5714
0,0643	175,7143	8,5714	0,0714	188,5714	9,0000
0,0643	175,7143	9,0000	0,0714	201,4286	8,1429
0,0643	188,5714	8,5714	0,0714	201,4286	8,5714
0,0643	188,5714	9,0000	0,0714	201,4286	9,0000
0,0643	201,4286	8,5714	0,0714	214,2857	8,1429
0,0643	201,4286	9,0000	0,0714	214,2857	8,5714
0,0643	214,2857	8,5714	0,0714	214,2857	9,0000
0,0643	214,2857	9,0000	0,0714	227,1429	8,1429
0,0643	227,1429	8,5714	0,0714	227,1429	8,5714
0,0643	227,1429	9,0000	0,0714	227,1429	9,0000
0,0643	240,0000	8,5714	0,0714	240,0000	8,1429
0,0643	240,0000	9,0000	0,0714	240,0000	8,5714
0,0679	98,5714	9,0000	0,0714	240,0000	9,0000
0,0679	111,4286	9,0000	0,0750	85,7143	9,0000
0,0679	124,2857	8,5714	0,0750	98,5714	9,0000
0,0679	124,2857	9,0000	0,0750	111,4286	8,5714
0,0679	137,1429	8,5714	0,0750	111,4286	9,0000
0,0679	137,1429	9,0000	0,0750	124,2857	8,5714
0,0679	150,0000	8,5714	0,0750	124,2857	9,0000
0,0679	150,0000	9,0000	0,0750	137,1429	8,1429
0,0679	162,8571	8,5714	0,0750	137,1429	8,5714
0,0679	162,8571	9,0000	0,0750	137,1429	9,0000
0,0679	175,7143	8,1429	0,0750	150,0000	8,1429
0,0679	175,7143	8,5714	0,0750	150,0000	8,5714
0,0679	175,7143	9,0000	0,0750	150,0000	9,0000
0,0679	188,5714	8,1429	0,0750	162,8571	8,1429
0,0679	188,5714	8,5714	0,0750	162,8571	8,5714
0,0679	188,5714	9,0000	0,0750	162,8571	9,0000
0,0679	201,4286	8,1429	0,0750	175,7143	8,1429
0,0679	201,4286	8,5714	0,0750	175,7143	8,5714
0,0679	201,4286	9,0000	0,0750	175,7143	9,0000
0,0679	214,2857	8,1429	0,0750	188,5714	8,1429
0,0679	214,2857	8,5714	0,0750	188,5714	8,5714
0,0679	214,2857	9,0000	0,0750	188,5714	9,0000
0,0679	227,1429	8,1429	0,0750	201,4286	8,1429
0,0679	227,1429	8,5714	0,0750	201,4286	8,5714
0,0679	227,1429	9,0000	0,0750	201,4286	9,0000
0,0679	240,0000	8,1429	0,0750	214,2857	8,1429
0,0679	240,0000	8,5714	0,0750	214,2857	8,5714
0,0679	240,0000	9,0000	0,0750	214,2857	9,0000
0,0714	85,7143	9,0000	0,0750	227,1429	8,1429
0,0714	98,5714	9,0000	0,0750	227,1429	8,5714
0,0714	111,4286	8,5714	0,0750	227,1429	9,0000
0,0714	111,4286	9,0000	0,0750	240,0000	8,1429
0,0714	124,2857	8,5714	0,0750	240,0000	8,5714
0,0714	124,2857	9,0000	0,0750	240,0000	9,0000
0,0714	137,1429	8,5714			

Spośród rozwiązań kompromisowych wskazano tzw. super rozwiązanie kompromisowe nazywane również z ang. the best efficient solution (Gebreel, 2021). Było to rozwiązanie, którego odległość Euklidesowa od idealnego punktu Utopii była najmniejsza wśród wszystkich analizowanych punktów zbioru. Takie rozwiązanie miało współrzędne  $x_{1comp}=0,0750$  g/ml,  $x_{2comp}=214.2857$  W oraz  $x_{3comp}=9,0000$  minut. Na tym etapie podkreślić należy, że zbiory Pareto są szczególnie niezwykle użyteczne w zrozumieniu relacji kompromisowych między poszczególnymi celami i kryteriami w problemie wieloobiekowym (Hancock i Mattson, 2013).

Na rysunku 46 przedstawiono graficzną wizualizację zbiorów rozwiązań preferowanych, na tle rozwiązań kompromisowych. Tak naprawdę wybór drogi w interpretacji postoptymalizacyjnej będzie wynikiem wiedzy, doświadczenia i preferencji konkretnych decydentów. Dopiero połączenie metod matematycznych oraz procedur optymalizacyjnych ze znajomością procesów, technologii czy możliwościami aparaturowymi lub przemysłowi, pozwoli na świadome sterowanie procesem ekstrakcji dla zwiększenia pozyskiwania związków bioaktywnych.



Rysunek 46. Wizualizacja rozwiązań smart Pareto na tle rozwiązań kompromisowych. Kolor czerwony – inteligentne rozwiązanie Pareto, Kolor zielony – rozwiązania kompromisowe, Kolor niebieski – rozwiązania zdominowane.

Jednak podkreślić należy, że wyzwania, związane z artykulacją preferencji przez decydentów, są aktualnym problemem badawczym. Zdaniem Wang i in. (2017) dopiero zbudowanie praktycznego pomostu pomiędzy preferencjami i wiedzą projektanta procesu z możliwościami i procedurami optymalizacji doprowadzi do pełnego procesu podejmowania decyzji.

#### 4.6. Podsumowanie wyników badań optymalizacji wielokryterialnej ekstrakcji wodnej, wspomaganej ultradźwiękami

W badaniach skupiono 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 umożliwi przyszłościowe wykorzystanie ekstraktów w różnych gałęziach przemysłowych m.in. w przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy farmaceutycznym. Dodatkowo powstały po procesie poekstrakcyjny materiał roślinny można poddać dalszej i bezpiecznej rewaloryzacji, ze względu na wykorzystanie wody jako rozpuszczalnika. Badania wykazały, że całkowita pula związków fenolowych i flawonoidów oraz potencjał antyoksydacyjny wzrastały z wydłużaniem procesu ekstrakcji do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już podobną stałą wartość. Podobną zależność odnotowano w przypadku zwiększania stosunku biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody oraz mocy ultradźwięków. Jedynie w przypadku cukrów redukujących, stwierdzono największą wydajność ich ekstrakcji, gdy zastosowane brzegowe analizowane warunki procesu. Bazując na zbiorach rozwiązań Pareto-optymalnych, stwierdzono, że dla maksymalizacji kryteriów ekstrakcję wodną należy prowadzić przy stosunku biomasy *Levisticum officinale* do rozpuszczalnika na poziomie 0,0643 g/ml w czasie od 8,1429 do 9,0000 minut, przy wspomaganie ultradźwiękami o mocy od 162,8571 do 201,4286 W. Redukcja zbiorów Pareto i wykorzystanie podejścia tzw. Smart Pareto, umożliwiło wyznaczenie podzbiorów rozwiązań preferowanych. W podzbiorach optymalnych odnotowano, że dla podwyższonej wydajności ekstrakcji TPC, TFC oraz TAA procedura ekstrakcyjna może być prowadzona w czasie 8,5714 minut, przy zachowaniu stosunku biomasa/rozsuszczałnik – 0,0679, 0,0714, 0,0750 g/ml oraz mocy ultradźwięków – 201,4286, 214,2857 i 188,5714 W. Natomiast druga opcja w tym podzborze wskazuje na brzegowy czas ekstrakcji, wynoszący 9 minut, stosunek masy korzeni *Levisticum officinale* do wody na poziomie od 0,0643 do 0,0750 g/ml oraz mocy ultradźwięków od 175,7143 do 240,0000 W. Spośród rozwiązań kompromisowych wskazano tzw. „najbardziej efektywne” czyli rozwiązanie, dla którego odległość Euklidesowa od idealnego punktu Utopii była najmniejsza (wśród wszystkich analizowanych punktów zbioru), miało współrzędne  $x_{1comp}=0,0750$  g/ml,  $x_{2comp}=214,2857$  W oraz  $x_{3comp}=9,0000$  minut. Nowością i oryginalnością przedstawionych badań jest zaprojektowanie i optymalizacja zrównoważonej ekstrakcji, wspomaganej ultradźwiękami, dla maksymalizacji wydajności

pozyskiwanych cennych związków bioaktywnych, ze wskazaniem rozwiązań Pareto-  
optymalnych, preferowanych oraz kompromisowych. Uzyskane wyniki stanowiąc będą  
cenne narzędzie wspomagające proces podejmowania decyzji o sterowaniu takim procesem  
ekstrakcji, przy założeniu możliwości zwiększania skali przetwarzania przemysłowego  
korzeni *Levisticum officinale* w ekstrakty o wartości dodanej z punktu widzenia  
bioaktywnych związków.

## 5. Wnioski

1. Wykazano, że wielokryterialna optymalizacja ekstrakcji wodnej jest użyteczną techniką dla określenia optymalnych warunków procesu w celu uzyskania ekstraktów z korzeni *Levisticum officinale*, charakteryzujących się maksymalnym poziomem związków biologicznie czynnych.
2. Badania wykazały, że przyjęte procedury modelowania wpływu poszczególnych czynników procesów na analizowane kryteria są poprawne, a stworzone modele w bardzo dobrym stopniu odzwierciedlają proces, co pozwoliło je wykorzystać do wielokryterialnej optymalizacji, w której optymalizowano zmienne decyzyjne procesu dla maksymalizacji poszczególnych kryteriów.
3. Wyznaczono zbiory rozwiązań, gdyż procedury optymalizacyjne pokazały, dużą złożoność rozpatrywanego problemu badawczego, co w bezpośredni sposób utrudnia wybór jednej najlepszej odpowiedzi i znalezienie jednego najlepszego rozwiązania.
4. Analiza frontów Pareto pokazała, że dla maksymalnej wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych z *Levisticum officinale*, optymalne parametry procesu ekstrakcji konwencjonalnej wynosiły 0,7140 g/ml jako stosunek biomasy do wody oraz czas 35,7142 min, przy najwyższej analizowanej temperaturze. Dla najwyższej analizowanej wartości stosunku biomasy roślinnej i rozpuszczalnika (0,075 g/ml) oraz maksymalnej temperatury procesu (95°C) można prowadzić ekstrakcję przez 20 minut lub w zakresie 37,1429-38,5714 minut. Natomiast przy założeniu, że czas ekstrakcji osiąga 40 minut, a stosunek biomasa/woda 0,075 g/ml, optymalna temperatura procesu mieści się w zakresie od 75°C do 95°C.
5. Wykazano, że ekstrakcja wodna, wspomagana mikrofalowo, jest odpowiednią metodą do ekologicznego pozyskiwania fitozwiązków z biomasy lubczyku. W podzbiorach optymalnych wykazano, że dla satysfakcjonującego poziomu związków bioaktywnych, ekstrakcja powinna być przeprowadzona przy maksymalnej mocy mikrofal na poziomie 750 W. Rozwiązania preferowane uzyskano dla stosunku biomasy korzeni *Levisticum officinale* do wody w zakresie od 0,0536 g/ml do 0,0679 g/ml. Preferowany optymalny czas ekstrakcji wodnej wspomaganej mikrofalowo kształtował się od 64,2857 do 85,7143 sekund.
6. Badania wykazały, że całkowita pula związków fenolowych i flawonoidów oraz potencjał antyoksydacyjny wzrastały z wydłużaniem procesu ekstrakcji wspomaganej

ultradźwiękami, do osiągnięcia wartości krytycznej czasu, po którym analizowane wskaźniki przyjmowały już podobną stałą wartość.

7. Bazując na zbiorach rozwiązań Pareto- optymalnych, stwierdzono, że dla maksymalizacji kryteriów ekstrakcję wodną należy prowadzić przy stosunku biomasy *Levisticum officinale* do rozpuszczalnika na poziomie 0,0643 g/ml w czasie od 8.1429 do 9.0000 minut, przy wspomaganie ultradźwiękami o mocy od 162,8571 do 201,4286 W.
8. Redukcja zbiorów Pareto i wykorzystanie podejścia tzw. Smart Pareto, umożliwiło wyznaczenie podzbiorów rozwiązań preferowanych dla ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami. W podzbiorach optymalnych stwierdzono, że dla podwyższonej wydajności ekstrakcji TPC, TFC oraz TAA procedura ekstrakcyjna może być prowadzona w czasie 8,5714 minut, przy zachowaniu stosunku biomasa/rozpuszczalnik - 0,0679, 0,0714, 0,0750 g/ml oraz mocy ultradźwięków – 201,4286, 214,2857 i 188,5714 W.
9. Biomasa korzeni *Levisticum officinale* jest zasobna w związki bioaktywne o wysokim potencjale przeciwutleniającym. Wykazano także, że ekstrakcja wodna, wspomagana mikrofalowo oraz ultradźwiękowo, są odpowiednimi i bardziej wydajnymi technikami ekstrakcji do ekologicznego pozyskiwania fitozwiązków z biomasy lubczyku o zwiększonym potencjale przeciwutleniającym w porównaniu z metodą konwencjonalną. Dodatkowo powstały po procesie poekstrakcyjny materiał roślinny można poddać dalszej i bezpiecznej rewaloryzacji, ze względu na wykorzystanie wody jako rozpuszczalnika.

## **Wnioski uylitarne**

Na podstawie przeprowadzonych badań wskazano na możliwość praktycznych aplikacji uzyskanych rezultatów:

1. Zoptymalizowane warunki przetwarzania pozwolą nie tylko na ulepszenie procesu ekstrakcji, ale również będą niezbędne w zwiększeniu skali produkcji ekologicznej związków o potencjale przeciwutleniającym, przeznaczonych dla różnych gałęzi przemysłu, w tym zastosowania w farmacji, żywności czy agronomii. Zaproponowane w pracy procedury wielocelowej optymalizacji umożliwią nie tylko poszukiwanie zbioru rozwiązań optymalnych (parametrów procesu), ale także ułatwią proces decyzyjny, oparty na wiedzy, doświadczeniu i preferencjach decydenta.

2. Ekstrakcję wodną można zastosować jako bezpieczną metodę (nie wymagającą wykorzystywania szkodliwych dla środowiska rozpuszczalników), wytwarzania bogatych w bioaktywne związki ekstraktów z *Levisticum officinale*. Zoptymalizowane ekstrakty można wykorzystać do opracowania nowych preparatów biostymulujących dla rolnictwa, żywności funkcjonalnej lub kosmetyków naturalnych.

## 6. Bibliografia

- Aćimović, M. G., Kostadinović, L. M., Popović, S. J., & Dojčinović, N. S. (2015). Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 60(3), 237-246.
- Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R., & Najafi, M. N. (2016). Optimization of the subcritical water extraction of phenolic antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Box-Behnken design and principal component analysis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 234-244.
- Ahmed, T., Rana, M. R., Maisha, M. R., Sayem, A. S. M., Rahman, M., & Ara, R. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. kurz) pulp by response surface methodology. *Heliyon*, 8(10).
- Algan Cavuldak, Ö., Vural, N., Akay, M. A., & Anlı, R. E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted water extraction conditions for the extraction of phenolic compounds from black mulberry leaves (*Morus nigra* L.). *Journal of food process engineering*, 42(5), e13132.
- AlYammahi, J., Hai, A., Krishnamoorthy, R., Arumugham, T., Hasan, S. W., & Banat, F. (2022). Ultrasound-assisted extraction of highly nutritious date sugar from date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit powder: Parametric optimization and kinetic modeling. *Ultrasonics Sonochemistry*, 88, 106107.
- Assefa, A. D., Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2017). Extraction of antioxidants and flavonoids from yuzu (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peels: A response surface methodology study. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 364-379.
- Ayyildiz, S. S., Karadeniz, B., Sagcan, N., Bahar, B., Us, A. A., & Alasalvar, C. (2018). Optimizing the extraction parameters of epigallocatechin gallate using conventional hot water and ultrasound assisted methods from green tea. *Food and Bioprocess Processing*, 111, 37-44.
- Azzouzi, H., Elhajji, L., Achchoub, M., Benbati, M., & Salmaoui, S. (2021). Assessment of total phenolic content and antioxidant activity potential of clementine extract obtained by microwave assisted extraction method. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 18(3), 779-785.
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Gâvan, A., Iacoviță, C., Pinela, J., Barros, L., ... & Mocan, A. (2022). Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Thymus*

- comosus* Heuff. ex Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105954.
- Balas, A., & Popa, V. (2008). Bioactive compounds extracted from *Picea abies* bark. In *Proceedings of the 10th European workshop on lignocellulosics and pulp, Stockholm, Sweden* (pp. 25-28).
- Banerjee, S., & Chatterjee, J. (2015). Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. *Journal of food science and technology*, 52, 3158-3168.
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96-109.
- Batinić P., Čutović N., Mrđan S., Jovanović A.A., Čirić K., Marinković A., Bugarski B. (2022). The comparison of *Ocimum basilicum* and *Levisticum officinale* extracts obtained using different extraction solvents and techniques. *Nat. Med. Mat.; Lekovite sirovine*, (42), 43-43.
- Beck, J. J., & Chou, S. C. (2007). The structural diversity of phthalides from the Apiaceae. *Journal of natural products*, 70(5), 891-900.
- Brahmi, F., Blando, F., Sellami, R., Mehdi, S., De Bellis, L., Negro, C., ... & Makhoulf-Boulekbatche, L. (2022). Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures. *Industrial Crops and Products*, 184, 114977.
- Bystrzanowska, M., & Tobiszewski, M. (2019). Multi-objective optimization of microextraction procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 266-273.
- Chalker-Scott, L., & Fuchigami, L. H. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In *Low temperature stress physiology in crops* (pp. 67-80). CRC press.
- Chalker-Scott, L., & Fuchigami, L. H. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In *Low temperature stress physiology in crops* (pp. 67-80). CRC press.
- Chang, C. J., Chiu, K. L., Chen, Y. L., & Chang, C. Y. (2000). Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food chemistry*, 68(1), 109-113.
- Chanoti, S., & Tzia, C. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 178-189.

- Chen, C., You, L. J., Abbasi, A. M., Fu, X., & Liu, R. H. (2015). Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity in vitro. *Carbohydrate polymers*, *130*, 122-132.
- Chen, Y., Zhou, S., & Li, Q. (2010). Multiobjective topology optimization for finite periodic structures. *Computers & Structures*, *88*(11-12), 806-811.
- Chethan, S., & Malleshi, N. G. (2007). Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability. *Food chemistry*, *105*(2), 862-870.
- Coello Coello, C. A., Lamont, G. B. & Van Veldhuizen, D. A. *Evolutionary Algorithms for Solving Multi-Objective Problems* 2nd edn. (Springer US, 2007).
- Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of applied phycology*, *23*, 371-393.
- da Silva Donadone, D. B., Giombelli, C., Silva, D. L. G., Stevanato, N., da Silva, C., & Bolanho Barros, B. C. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and soluble sugars from the stem portion of peach palm. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(9), e14636.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food chemistry*, *166*, 585-595.
- Das, I. (1999). A preference ordering among various Pareto optimal alternatives. *Structural optimization*, *18*, 30-35.
- Dastan S., Turker I., Isleroglu H. (2022). Enhanced recovery of bioactive compounds from *Trigonella-foenum graecum* seeds by ultrasonic-assisted extraction. *J. Food Meas. Charact.*; *16*(2), 1073-1086
- del Pilar Garcia-Mendoza, M., Espinosa-Pardo, F. A., Savoie, R., Etchegoyen, C., Harscoat-Schiavo, C., & Subra-Paternault, P. (2021). Recovery and antioxidant activity of phenolic compounds extracted from walnut press-cake using various methods and conditions. *Industrial Crops and Products*, *167*, 113546.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H., Devasagayam, T.P. (2005). Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother. Res.*; *19*(11), 977-983
- Saha, J., Biswas, A., Chhetri, A., & Sarkar, P. K. (2011). Response surface optimisation of antioxidant extraction from kinema, a *Bacillus*-fermented soybean food. *Food chemistry*, *129*(2), 507-513.

- Ferreira, I. C., Martins, N., & Barros, L. (2017). Phenolic compounds and its bioavailability: In vitro bioactive compounds or health promoters?. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 82, pp. 1-44). Academic Press.
- Ferreira, J. C., Fonseca, C. M., & Gaspar-Cunha, A. (2007). Methodology to select solutions from the pareto-optimal set: a comparative study. In *Proceedings of the 9th annual conference on Genetic and evolutionary computation* (pp. 789-796).
- Foroughi, A.H., Razavi, M.J. (2022). Multi-objective shape optimization of bone scaffolds: Enhancement of mechanical properties and permeability. *Acta Biomater.*; 146, 317-340
- Gebreel, A. Y. (2021). Solving the multi-objective convex programming problems to get the best compromise solution. *Australian Journal of Basic and Applied Scientifics*, 15(5), 17-29.
- Gebreel, A. Y. (2023). The Best Compromise Solution for Multi-objective Programming Problems. *International Journal of Global Operations Research*, 4(4), 189-204.
- Gil-Ramírez A., Mendiola J.A., Arranz E., Ruíz-Rodríguez A., Reglero G., Ibáñez E., Marín F.R. (2012). Highly isoxanthohumol enriched hop extract obtained by pressurized hot water extraction (PHWE). Chemical and functional characterization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*; 16, 54-60
- Gil-Ramírez, A., Mendiola, J. A., Arranz, E., Ruíz-Rodríguez, A., Reglero, G., Ibáñez, E., & Marín, F. R. (2012). Highly isoxanthohumol enriched hop extract obtained by pressurized hot water extraction (PHWE). Chemical and functional characterization. *Innovative food science & emerging technologies*, 16, 54-60.
- González-Vallinas, M., González-Castejón, M., Rodríguez-Casado, A., & Ramírez de Molina, A. (2013). Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy: a complementary approach with promising perspectives. *Nutrition reviews*, 71(9), 585-599.
- Gómez-Salazar, J.A., Patlán-González, J., Sosa-Morales, M.E., Segovia-Hernandez, J.G., Sánchez-Ramírez E., Ramírez-Márquez C. (2022). Multi-objective optimization of sustainable red prickly pear (*Opuntia streptacantha*) peel drying and biocompounds extraction using a hybrid stochastic algorithm. *Food Bioprod. Process.* 132, 155-166
- Haddock, N., Mattson, C., & Knight, D. (2008). Exploring direct generation of smart Pareto sets. In *12th AIAA/ISSMO Multidisciplinary Analysis and Optimization Conference* (p. 5984).

- Hancock, B. J., & Mattson, C. A. (2013). The smart normal constraint method for directly generating a smart Pareto set. *Structural and Multidisciplinary Optimization*, 48, 763-775.
- Hayat, K., Hussain, S., Abbas, S., Farooq, U., Ding, B., Xia, S., Xia, W. (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Sep. Purif. Technol.* 70(1), 63-70
- He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food chemistry*, 204, 70-76.
- Hu, H., Zhao, Q., Pang, Z., Xie, J., Lin, L., & Yao, Q. (2018). Optimization extraction, characterization and anticancer activities of polysaccharides from mango pomace. *International journal of biological macromolecules*, 117, 1314-1325.
- Iglesias-Carres, L., Mas-Capdevila, A., Bravo, F. I., Aragonès, G., Muguerza, B., & Arola-Arnal, A. (2019). Optimization of a polyphenol extraction method for sweet orange pulp (*Citrus sinensis* L.) to identify phenolic compounds consumed from sweet oranges. *PLoS One*, 14(1), e0211267.
- Iqbal, S., Younas, U., Sirajuddi Chan, K.W., Sarfraz, R.A., Uddin, K. (2012). Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *Int. J. Mol. Sci.*; 13(6), 6651-6664.
- Irakli, M., Chatzopoulou, P., & Ekateriniadou, L. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 124, 382-388.
- Ivanović, M., Albreht, A., Krajnc, P., Vovk, I., & Razboršek, M. I. (2021). Sustainable ultrasound-assisted extraction of valuable phenolics from inflorescences of *Helichrysum arenarium* L. using natural deep eutectic solvents. *Industrial Crops and Products*, 160, 113102.
- Jerez, M., Pinelo, M., Sineiro, J., & Núñez, M. J. (2006). Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. *Food chemistry*, 94(3), 406-414.
- Jun, X., Deji, S., Ye, L., & Rui, Z. (2011). Comparison of in vitro antioxidant activities and bioactive components of green tea extracts by different extraction methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 408(1-2), 97-101.

- Kao, G. K., & Jacobson, S. H. (2008). Finding preferred subsets of Pareto optimal solutions. *Computational optimization and applications*, 40, 73-95.
- Kasprzak, E. M., & Lewis, K. E. (2000). An approach to facilitate decision tradeoffs in pareto solution sets. *Journal of Engineering Valuation and Cost Analysis*, 3(1), 173-187.
- Kasprzak, E. M., & Lewis, K. E. (2001). Pareto analysis in multiobjective optimization using the collinearity theorem and scaling method. *Structural and Multidisciplinary Optimization*, 22, 208-218.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., & Alam, M. S. (2006). Punica granatum (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology*, 44(7), 984-993.
- Kim, D. S., & Lim, S. B. (2020). Extraction of flavanones from immature Citrus unshiu pomace: process optimization and antioxidant evaluation. *Scientific Reports*, 10(1), 19950.
- Krivorotova, T., & Sereikaite, J. (2014). Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(6), 329-333.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105325.
- Kutlu, N., Kamiloglu, A., & Elbir, T. (2022). Optimization of Ultrasound Extraction of Phenolic Compounds from Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Using Box–Behnken Design. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(11), 5397-5408.
- Lee, L. S., Lee, N., Kim, Y. H., Lee, C. H., Hong, S. P., Jeon, Y. W., & Kim, Y. E. (2013). Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules*, 18(11), 13530-13545.
- Li, D. C., & Jiang, J. G. (2010). Optimization of the microwave-assisted extraction conditions of tea polyphenols from green tea. *International journal of food sciences and nutrition*, 61(8), 837-845.
- Lin, G., Chan, S. S. K., Chung, H. S., & Li, S. L. (2005). Chemistry and biological activities of naturally occurring phthalides. *Studies in natural products chemistry*, 32, 611-669.
- Mahdi, A. A., Rashed, M. M., Al-Ansi, W., Ahmed, M. I., Obadi, M., Jiang, Q., ... & Wang, H. (2019). Enhancing bio-recovery of bioactive compounds extracted from *Citrus medica* L. Var. *sarcodactylis*: optimization performance of integrated of pulsed-

- ultrasonic/microwave technique. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1661-1673.
- Mandal, C., Jaiswal, M., & Bosco, S. J. D. (2023). Process optimization for ultrasound and microwave-assisted phytonutrients extractions from *Averrhoa carambola* fruit. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13.
- Marler, R. T., & Arora, J. S. (2010). The weighted sum method for multi-objective optimization: new insights. *Structural and multidisciplinary optimization*, 41, 853-862.
- Martiny, T. R., Raghavan, V., de Moraes, C. C., da Rosa, G. S., & Dotto, G. L. (2021). Optimization of green extraction for the recovery of bioactive compounds from Brazilian olive crops and evaluation of its potential as a natural preservative. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), 105130.
- Mattson, C. A., Mullur, A. A., & Messac, A. (2004). Smart Pareto filter: Obtaining a minimal representation of multiobjective design space. *Engineering Optimization*, 36(6), 721-740.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.
- Messac, A., & Mattson, C. A. (2002). Generating well-distributed sets of Pareto points for engineering design using physical programming. *Optimization and Engineering*, 3, 431-450.
- Messac, A., & Mattson, C. A. (2004). Normal constraint method with guarantee of even representation of complete Pareto frontier. *AIAA journal*, 42(10), 2101-2111.
- Miettinen, K. (1999). *Nonlinear multiobjective optimization* (Vol. 12). Springer Science & Business Media.
- Miran, M., Esfahani, H. M., Jung, J. H., Aliahmadi, A., Skropeta, D., Abbas-Mohammadi, M., ... & Farimani, M. M. (2020). Characterization and Antibacterial Activity of Phthalides from the Roots of the Medicinal Herb *Levisticum officinale* WDJ Koch. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 19(2), 182.
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162, 68-76.
- Mondal, S. C., Lee, W. H., & Eun, J. B. (2023). Ultrasonic extraction of reducing sugar and polyphenols from burdock (*Arctium lappa* L.) root waste and evaluation of

- antioxidants and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-18.
- Monsef, H., Naghashzadegan, M., Jamali, A., & Farmani, R. (2019). Comparison of evolutionary multi objective optimization algorithms in optimum design of water distribution network. *Ain Shams Engineering Journal*, 10(1), 103-111.
- Munro, M., & Aouni, B. (2012). Group decision makers' preferences modelling within the goal programming model: An overview and a typology. *Journal of Multi-Criteria Decision Analysis*, 19(3-4), 169-184.
- Muruges, C. S., Rastogi, N. K., & Subramanian, R. (2018). Athermal extraction of green tea: Optimisation and kinetics of extraction of polyphenolic compounds. *Innovative food science & emerging technologies*, 50, 207-216.
- Nikolić, V. G., Troter, D. Z., Savić, I. M., Gajić, I. M. S., Zvezdanović, J. B., Konstantinović, I. B., & Konstantinović, S. S. (2023). Design and optimization of “greener” and sustainable ultrasound-assisted extraction of valuable bioactive compounds from common centaury (*Centaureum erythraea* Rafn) aerial parts: A comparative study using aqueous propylene glycol and ethanol. *Industrial Crops and Products*, 192, 116070.
- Nuerxiati, R., Abuduwaili, A., Mutailifu, P., Wubulikasimu, A., Rustamova, N., Jingxue, C., ... & Yili, A. (2019). Optimization of ultrasonic-assisted extraction, characterization and biological activities of polysaccharides from *Orchis chusua* D. Don (Salep). *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 431-443.
- Özcan, M. M., Doğu, S., & Uslu, N. (2018). Effect of species on total phenol, antioxidant activity and phenolic compounds of different wild onion bulbs. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 902-905.
- Pannek, J., Gach, J., Boratyński, F., & Olejniczak, T. (2018). Antimicrobial activity of extracts and phthalides occurring in Apiaceae plants. *Phytotherapy research*, 32(8), 1459-1487.
- Parvin, K., Nahar, K., Mohsin, S.M., Al Mahmud, J., Fujita, M., Hasanuzzaman, M. (2022). Plant Phenolic Compounds for Abiotic Stress Tolerance. In: Hasanuzzaman, M., Ahammed, G.J., Nahar, K. (eds) *Managing Plant Production Under Changing Environment*. Springer, Singapore; 193-237
- Pérez-Serradilla, J. A., & De Castro, M. L. (2011). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food chemistry*, 124(4), 1652-1659.

- Piccolella, S., Crescente, G., Candela, L., & Pacifico, S. (2019). Nutraceutical polyphenols: New analytical challenges and opportunities. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 175, 112774.
- Popa, V. I., & Beleca, C. (1994). On the role played by some natural products, with aromatic structure, in processes of plant growing. *Cellulose Chemistry and Technology*, 28(6), 613-620
- Radojković, M., Zeković, Z., Jokić, S., Vidović, S., Lepojević, Ž., & Milošević, S. (2012). Optimization of solid-liquid extraction of antioxidants from black mulberry leaves by response surface methodology. *Food Technology and Biotechnology*, 50(2), 167-176.
- Ramirez-Atencia, C., Rodriguez-Fernandez, V., & Camacho, D. (2020). A revision on multi-criteria decision making methods for multi-UAV mission planning support. *Expert Systems with Applications*, 160, 113708.
- Rangaiah, G. P. (2009). *Multi-objective optimization: techniques and applications in chemical engineering*. World Scientific: Singapore,
- Rangaiah, G. P., Sharma, S., & Sreepathi, B. K. (2015). Multi-objective optimization for the design and operation of energy efficient chemical processes and power generation. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 10, 49-62.
- Reynoso-Meza, G., Sanchis, J., Blasco, X., & Freire, R. Z. (2016). Evolutionary multi-objective optimisation with preferences for multivariable PI controller tuning. *Expert Systems with Applications*, 51, 120-133.
- Reynoso-Meza, G., Sanchis, J., Blasco, X., & Garcia-Nieto, S. (2014). Physical programming for preference driven evolutionary multi-objective optimization. *Applied Soft Computing*, 24, 341-362.
- Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knödler, M., Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110(3), 620-626.
- Rocha, J. D. C. G., Procopio, F. R., Mendonca, A. C., Vieira, L. M., Perrone, I. T., Barros, F. A. R. D., & Stringheta, P. C. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits. *Food Science and Technology*, 38, 45-53.
- Rodrigues, S., Pinto, G. A., & Fernandes, F. A. (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1), 95-100.

- Ryu, D., & Koh, E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and phenolic compounds from black soybeans (*Glycine max* L.). *Food analytical methods*, *12*, 1382-1389.
- San Cristóbal, J.R. (2011). Multi-criteria decision-making in the selection of a renewable energy project in Spain: The VIKOR method. *Renewable Energy*, *36*(2), 498-502.
- Šeremet, D., Jokić, S., Aladić, K., Cebin, A. V., Božac, N., Mandura, A., & Komes, D. (2021). Optimization of heat-, microwave-assisted and subcritical water extraction of phenolic compounds from ground ivy (*Glechoma hederacea* L.) using response surface methodology. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, *25*, 100346.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, *18*, 820-897.
- Sharma, H. S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J. R., & Martin, T. (2014). Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of applied phycology*, *26*, 465-490.
- Shukla, S., Mehta, A., John, J., Singh, S., Mehta, P., & Vyas, S. P. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of *Caesalpinia bonducella* seeds. *Food and chemical toxicology*, *47*(8), 1848-1851.
- Singh, B., Singh, N., Thakur, S., & Kaur, A. (2017). Ultrasound assisted extraction of polyphenols and their distribution in whole mung bean, hull and cotyledon. *Journal of Food Science and Technology*, *54*, 921-932.
- Song, J., Li, D., Liu, C., & Zhang, Y. (2011). Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. *Innovative food science & emerging technologies*, *12*(3), 282-287.
- Spréa, R. M., Fernandes, Â., Finimundy, T. C., Pereira, C., Alves, M. J., Calhelha, R. C., ... & Ferreira, I. C. (2020). Lovage (*Levisticum officinale* WDJ Koch) roots: A source of bioactive compounds towards a circular economy. *Resources*, *9*(7), 81.
- Szádoczki, Z., Bozóki, S., Juhász, P., Kadenko, S. V., & Tsyganok, V. (2023). Incomplete pairwise comparison matrices based on graphs with average degree approximately 3. *Annals of Operations Research*, *326*(2), 783-807.
- Szparaga, A., Stachnik, M., Czerwińska, E., Kocira, S., Dymkowska-Malesa, M., & Jakubowski, M. (2019). Multi-objective optimization based on the utopian point

- method applied to a case study of osmotic dehydration of plums and its storage. *Journal of food engineering*, 245, 104-111.
- Szparaga, A. (2023). Biostimulating Extracts from *Arctium lappa* L. as Ecological Additives in Soy- bean Seed Coating Applications. *Agricultural Engineering*, 27(1), 1-10.
- Tanase, C., Bujor, O. C., & Popa, V. I. (2019). Chapter 3-Phenolic Natural Compounds and Their Influence on Physiological Processes in Plants. in (ed. Watson, RRBT-P. in P.(Second E.) 45–58.
- Tunçtürk, M., & Özgökçe, F. (2015). Chemical composition of some Apiaceae plants commonly used in herby cheese in Eastern Anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(1), 55-62.
- Vázquez, G., Fernández-Agulló, A., Gómez-Castro, C., Freire, M. S., Antorrena, G., & González-Álva- rez, J. (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 126-134.
- Viacava, G. E., Roura, S. I., & Agüero, M. V. (2015). Optimization of critical parameters during antioxidants extraction from butterhead lettuce to simultaneously enhance polyphenols and antioxidant activity. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 146, 47-54.
- Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.
- Vu, H. T., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. (2019). Maximising recovery of phenolic compounds and antioxidant properties from banana peel using microwave assisted extraction and water. *Journal of food science and technology*, 56, 1360-1370.
- Vuong, Q. V., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2011). Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of separation science*, 34(21), 3099-3106.
- Vural, N., Cavuldak, Ö. A., & Akay, M. A. (2021). D-Optimal design and multi-objective optimization for green extraction conditions developed with ultrasonic probe for oleuropein. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 20, 100279.
- Wang, H., Olhofer, M., & Jin, Y. (2017). A mini-review on preference modeling and articulation in multi-objective optimization: current status and challenges. *Complex & Intelligent Systems*, 3, 233-245.

- Woinaroschy, A., & Dařsa, F. (2017). Multiobjective Optimization of Total Monomeric Anthocyanins and Total Flavonoids Contents in Ultrasound-Assisted Extraction from Purple Potato Tubers. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3), e12422.
- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T., & Wang, Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food chemistry*, 113(1), 160-165.
- Zio, E., & Bazzo, R. (2011). A clustering procedure for reducing the number of representative solutions in the Pareto Front of multiobjective optimization problems. *European Journal of Operational Research*, 210(3), 624-634.

## **Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu publikacji**

**P1. Plawgo, M.,** Kocira, S., & Bohata, A. (2024). Multi-Objective Optimization of the Green Extraction Conditions of Bio-Active Compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: Pareto Optimality and Compromise Solutions for Process Management. *Agricultural Engineering*, 28(1), 137-165. DOI: 10.2478/agriceng-2024-0010 **(40 pkt. MNiSW)**.

## MULTI-OBJECTIVE OPTIMIZATION OF THE GREEN EXTRACTION CONDITIONS OF BIO-ACTIVE COMPOUNDS FROM A *LEVISTICUM OFFICINALE* WDJ KOCH: PARETO OPTIMALITY AND COMPROMISE SOLUTIONS FOR PROCESS MANAGEMENT

Michał Plawgo<sup>a</sup>, Sławomir Kocira<sup>b,c\*</sup>, Andrea Bohata<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Future Production AS, Svanedamsveien 10, 4621 Kristiansand, Norway; [michal.plawgo@gmail.com](mailto:michal.plawgo@gmail.com), ORCID 0009-0004-2902-285X

<sup>b</sup> Department of Machinery Exploitation and Management of Production Processes, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland; [slawomir.kocira@up.lublin.pl](mailto:slawomir.kocira@up.lublin.pl), ORCID 0000-0002-2888-3023

<sup>c</sup> Department of Landscape Management, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, České Budějovice, 370 05, Czech Republic; [skocira@fzt.jcu.cz](mailto:skocira@fzt.jcu.cz), ORCID 0000-0002-2888-3023

<sup>d</sup> Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, České Budějovice, 370 05, Czech Republic; [bohata@fzt.jcu.cz](mailto:bohata@fzt.jcu.cz), ORCID 0000-0002-3646-5366

\* Corresponding author: e-mail: [slawomir.kocira@up.lublin.pl](mailto:slawomir.kocira@up.lublin.pl)

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received: January 2024

Received in the revised form: April 2024

Accepted: May 2024

#### Keywords:

water extraction,  
modeling,  
optimization,  
Pareto optimality,  
lovage

### ABSTRACT

Plants belonging to the Apiaceae family (including *Levisticum officinale* WDJ Koch) are rich sources of phytochemicals and secondary metabolites, with possible health-promoting and agrochemical potential. The objective of this work was to provide important guidelines for controlling conventional aqueous extraction to obtain *Levisticum officinale* root extracts with maximised levels of bioactive compounds. The ultimate goal was to optimise the total phenolic compounds, flavonoid content, sugars, and total antioxidant capacity to identify the process conditions necessary to produce highly bioactive extracts that could be used in a wide range of industries. Biomass extraction of lovage root was carried out using water as the extraction solvent. To perform the optimisation of the aqueous extraction, multivariate regression models were used and multi-criteria analysis was performed using Pareto set navigation. Pareto front analysis showed that for the maximum extraction efficiency of bioactive compounds from *Levisticum officinale*, the optimal extraction process parameters were 0.0714 g·mL<sup>-1</sup> as biomass/water ratio and a time of 35.7142 min, at the highest analysed temperature. For the highest analysed value of plant biomass/solvent ratio (0.075 g·mL<sup>-1</sup>) and maximum process temperature (95°C), extraction could be carried out for 20 min or in the range 37.1429-38.5714 min. On the other hand, if the extraction time reaches 40 min and the sample/solvent ratio 0.075 g·mL<sup>-1</sup>, the optimum process temperature is between 75°C and 95°C.

## Introduction

The centuries-old tradition of using aromatic plants in folk medicine has become part of the current search for new agricultural, food, pharmaceutical, or cosmetic products. Previous research has shown that plants belonging to the Apiaceae family (including *Levisticum officinale* WDJ Koch) are a rich source of phytochemicals and secondary metabolites, with possible health-promoting and agrochemical potential (Aćimović et al., 2015; 2. Tunçtürk and Özgökçe, 2015; Spréa et al., 2020). Research into the production of plant extracts with antioxidant potential, using diverse extraction methods, is a current research trend, in terms of their use in food production and sustainable agriculture (Szparaga, 2023a; Szparaga, 2023 b). Particular attention is currently focused on the optimisation of production processes in terms of extraction parameters for maximising antioxidant levels (Lee et al., 2013; Radojković et al., 2012; Vuong et al., 2011; Algan Cavuldak et al., 2019). Antioxidant compounds (including polyphenols and flavonoids) are a widely distributed group in the plant kingdom. The potential of bioactive compounds is used in medicine, and not only in the effective treatment of many chronic diseases (Özcan et al., 2018) but also in the prevention of oxidative stress damage and diseases of civilisation (Mahdi et al., 2019), as well as in agronomy, due to the fact that they are involved in the stimulation of plant growth, as well as in plant responses to environmental stresses (Chalker-Scott and Fuchigami, 2018). Their antioxidant potential is also a promising property for enhancing the tolerance of crop plants to changing climatic conditions, in the aspect of not only phytoprotective but also biostimulatory effects (Parvin et al., 2022). Therefore, the scientific basis for understanding effective extraction methods and optimising antioxidant activity, is important for the use of natural plant extracts in the food or pharmaceutical industry, as well in large-scale agro-industrial systems (Melo et al., 2015). Nowadays is a growing trend in research into natural antioxidant compounds that could replace synthetic products, including food additives and agrochemicals, commonly used in food production and agriculture (Kaur et al., 2006). Extracts from plant materials, rich in phenolic compounds, are becoming of increasing interest in organic farming, as they may show biostimulant, antifungal and bioprotective potential (Shukla et al., 2009). In the search for plant biomaterials for various applications, attention is being paid to conventional methods, based on solid-liquid extraction using water, considering the ecological aspect of this process. The rationale behind this approach includes eliminating undesirable effects on the environment, as well as on people and crops (Gil-Ramírez et al., 2012; Ahmadian-Kouchaksaraie et al., 2016). However, for the optimisation of aqueous bioextraction, it is important to consider the main parameters such as process temperature, solid/liquid ratio, and extraction time (Vuong et al., 2011), which will determine the potential and utilisation of the produced extracts (Murugesha et al., 2018). Therefore, given the negative impact of chemical processes and current aspirations and legislation (including the objectives and principles of Green Chemistry and the European Green Deal), sustainable and environmentally friendly solutions are being sought, including optimization of production processes, to increase extraction efficiency while eliminating immediate and long-term environmental impacts (Martiny et al., 2021). Considering the above aspects, the current tendency is to promote bioproducts, including plant extracts, as valuable tools with pharmacological potential, as well as biostimulatory for crops (Gonçalves, 2021; Dastan et al., 2022). The extraction process is considered an operation to produce bioactive materials from biological matrices (Chouhan et

al., 2019). Conventional extraction methods include maceration, Soxhlet extraction, or hydrodistillation. Nevertheless, many researchers have underlined that organic solvents are too commonly used in these methods (Dastan et al., 2022; Farahmandfar et al., 2019). Currently, water has become increasingly important as an environmentally friendly extraction solvent, with properties that can be controlled by changing temperature (Ahmadian-Kouchaksaraie et al., 2016). However, according to Batinić et al. (2022), it is difficult to develop a general protocol for the extraction of active compounds, including phenolic compounds, from plant materials, therefore the extraction process should be optimised for each source of plant material (Batinić et al., 2022). Green extraction operations should be integrated with efficient optimisation methods with a view to specifying the effectiveness of extraction techniques, such as Multi-objective optimisation, Multicriteria decision analysis (Mahdi et al., 2019; Bystrzanowska and Tobiszewski, 2019). Multivariate optimisation is currently gaining increasing importance in process design, where modelling, optimisation of results, and their scaling to industrial production, is carried out for several variables with multiple responses simultaneously.

In light of the above, this research aims to provide some important guidelines for controlling conventional aqueous extraction to obtain *Levisticum officinale* root extracts with maximised levels of bioactive compounds. Therefore, the present study evaluated and optimised the antioxidant potential of aqueous extracts from *Levisticum officinale* in terms of analysing the influence of extraction process parameters, i.e. temperature, time, and plant biomass/solvent ratio. The final objective was to optimise the total phenolic compounds, flavonoid content, sugars, and total antioxidant capacity for identifying the process conditions necessary to produce highly bioactive extracts that could be used in a wide range of industries. It can be expected that innovations in the use of decision theory based on mathematical models and broad optimisation tools, with the objective of improving and optimising conventional extraction techniques, can provide a new and broader dimension for increasing research opportunities in Multi-objective optimisation of ecological extraction methods.

## Material and Methods

### Plant material

The dried roots of an organically grown *Levisticum officinale* (sourced from Runo Polska, PL-EKO 07 EU Organic Farming) were ground to powder (fraction size of 500 µm). The ground powder was stored at 4°C in airtight bags until further use.

### Hot water extraction (HWE)

Extraction using lovage root biomass was carried out with 100 ml of water (at pH 7.0) as an extraction solvent. Extraction was carried out in an Elpin + type 357 shaking water bath. For HWE, the independent variables were extraction time (20, 30, and 40 min), temperature (75, 85, and 95°C), and plant biomass/water (w/v) ratio (0.025 g·mL<sup>-1</sup>, 0.050 g·mL<sup>-1</sup> and 0.075 g·mL<sup>-1</sup>). All extractions were carried out in triplicate. Extractions were followed by centrifugation (9500 rpm, 20 min) and filtration (Whatman® No. 1 filter paper). The collected supernatant was stored at 4°C in sealed dark glass bottles until further use.

### Bioactive characterization of obtained extracts

In the extract, the total phenolic content (TPC) was determined. Quantification of total phenolic compounds was carried out using a modified method proposed by Ribeiro et al. (2008). A calibration curve was made using gallic acid as a standard and the polyphenol content was determined in mg gallic acid·g<sup>-1</sup> extract.

The total flavonoid content (TFC) of the extracts was determined by the method proposed by (Iqbal et al., 2012). The TFC content in the samples was calculated as catechin equivalent (μmol·L<sup>-1</sup>) from a standard catechin standard curve.

The total antioxidant activity (TAA) was also assessed in the extracts. The antioxidant activity of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was determined according to the method of Lee et al. (2013). The scavenging activity was calculated according to Equation:

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}})/\text{Abs}_{\text{control}}] \times 100 \quad (1)$$

The content of reducing sugars (RSC) was determined using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNSA) method. The measurement was carried out according to the procedure by Krivo-rotova and Sereikaite (2014). The amount of reducing sugars in the extracts was calculated using a standard curve for D-glucose and the results were expressed as g of D-glucose equivalent (GE) per L of extract.

### Mathematical model

The strategy to improve the extraction efficiency, in terms of increasing the level of bio-active compounds, was to use mathematical models and optimisation tools using computer calculation and simulation packages. The application of optimization techniques to the solution of specific agro-food problems, is now highly valued, as it allows efficient and intelligent support for the design of unit processes, enabling the production of a highly acceptable product. Therein this approach fits in the current research, among others, in the field of decision-making theory based on mathematical models and optimization results.

Multivariate regression models (Matlab R, 2021a) were used to perform the optimisation of the aqueous extraction. The models were derived from experimental data and quality characteristics of extracts from *Levisticum officinale*. The analysed process parameters/decision variables were sample/solvent ratio (g·mL<sup>-1</sup>) (x<sub>1</sub>), time of extraction (min) (x<sub>2</sub>), and temperature of the extraction (°C) (x<sub>3</sub>).

The dependencies of the selected decision criteria on the decision variables were described using multivariate polynomials, defined as:

$$y_{reg}(x_1, x_2, x_3) = a_0 + a_1 * x_1 + a_2 * x_2 + a_3 * x_3 + a_4 * x_1 * x_2 + a_5 * x_1 * x_3 + a_6 * x_2 * x_3 + a_7 * x_1^2 + a_8 * x_2^2 + a_9 * x_3^2 \quad (2)$$

The quality of fit of the model to the experimental data was evaluated based on the obtained values of the R<sup>2</sup> Statistic, adjusted R<sup>2</sup> (Adj R<sup>2</sup>), and Mean Squared Prediction Error (MSE) indices (Curve fitting, 2004).

$R^2$  as a statistic measures the effectiveness of the fit in explaining variation in the data. Mathematically, it is the square of the correlation between response values and predicted response values.  $R^2$  is also the square of the multiple correlation coefficient and the multiple determination coefficient. In notation, it is defined as the ratio of the sum of squares of the regression (SSR) and the total sum of squares (SST) (Curve fitting, 2004). SSR is defined as

$$SSR = \sum_{i=1}^n w_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 \quad (3)$$

SST is also called the sum of squares around the mean and is defined as:

$$SST = \sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 \quad (4)$$

where:

$$SST = SSR + SSE \quad (5)$$

Given these definitions, the  $R^2$  is expressed as

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SST} \quad (6)$$

The  $R^2$  coefficient can take any value from 0 to 1, with a value closer to 1 indicating a higher degree (higher measure) of fit.

The adjusted  $R^2$  statistic is generally the best indicator of the quality of fit when additional coefficients are added to the model.

$$Adj R^2 = 1 - \frac{SSE(n-1)}{SST(v)} \quad (7)$$

where:

- $v$  – Degrees of Freedom,
- SSE – Sum of Squares Due to Error,
- SST – the sum of squares about the mean.

$$SSE = \sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (8)$$

SSE is a statistic that measures the total deviation of the response value from the match to the response value.

The adjusted  $R^2$  statistic can take any value less than or equal to 1, with a value closer to 1 indicating a higher degree (higher measure) of fit (Curve fitting, 2004).

Mean Squared Prediction Error (MSE) measures the mean squared deviation between the experimental data and theomi values derived from the adopted model:

$$MSE = \frac{SSE}{v} \quad (9)$$

### Multi-objective optimization

In the optimization task under consideration, a four-dimensional criteria space was assumed  $K = [K_1, K_2, K_3, K_4] \in \mathbb{R}^4$ , in which solutions were sought for which all criteria would take extreme values. The multi-objective extraction optimization procedure is shown in Figure 1.

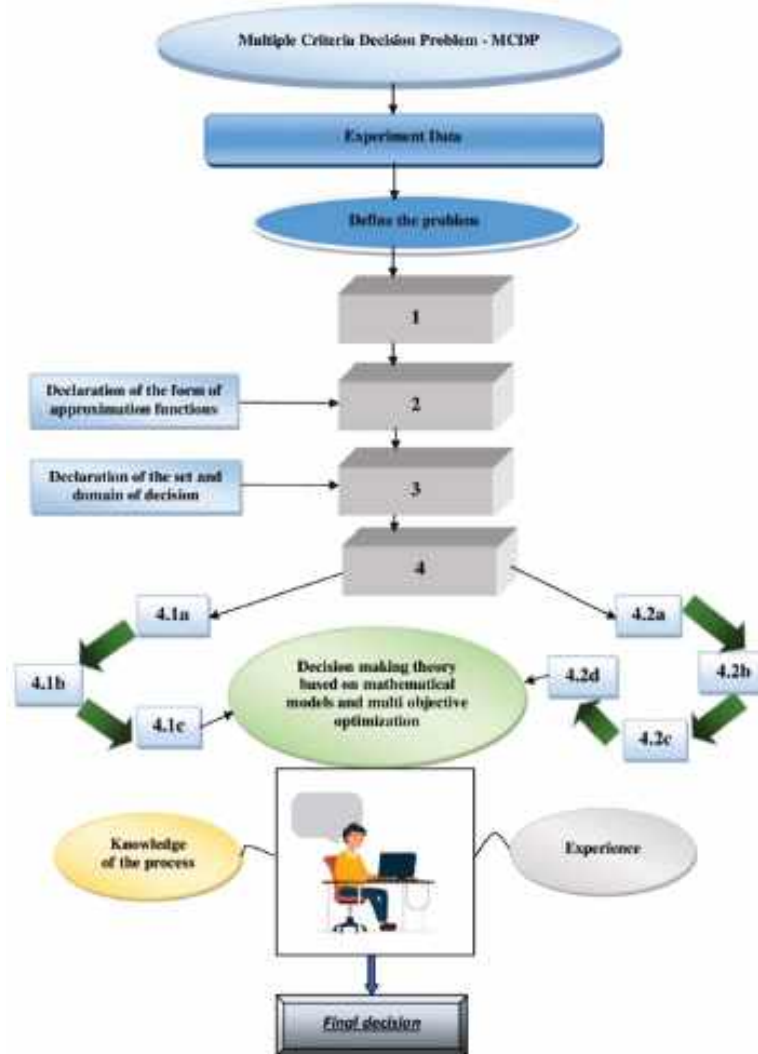


Figure 1. The flowchart of Multi-objective optimization of the extraction  
 Legend: 1 – Uploading experimental data; 2 – Mathematical Model – Multidimensional Regression; 3 –Determination of the value of the decision criteria; 4 – Normalization of the decision criteria; 4.2a – Calculation of the distance from the Utopia solution in the space of decision criteria; 4.2b – Determine a boundary value of metric for compromise solutions; 4.2c – Determination of the metric value for the analyzed set of solutions in the decision criteria space; 4.2d – Determination of sets of compromise solutions in decision variables; 4.1a –Determination of sets of dominated and Pareto-optimal solutions in the space of decision criteria; 4.1b –Determination of the Pareto front in the space of decision criteria and variables; 4.1c – Determination of a subset of Pareto-optimal solutions in the space of decision variables

The goal of the optimization was to obtain an aqueous extract from *Levisticum officinale*, characterized by the maximum value of criteria  $K_1$ - $K_4$ . Decision criteria were defined in the following forms:

- Criterion  $K_1$  – TPC total phenolic content, (mg GAE·g<sup>-1</sup>)
- Criterion  $K_2$  – TFC total flavonoids content, (μmol CAT·L<sup>-1</sup>)
- Criterion  $K_3$  – TAA total antioxidant activity, (DPPH-%inh)
- Criterion  $K_4$  – RSC reducing sugar content, (g GE·L<sup>-1</sup>)

The criteria were calculated for a defined set of decision variables for the extraction process:

- Decision variable  $x_1$  – Sample/solvent ratio, (g·mL<sup>-1</sup>)
- Decision variable  $x_2$  – Time, (min)
- Decision variable  $x_3$  – Temperature, (°C)

The mathematical form of the set of decision variables (domain) was defined by the formula:

$$D = x_1 \times x_2 \times x_3 \quad (10)$$

Constraints imposed on decision variables:

$$x_1 \in \langle 0,025 ; 0,075 \rangle (g \cdot mL^{-1}) \quad (11)$$

$$x_2 \in \langle 20 ; 40 \rangle (min) \quad (12)$$

$$x_3 \in \langle 75 ; 95 \rangle (°C) \quad (13)$$

The values of all decision criteria for a fixed set of decision variables  $D$  were determined by multivariate approximation of experimental results.

Multi-objective optimization task consisted in determining the set of solutions in the set  $D$  for decision criteria satisfying conditions:

$$K_1 \rightarrow max, K_2 \rightarrow max, K_3 \rightarrow max, K_4 \rightarrow max$$

To facilitate the solution of this task, the decision criteria were scaled to dimensionless variables and normalized as follows:

$$K_i^{(n)} = \frac{K_i^{max} - K_i}{K_i^{max} - K_i^{min}} \quad i = 1,2,3,4 \quad K_i^{(n)} \in \langle 0; 1 \rangle \quad (14)$$

where:

$K_i^{min}$  i  $K_i^{max}$  denote the smallest and largest value of the criteria, respectively, for the analyzed set of decision variables  $D$ .

The normalization procedure made it possible to compare with each other the values of criteria describing different quantities and expressed in different units. The maximum value of the actual criterion corresponds in the space of normalized criteria to the value of 0. In the following part of the procedure, only normalized decision criteria will be used with the superscript (n) at  $K$  omitted. In the next step, a dominance relation was introduced between two, arbitrary vectors of decision criteria  $K=[K_1, K_2, K_3, K_4]$  and  $K'=[K_1', K_2', K_3', K_4']$  belonging to the set  $D$  of the form:

$$K \succ K' \Leftrightarrow K - K' \in C \quad C = \{(a_1; a_2; a_3; a_4) \in R^4: a_1, a_2, a_3, a_4 \leq 0\} \quad (15)$$

If one assumes that the  $K=[K_1, K_2, K_3, K_4]$  will be any vector in the space of decision criteria, then the solution  $X^*$  is called optimal in the Pareto sense if the implication is true for any admissible solution  $X:K(X^*) \succ K(X) \Rightarrow K(X^*) = K(X)$ .

The set of all possible Pareto-optimal solutions is also called the set of non-dominated (Pareto-optimal) solutions. On this basis, the explicit form of the set of dominated and non-dominated (Pareto-optimal) solutions for water extracts in the space of decision criteria was determined. The set of Pareto-optimal and dominated solutions form a set in a four-dimensional criteria space. To analyze and visualize these sets, subsets of the four-dimensional space  $(K_1, K_2, K_3, K_4)$  in three-dimensional and two-dimensional decision criteria spaces were considered (Gómez-Salazar et al., 2022).

### Reduce the Set of Pareto Optimal Solutions – the compromise solutions

By definition, Pareto optimal solutions are incomparable with each other. Therefore, to select a smaller subset from the set of these solutions, a reduction of this set can be carried out by applying an efficiency measure for each element of the Pareto set. In the optimization task, the definition of the Utopia point considered the optimal solution in all respects (efficiency of order 1), is adopted (Szparaga et al., 2019; Sato et al., 2017). The Utopia point is the ideal point that maximizes the goals simultaneously (the so-called unattainable point). Therefore, the concept of achievable preferred solutions on the Pareto front with a minimum distance from the Utopia point ( $d_U$ ) was introduced (Fig. 2). To find this compromise solution on the Pareto front, first the objective functions were normalized to the range  $[0,1]$ .

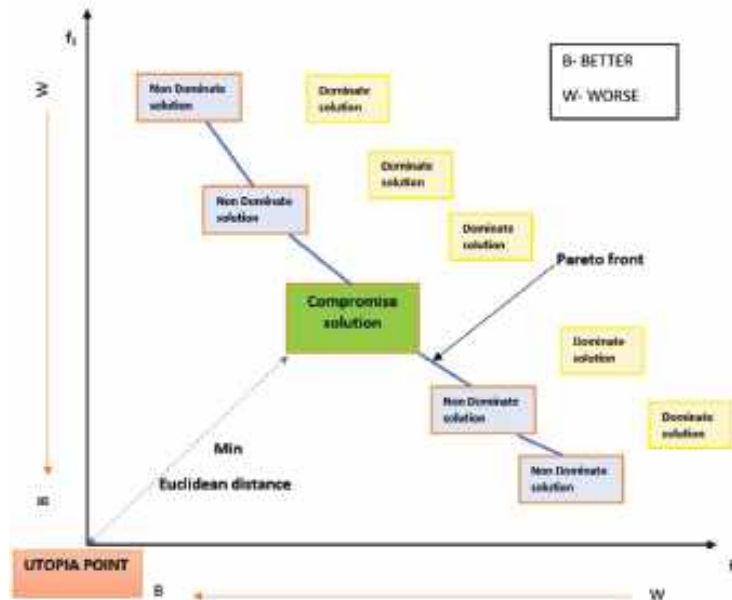


Figure 2. Scheme for determining the set of compromise solutions from the Pareto front

Then the Euclidean distance of all solutions on the Pareto front, measured from the Utopia point, was determined. The Pareto-optimal solution with the minimum distance from the Utopia point was selected as the best solution from the given set (Foroughi and Razavi, 2022).

Thus, to analyze the set of all admissible solutions, a Euclidean metric of the form was introduced in the space of normalized decision criteria:

$$d_U = d(K_0 K) = \sqrt{\sum_{i=1}^4 K_i^2} \quad \dots(16)$$

where:

$K_0=(0, 0, 0, 0)$  is the origin of the coordinate system, the so-called utopian solution ( $d_U$ ).

The obtained solutions can be regarded as the best solutions from the obtained Pareto set in terms of equal satisfaction of all criteria.

### Statistical analysis

An analysis was carried out in Matlab using the F-statistic for testing the statistical significance of the model. The values of the F-statistic for testing the final model vs. no model (mean only) allowed us to assess the significance of the elements or components of the model (Curve fitting, 2004). The sse - sum of errors squared (residuals), specified as a numerical value, was given. The ssr was also determined - the sum of squares due to regression or explained sum of squares (ESS) is the sum of the differences between the predicted value and the mean of the dependent variable and *pval* - a vector of *p*-values for testing whether elements of *b* are 0.

## Results and Discussion

For the adopted model in the form of polynomials of many variables, the coefficients of the equation were determined (Table 1).

The model allows the decision variables (process parameters) to be optimised for maximum response, in this case, the yield of phenolic compounds (TPC). The effectiveness of the model can be represented by  $R^2$ , Adj  $R^2$ , and MSE values. The results of the analysis (Table 1) show the predictive ability of the model for TPC. The  $R^2$  value for the total phenolic content was 0.858, which means that the model explains about 85% of the variation in responses. The adjusted  $R^2$ , which is always less than or equal to  $R^2$ , took on a value of 0.783. The similar values of both indices (difference of 0.075) indicate that the model, predicts the values in the target field, very well. i.e. has predictive value.

The  $R^2$  value for criterion 2, i.e. total flavonoid content (TFC), was 0.905, meaning that the model satisfactorily described the actual relationships between the selected decision variables. The adjusted  $R^2$  value (Adj  $R^2$ ) in the model (0.855) was close to  $R^2$  (with a difference of 0.050). The coefficients determined indicate that their values were close to 1, indicating a high degree of correlation between the experimental values and those predicted by the model.

Table 1.  
Regression equations and indicators of model fitting to experimental data for the decision criteria

Criteria	Model	MSE	R <sup>2</sup>	Adj R <sup>2</sup>
TPC	$TPC = 725.247 + 13272.872x_1 - 9.908x_2 - 18.966x_3 + 20.22x_1x_2 - 65.583x_1x_3 + 0.009x_2x_3 - 52896x_1^2 + 0.157x_2^2 + 0.141x_3^2$	121.539	0.858	0.783
	Parameters of model performance evaluation	sse	2.07e+04	
		F-value	11.4314	
		ssr	1.25e+05	
		p-value	1.32e-05	
TFC	$TFC = 3338.421 + 27965.5x_1 + 8.709x_2 - 94.049x_3 + 131.9x_1x_2 - 127.34x_1x_3 - 0.08x_2x_3 - 141485x_1^2 - 0.1485x_2^2 + 0.642x_3^2$	40.384	0.905	0.855
	Parameters of model performance evaluation	sse	7.49e+04	
		F-value	17.968	
		ssr	7.12e+05	
		p-value	5.23e-07	
TAA	$TAA = 131.179 - 9.1x_1 - 0.178x_2 - 1.662x_3 + 0.943x_1x_2 + 0.653x_1x_3 - 0.002x_2x_3 + 4.444x_1^2 + 0.0049x_2^2 + 0.011x_3^2$	0.886	0.855	0.778
	Parameters of model performance evaluation	sse	15.062	
		F-value	11.1425	
		ssr	88.852	
		p-value	1.58e-05	
RSC	$RSC = 6.09 + 653.233x_1 - 0.231x_2 - 0.366x_3 + 8.573x_1x_2 - 4.18x_1x_3 - 0.007x_2x_3 - 2720.9x_1^2 + 0.0063x_2^2 + 0.0049x_3^2$	13.187	0.817	0.721
	Parameters of model performance evaluation	sse	224.183	
		F-value	8.433	
		ssr	1.00e+03	
		p-value	9.95e-05	

Legend: sse - The sum of errors squared (residuals), defined as a numerical value; ssr - The sum of squares due to regression - the sum of the differences between the predicted value and the mean of the dependent variable, pval - A vector of p-values for testing whether elements of b are 0; F-value - F statistic.

The situation for TAA (total antioxidant activity) was similar to the fit between experimental and predicted data. The R<sup>2</sup> coefficient took a value of 0.886 and the adjusted R<sup>2</sup> was 0.778. The responses had a difference between the predicted R<sup>2</sup> and the adjusted R<sup>2</sup> of 0.077, which was considered sufficient to explain the variability in responses (model fit). Fitting the model to the experimental data for reducing sugar content (RSC) indicated that the model was well suited for prediction. The correlation coefficient was 0.817, while its adjusted value was 0.721. According to Song et al. (2011), the regression coefficient represents the strength of the model's representation of the experimental data, while the p-value is a useful tool for checking the significance of the correlation (Song et al., 2011). In addition, an important aspect is the determination of the MSE (checking how close the predicted values are to the

actual values), the sum of squared differences between predicted data and the mean of the response variable (ssr), and the sum of squares error (sse) i.e. the sum of squared differences between predicted data and observed data points. The values of the indicators are shown in Table 1 for each criterion. The smallest value of mean squared error was recorded for TAA and RSC. The largest, however, was for TPC.

Based on experimental studies, it has been confirmed that extraction efficiency is determined by a number of different parameters, including the type of solvent, the method or technique, process time, temperature, or the sample-to-solvent mass ratio (Azwanida, 2015; Humadi and Istudor, 2009; Khatri and Chhetri, 2020). It should be emphasised that the appropriate extraction technique and choice of solvent are not only important in terms of extracting biologically active compounds from plant biomass but are also ecologically relevant. Based on the above, water was chosen for this study as a neutral solvent in the heat-assisted extraction process. The quantification of total phenolic compounds (TPC) showed that all analysed variables influenced this parameter. Depending on the temperature, time, and also the ratio of plant biomass to solvent used in the extraction, different extraction efficiencies of these compounds were observed. Of all the extract samples tested, the TPC was highest for extracts from *Levisticum officinale*, extracted at the analysed maximum temperature (95°C) with a 40 and 20 min process time at a plant biomass/water ratio of 0.075 g·mL<sup>-1</sup>. Similar TPC contents were recorded for extracts produced at 85°C and for 30 min. The lowest levels of these bioactive compounds were observed at the lowest plant biomass/solvent ratio analysed (0.025 g·mL<sup>-1</sup>). In the case of TPC, their lowest concentration was the result of using the shortest 20-minute extraction time and a process temperature of 85°C. It was also found that, for samples extracted at the lowest plant biomass/water ratio, increasing the extraction temperature to 95°C and increasing the process time resulted in an increase in the total pool of phenolic compounds. Similar trends were observed for the other process factor combinations tested. However, increasing the root biomass ratio of *Levicum officinale* from 0.050 to 0.075 g·mL<sup>-1</sup> no longer resulted in significant increases in the extraction efficiency of phenolic compounds.

Studies on bioactive compounds in *Levisticum officinale* root extracts showed that the flavonoid concentration (TFC) was determined by the conditions of the extraction process. A lower TFC was the result of producing extracts at the lowest plant biomass/water ratio. Among all combinations analysed, samples extracted at 75°C for 40 minutes had the lowest flavonoid pool. A twofold increase in the extraction efficiency of flavonoids from the biomass of *Levisticum officinale* root resulted from increasing the mass/volume ratio of plant material and water to 0.050 and 0.075 g·mL<sup>-1</sup>. Between the two groups, the variation in flavonoid levels was no longer as great. It was also found that increasing the process temperature to 95°C, led to extracts more abundant in flavonoids. The highest TFC was recorded for extracts produced at a biomass/solvent ratio of 0.075 g·mL<sup>-1</sup> and when an extraction temperature of 95°C was used. The highest levels of antioxidant capacity were obtained at the highest plant biomass/solvent ratio regardless of the extraction temperatures and process times used. Admittedly, an increase in extraction temperature resulted in an increase in the tested response. Similar relationships were noted for the content of reducing sugars. In both cases, greater control of the process parameters for maximising the level of the characteristics tested was also noted.

The studies presented here are among the few that have used water as an extracting agent. However, it should be mentioned that currently, when selecting solvents, not only factors such as solubility, and selectivity, but also their safety, ecological dimension, and cost should be taken into account. This fits in with the basic goals and efforts underlying green chemistry, which are, among others, to reduce the use and production of hazardous chemicals in chemical processes, while optimising these processes to reduce their immediate and long-term environmental impact. Green chemistry guidelines have gained wide recognition as standards for assessing the environmental performance of a process (Martiny et al., 2021).

The experimental and modelling results are in agreement with those of Dastan et al. (2022). The authors found that both polyphenol, flavonoid content, and antioxidant potential were determined by the sample: solvent ratio. A study by Dixit et al. (2005) on the antioxidant properties of fenugreek seed extracts, found that the polyphenol and flavonoid content could be intensified by appropriate parameters using only water as a solvent. The effect of the biomass/solvent ratio is mainly due to the conversion of the plant matrix to the solvent. A solvent being at an equilibrium point can induce a reduction in the mass transfer of biomaterials into the extract (Dastan et al., 2022; Chemat and Cravotto, 2013). An additional factor that affects extraction efficiency is the process temperature. Sometimes higher process temperatures result in the release of a larger pool of phenolic compounds into the solvent and crude extract (Hayat et al., 2009). However, there are also findings in the literature that indicate that higher temperatures lead to reduced extraction efficiency due to the degradation of phenolic compounds (Singh et al., 2017). There is a belief that medium temperature ranges are considered 'optimal' (Singh et al., 2017; Vu et al., 2019).

The interpolation and regression functions of criterion  $K_1$ -  $K_4$  as a function of process parameters (decision variables) are shown in Figures 3-6.

Figures 7-9 show Pareto fronts in the decision criteria space. To better visualise the effects of multi-objective optimisation, Figures show the Pareto solution sets for the maximisation of the regression equations as a function of the decision variables  $x_1$  (Sample/solvent ratio),  $x_2$  (Time) and  $x_3$  (Temperature) in 2D and 3D spaces.

Multi-objective optimization...

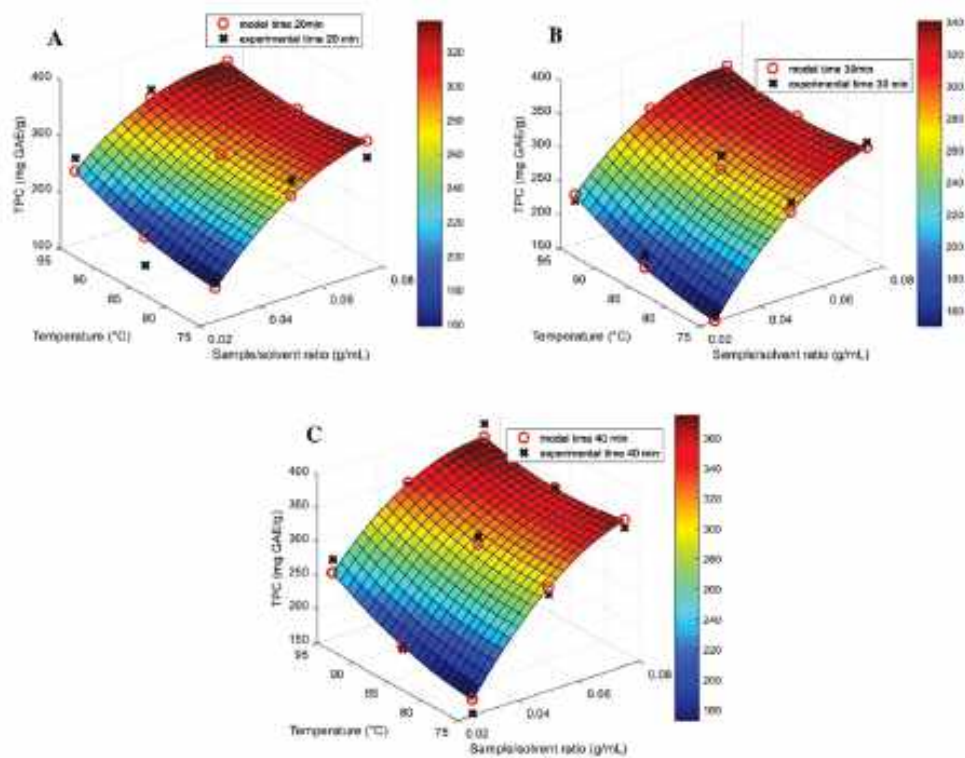


Figure 3. Interpolation and regression function of criterion  $K_1$  (TPC, Total phenolic content) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (Sample/solvent ratio ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )) and  $x_3$  (Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )) for: A –  $x_2=20$  min (extraction time); B –  $x_2=30$  min (extraction time); C –  $x_2=40$  min (extraction time)

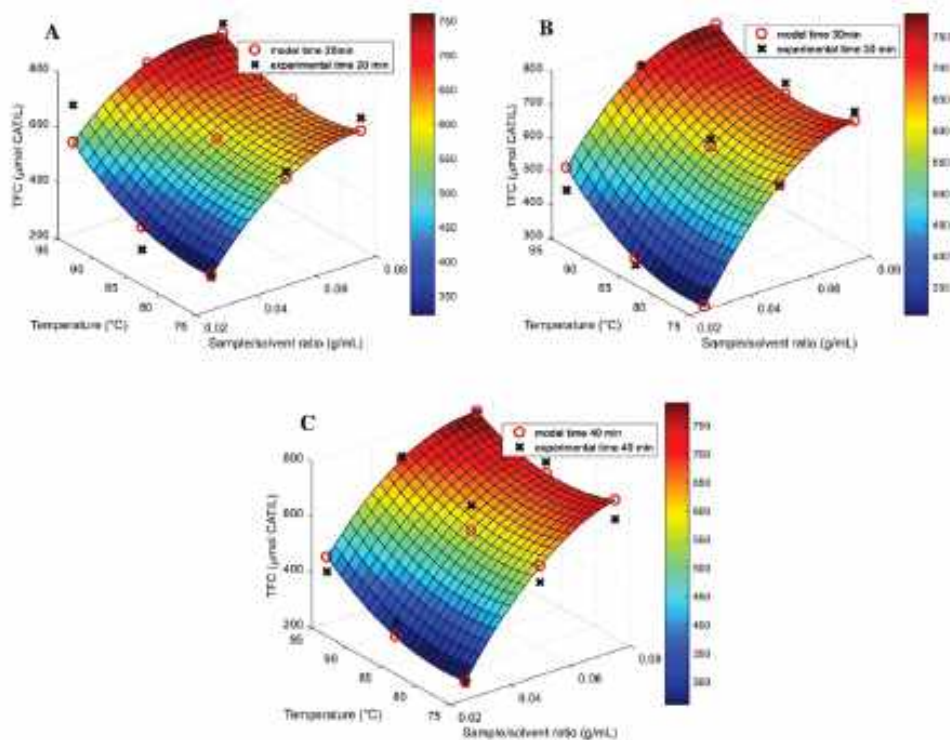


Figure 4. Interpolation and regression function of criterion  $K_2$  (TFC, Total flavonoids content) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (Sample/solvent ratio ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )) and  $x_3$  (Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )) for: A –  $x_2=20$  min (extraction time); B –  $x_2=30$  min (extraction time); C –  $x_2=40$  min (extraction time)

Multi-objective optimization...

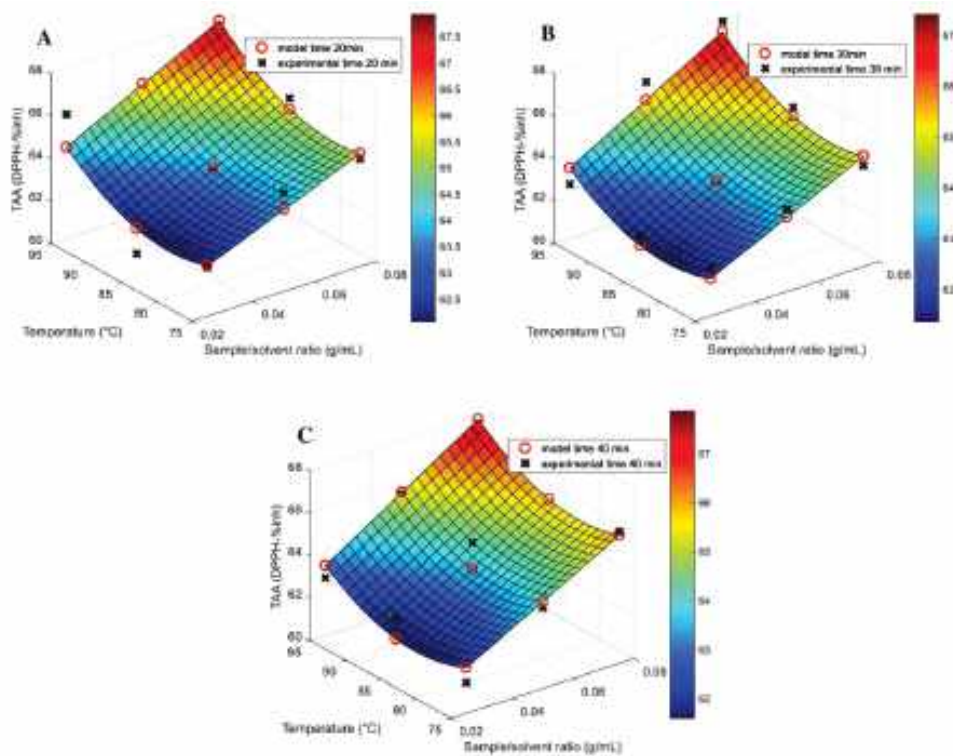


Figure 5. Interpolation and regression function of criterion  $K_3$  (TAA, Total antioxidant activity) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (Sample/solvent ratio ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )) and  $x_3$  (Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )) for: A –  $x_2=20$  min (extraction time); B –  $x_2=30$  min (extraction time); C –  $x_2=40$  min (extraction time)

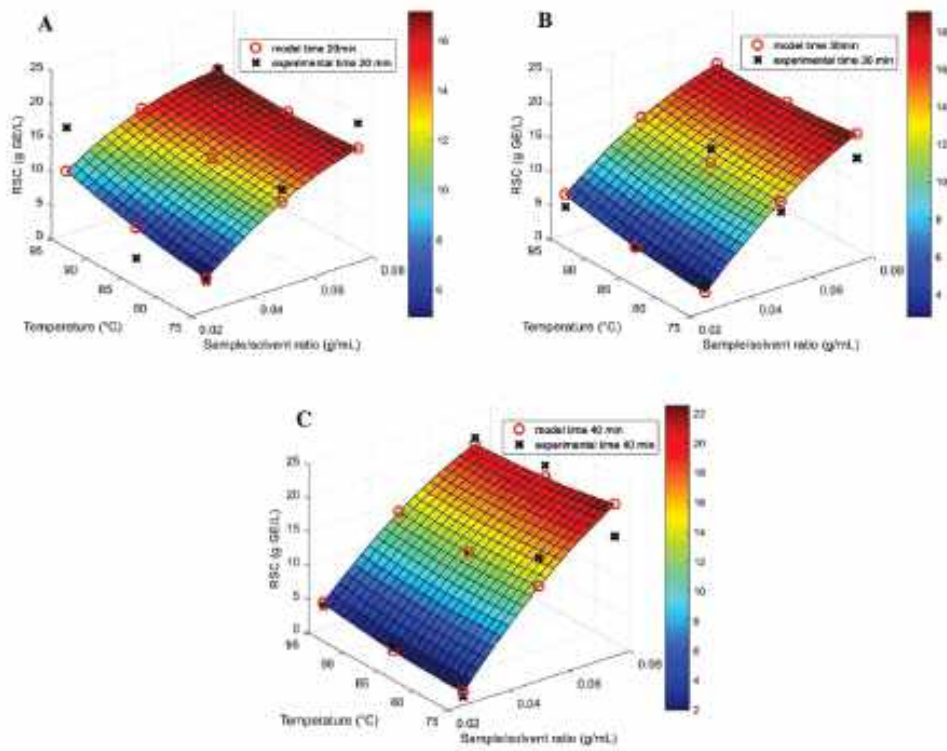


Figure 6. Interpolation and regression function of criterion  $K_3$  (RSC, Reducing sugar content) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (Sample/solvent ratio ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )) and  $x_3$  (Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )) for: A –  $x_2=20$  min (extraction time); B –  $x_2=30$  min (extraction time); C –  $x_2=40$  min (extraction time)

Multi-objective optimization...

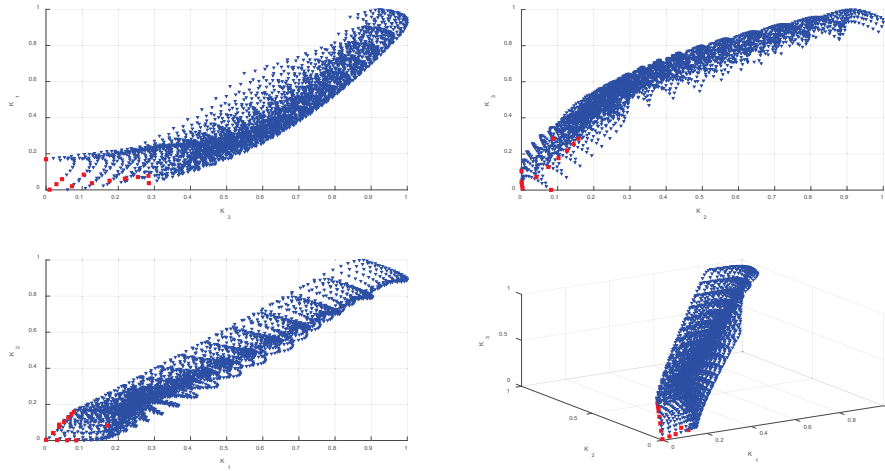


Figure 7. Sets of Pareto solutions for maximising regression equations for the relationship between criteria  $K_1$  (TPC total phenolic content-maximised),  $K_2$  (TFC total flavonoids content-maximised),  $K_3$  (TAA total antioxidant activity-maximised). Red color indicates Pareto-optimal solutions (Pareto front), blue color indicates dominated solutions. For maximised criteria, 0 is the best case scenario

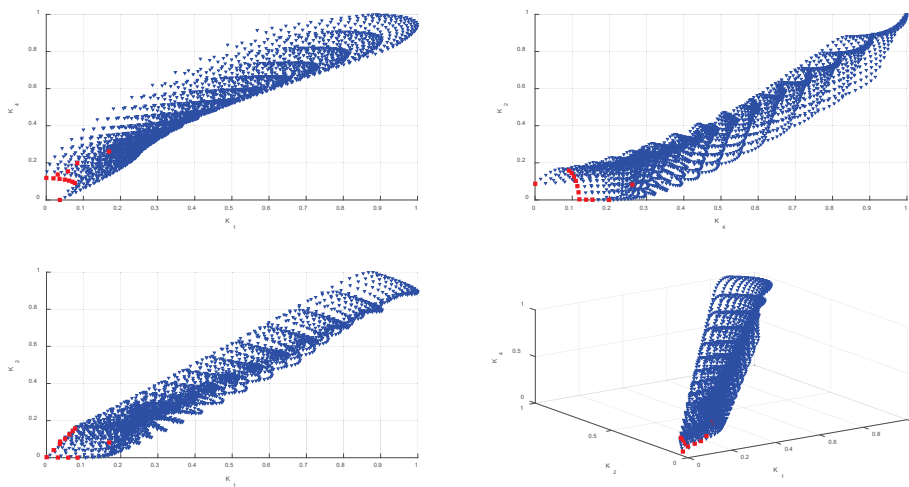


Figure 8. Pareto solution sets for maximising regression equations for the relationship between criteria  $K_1$  (TPC total phenolic content - maximised),  $K_2$  (TFC total flavonoids content - maximised),  $K_4$  (RSC reducing sugar content). Red color indicates Pareto-optimal solutions, blue color indicates dominated solutions. For maximised criteria, 0 is the best case scenario

The set of all possible non-dominated i.e. Pareto-optimal solutions is shown in Figures 7-8 (selected sets of acceptable solutions from among all possible solutions for the object under consideration). The figures show local trends analysed in two or three dimensions, which was a transition from a 4-dimensional space. The maximised criteria were scaled so 0 was the best scenario. The red area reflects all acceptable Pareto-optimal solutions. Any value in the red area is considered optimal and can be selected as a process parameter. The blue area includes solutions that are dominated. These solutions are not optimal and will not provide the desired maximisation of extraction of biologically active compounds from *Levisticum officinale*.

The Pareto-optimal solutions for the maximised criteria ( $K_1$  – TPC total phenolic content,  $K_2$  – TFC total flavonoids content, and  $K_3$  – TAA total antioxidant activity) were close to zero. Maximisation of total phenolic content results in maximisation of total flavonoid content and maximisation of total antioxidant activity (Fig. 7). Furthermore, maximisation of the total flavonoids content leads to maximisation of total antioxidant activity (Fig. 7). From a practical point of view, this means that the use of low process temperatures and a lower biomass/solvent ratio will result in a lower content of TPC, TFC, and TAA in the final extract from *Levisticum officinale*. RSC reducing sugar content is another important aspect affecting the quality and activity of extracts. Figures 8 show a detailed analysis of the relationship between the criteria with the dominated solutions and the Pareto front. Based on the results, it was concluded that by controlling the parameters of the extraction process appropriately, it is possible to increase the concentration of individual biologically active compounds. The decision process will be facilitated by the determined explicit form of the set of dominated and non-dominated (Pareto-optimal) solutions for the water extracts in the decision criteria space, corresponding to  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ , and  $K_4$ .

Figure 7-8 shows the form of the set of dominated and non-dominated solutions for the extracts, demonstrating that there is a relatively small area of non-dominated solutions. To facilitate decision-making, the Pareto solution sets for the maximisation of the regression equations as a function, not of criteria, but of the variable decision variables  $x_1$  (Sample/solvent ratio),  $x_2$  (Time), and  $x_3$  (Temperature) are shown on Figure 9 for the selection of the optimum water extraction parameter of *Levisticum officinale*.

Changing the space gives a clearer picture of the parameters affecting the maximisation of bioactive compounds in the extracts. It was shown that three options can be used for maximising criteria. Thus, increasing the process temperature, extending the extraction time, and increasing the plant biomass/solvent ratio will achieve extracts with optimised criterion values (maximising the level of bioactive compounds). The second route assumes that increasing the extraction time offers the possibility of lowering the temperature and decreasing the ratio of plant biomass to solvent, without loss to maximisation of criteria. The approach of possibly lowering the process temperature, increasing the extraction time and increasing the plant biomass/solvent ratio for Pareto-optimal solutions to maximising the criteria presented can also be applied.

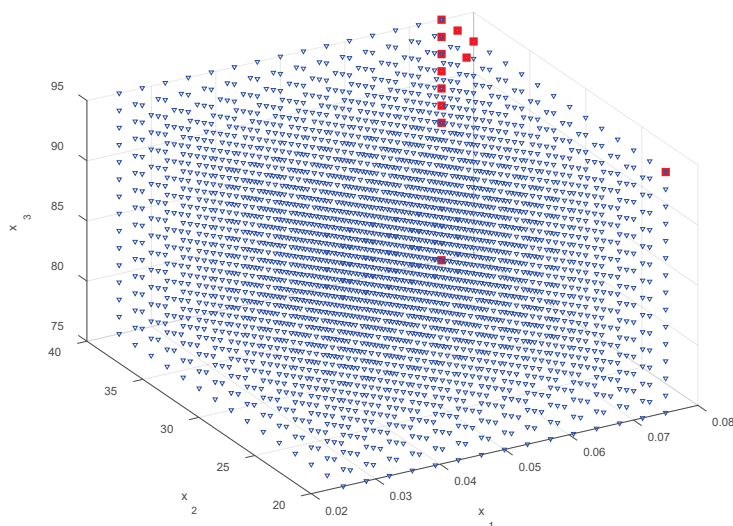


Figure 9. Pareto solution sets for maximising regression equations as a function of the decision variables  $x_1$  (Sample/solvent ratio),  $x_2$  (Time) and  $x_3$  (Temperature). Red color indicates Pareto-optimal solutions, blue color indicates dominated solutions.

Thus, the determination of Pareto fronts showed that to maximise the extraction of bio-active compounds from the roots of *Levisticum officinale*, optimal extraction process parameters should be used, whose values were  $0.0714 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  as the biomass/water ratio and a time of 35.7142 min, at the highest temperature analysed (Table 2).

Table 2.

Set of decision variable values for Pareto front solutions

$x_1$ – Sample/solvent ratio ( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$x_2$ – Time (min)	$x_3$ – Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )
0.0714	35.7143	95.0000
0.0750	20.0000	95.0000
0.0750	37.1429	95.0000
0.0750	38.5714	95.0000
0.0750	40.0000	75.0000
0.0750	40.0000	86.4286
0.0750	40.0000	87.8571
0.0750	40.0000	89.2857
0.0750	40.0000	90.7143
0.0750	40.0000	92.1429
0.0750	40.0000	93.5714
0.0750	40.0000	95.0000

For the maximum analysed value of plant biomass and solvent ratio and the maximum process temperature, extraction can be carried out for 20 min or in the range 37.1429 - 38.5714 min. On the other hand, assuming that the extraction time reaches 40 min and the sample/solvent ratio  $0.0750 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , the process temperature is between  $75^{\circ}\text{C}$  and  $95^{\circ}\text{C}$ .

It should be emphasised that multi-objective optimisation finds many sets of possible solutions in the area of constraints imposed by the decision-maker. At this stage, there is the intention of the so-called post-optimisation analysis, i.e. the process of interpreting the results obtained and searching for a satisfactory solution. However, in both methods, in addition to the optimisation procedures, the knowledge and experience of those making the final decision are of inestimable importance. Figures 7-8 present a clear message about the high complexity of the research problem under consideration, which makes it directly difficult to choose a single best answer and to find a single best solution (sets were determined). Thus, of all the optimal solutions, the best solution can be selected in an infinite number of ways using a number of methods. One such method is, for example, VIKOR (San Cristóbal, 2011; Ramirez-Atencia et al., 2020). This method supports decision-making problems in which the criteria are, for example, incommensurable (have different units). In this method, the decision-maker seeks a compromise solution that is closest to the assumed ideal. In such cases, distances, are most often used as so-called cardinal measures. They can be represented by Euclidean, Chebyshev, or Manhattan distances (Szádóczki et al., 2023). Obtaining and analysing trade-off solutions is considered a relatively simple and effective method of selection and decision-making for decision-makers, as it provides a basis for an agreement based on mutual concessions (Szparaga et al., 2019). One assumption is that some Pareto points can be determined as 'better' than others. This leads to a so-called Pareto set reduction based on the development of an efficiency measure for each Pareto point. For the analysis of the process of aqueous extraction of bioactive compounds from the roots of *Levisticum officinale*, it was chosen to find compromise solutions using the method of multidimensional Euclidean metrics, i.e. achievable preferred solutions on the Pareto front with minimum distance from the Utopia point ( $d_U$ ).

Figure 10 shows the Pareto-optimal solutions with a minimum distance from the Utopia point (compromise solutions).

It was shown that high values of the *Levisticum officinale* biomass-to-water ratio could be used in the extraction process to obtain satisfactory Pareto solutions (Fig. 10A), thus reducing the process time. On the other hand, the inverse relationship, resulting from the use of the minimum distance analysis from the Utopia point, indicated that increasing the time of the extraction procedure would ultimately allow a reduction in the amount of plant biomass consumed. This appears to be an extremely important finding from the Pareto-optimal solution set reduction method. This is because it translates into a smooth and intuitive ability to control the extraction process for satisfactory maximisation of the level of bioactive compounds with biostimulatory potential for crop plants.

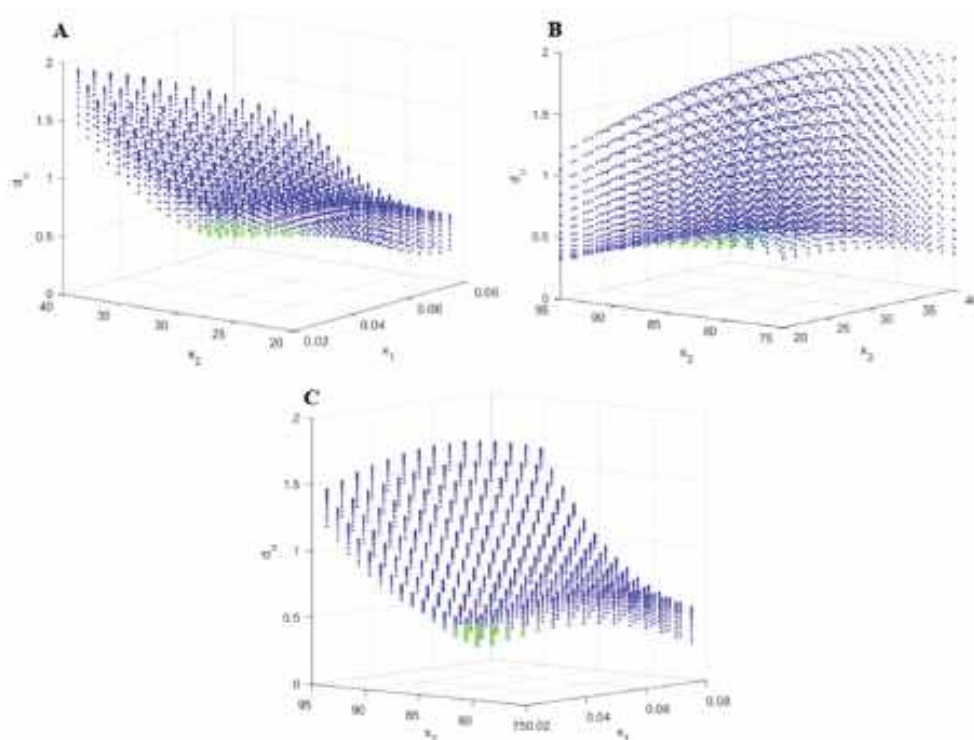


Figure 10. Sets of compromise solutions ( $d_U$ ) as a function of the decision variables: A -  $x_1$  (Sample/solvent ratio) and  $x_2$  (Time); B -  $x_2$  (Time) and  $x_3$  (Temperature); C -  $x_1$  (Sample/solvent ratio) and  $x_3$  (Temperature)

Similar conclusions were reached in the subsequent analysis. It was found that to achieve satisfactory solutions from the set of Pareto-optimal solutions (Fig. 10B) for extraction, it is possible to use high values of temperature, which consequently leads to the possibility of reducing the process time. In addition, it was shown that a reduction in process time would be possible with higher temperatures. Similar possibilities for deciding on extraction process parameters have been demonstrated for the relationship between temperature and the ratio of root biomass to solvent. Indeed, it is possible to achieve satisfactory solutions by lowering the extraction temperature, but increasing the analytical biomass-to-water ratio (Fig. 10C). The above indications can be extremely valuable for the informed control of the process to maximise the bioactive compounds extracted.

The set of compromise solutions in 3D space (a system of three decision variables) is shown on Figure 11.

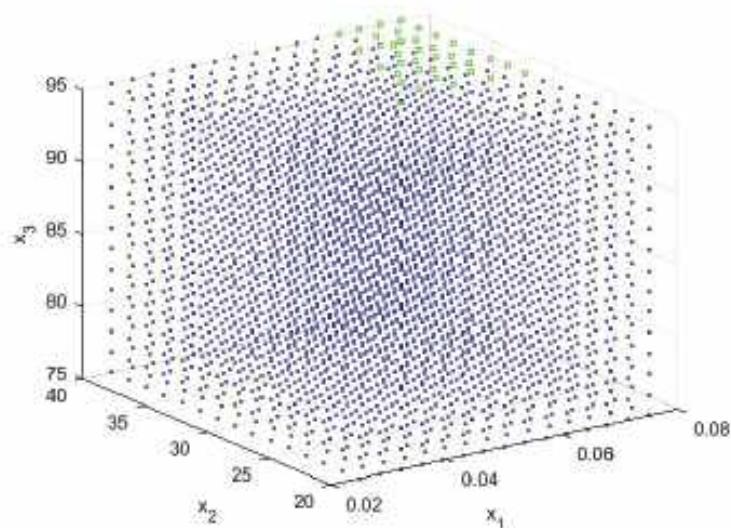


Figure 11. Illustration of compromise solutions based on distance from Utopia point as a function of decision variables  $x_1$  (Sample/solvent ratio),  $x_2$  (Time), and  $x_3$  (Temperature). The green color indicates compromise solutions, the blue color indicates dominated solutions

It is shown that, through the role of the decision maker, a larger number of satisfactory trade-off solutions can be obtained, which will allow easier decision-making regarding the process of extracting active compounds from the roots of *Levisticum officinale*.

The compromise solutions in Table 3 are the number of solutions whose distance from the Utopia point was less than 0.29. The set of compromise solutions in the space of decision variables is shown in Table 3. It is possible to consider the obtained solutions as the best solution of all the Pareto solutions obtained in terms of satisfying all criteria.

Table 3.

Compromise solutions in the decision variables space

$x_1$ – Sample/solvent ratio (g·mL <sup>-1</sup> )	$x_2$ – Time (min)	$x_3$ – Temperature (°C)
0.0643	40.0000	95.0000
0.0679	37.1429	95.0000
0.0679	38.5714	95.0000
0.0679	40.0000	93.5714
0.0679	40.0000	95.0000
0.0714	32.8571	95.0000
0.0714	34.2857	95.0000
0.0714	35.7143	93.5714
0.0714	37.1429	95.0000

## Multi-objective optimization...

x <sub>1</sub> – Sample/solvent ratio (g·mL <sup>-1</sup> )	x <sub>2</sub> – Time (min)	x <sub>3</sub> – Temperature (°C)
0.0714	37.1429	93.5714
0.0714	38.5714	95.0000
0.0714	38.5714	92.1429
0.0714	38.5714	93.5714
0.0714	40.0000	95.0000
0.0714	40.0000	92.1429
0.0714	40.0000	93.5714
0.0714	30.0000	95.0000
0.0750	31.4286	95.0000
0.0750	32.8571	95.0000
0.0750	32.8571	93.5714
0.0750	34.2857	95.0000
0.0750	34.2857	93.5714
0.0750	35.7143	95.0000
0.0750	35.7143	92.1429
0.0750	35.7143	93.5714
0.0750	37.1429	95.0000
0.0750	37.1429	92.1429
0.0750	37.1429	93.5714
0.0750	38.5714	95.0000
0.0750	38.5714	90.7143
0.0750	38.5714	92.1429
0.0750	38.5714	93.5714
0.0750	40.0000	95.0000
0.0750	40.0000	89.2857
0.0750	40.0000	90.7143
0.0750	40.0000	92.0143
0.0750	40.0000	93.5714
0.0750	40.0000	95.0000

In the available literature, there is little information on the use of multi-objective optimisation in extraction processes. Mostly researchers use the Response Surface Methodology (RSM). Vázquez et al. (2012), Jerez et al. (2006), and Saha et al. (2011) found that when RSM methods were used to maximise phenolic compound extraction and antioxidant potential, there were discrepancies in the significance of the quadratic model coefficients, which they attributed to the particular structure and composition of the plant matrices, which contain different phenolic compounds as well as other components that can affect their extraction. Viacava et al. (2015) emphasized that, as each biological system may show a different response to extraction conditions, hence it is extremely important to optimise the process parameters in each plant matrix, assuming that not only different experimental design techniques but also post-optimisation analysis will be used.

Among the Pareto-optimal and compromise solutions (assuming that the objective function determined the simultaneous maximisation of antioxidant potential and bioactive compound levels), an increased value of the decision variable  $x_3$  (process temperature) prevailed. This is reflected in a study by Chethan and Malleshi (2007), who confirmed that elevated temperatures enhance the extraction process of bioactive compounds, which they linked to the fact of increased solubility, increased diffusion coefficients, and reduced surface tension. According to the researchers, the higher extraction efficiency of phenolic compounds may also be due to the weakening of bonds between phenols and carbohydrates. However, a study by Viacava et al. (2015), in which they analysed the critical parameters for extraction processes, showed that increasing the process temperature enhanced the extraction of antioxidant compounds, but that individual types of extraction, including the type of solvent used, should be analysed (Chethan and Malleshi, 2007).

Extending the discussion on optimization, it should be emphasized that other process parameters should also be considered in future studies. According to Plaza and Turner (2017), the influence of, among other things, the possible addition of certain organic or inorganic modifiers or surfactants, which can determine the efficiency of extraction of biologically active compounds from plant matrices, should also be evaluated. An aspect to be considered in the future is also the extraction ocean and its optimization in terms of sample fineness. Preliminary reports by Gbashi et al. (2020) indicate that a smaller particle size results in increased contact area between the sample and the extractant. Additionally, as indicated by Vázquez et al. (2020), more attention in extraction design, as well as its optimization, should be paid to determining the solvent to plant biomass ratio and developing such biomass fractions without the constant need to replace the extractant with fresh solvent.

According to Plaza and Turner (2017), it is noteworthy that often a higher solvent-to-sample ratio will result in the need to heat a larger volume of water. The researchers also point out that in such a case, the analyte will be less concentrated in the extract, so a concentration step may be necessary, which carries a higher risk of degradation of bioactive compounds.

Wani and Uppaluri (2022) suggested a direction for further research on the extraction process and its optimization. The authors pointed out that the moisture content of the plant sample itself may also be a parameter that can determine the efficiency of aqueous extraction. Indeed, the first studies showed that plant biomass, characterized by higher levels, leads to extracts more abundant in phenolic compounds, with respect to dried samples.

To summarise the research, it should be pointed that extraction optimisation is an extremely important tool for supporting process design in terms not only of the economic side, associated with controlling process parameters, but also in terms of producing satisfactory products for many applications (food, pharmaceutical, agricultural). Multi-objective optimisation and multi-criteria decision analysis providing to the identification of unacceptable (for the final quality of the product) extraction process parameters. This approach also reduces the need to conduct many costly and time-consuming experimental studies. In addition, the graphical visualisation of Pareto-optimal and compromise solutions are extremely important and helpful not only in the sense of deciding which solutions to choose but also enables relatively intuitive observation and identification of relationships between variables and different biological system responses and criteria (Ribeiro et al., 2008).

## Conclusions

Aqueous extraction of plant biomass is a complex process influenced by many factors. In the research, extraction based on green procedures was analysed for maximising the extraction efficiency of total phenols, flavonoids, sugars, and antioxidant potential from the roots of *Levisticum officinale*, using water as an environmentally friendly solvent. Due to the current attention to the principles of green chemistry and in line with the European Green Deal, the application of optimisation methods tends into these research trends, due to the support of process design, taking into account the reduction of its immediate and long-term environmental impact. Multi-objective optimisation of aqueous extraction has been shown to be an extremely useful technique for determining the optimal process conditions to obtain *Levisticum officinale* root extracts with maximum levels of biologically active compounds. This approach also provides a wide range of information about the process, without the need for multiple experiments. Such a procedure is extremely important in terms of the potential use of plant extracts in many fields and industries. The results of the tests carried out showed that the procedures adopted for modelling the influence of individual process factors on the criteria analysed were correct, and the generated models reflected the process to satisfactory degree. Thus, they could be used for Multi-objective optimisation, in which the decision variables of the process were optimised for the maximisation of the individual criteria. The optimisation procedures showed that the high complexity of the research problem under consideration, which directly hinders the selection and the finding of a single best solution. Thus, sets of solutions were determined. The Pareto front analysis showed that for the maximum extraction efficiency of bioactive compounds from *Levisticum officinale*, the optimal extraction process parameters were  $0.0714 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  as biomass/water ratio and a time of 35.7142 min, with the highest analysed temperature. For the highest analysed value of plant biomass/solvent ratio ( $0.075 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) and maximum process temperature ( $95^\circ\text{C}$ ), extraction could be carried out for 20 min or in the range 37.1429 - 38.5714 min. On the other hand, assuming the extraction time reaches 40 min and a sample/solvent ratio of  $0.075 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , the optimum process temperature is between  $75^\circ\text{C}$  and  $95^\circ\text{C}$ . In conclusion, conventional extraction can be used as a safe method (not requiring the use of environmentally harmful solvents) to produce bioactive-rich extracts from *Levisticum officinale*. The optimised extracts can be used to develop new biostimulant formulations for agriculture functional foods or natural cosmetics.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.P. and S.K.; methodology, M.P.; software, M.P.; validation, M.P., S.K., and A.B.; formal analysis, M.P.; investigation, M.P.; resources, M.P.; data curation, M.P.; writing original draft preparation, M.P.; writing review and editing, M.P., S.K., and A.B.; visualization, M.P. and S.K.; supervision, S.K.; project administration, S.K. and A.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This article was supported by the Polish National Agency for Academic Exchange under the Strategic Partnership project BPI/PST/2021/1/00034/U/00001, “Crucial, Long-Term Collaborations for the Development of an Innovative, Ecological Approach in Biostimulants Production”.

## References

- Aćimović, M. G., Kostadinović, L. M., Popović, S. J., & Dojčinović, N. S. (2015). Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 60(3), 237-246.
- Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R., & Najafi, M. N. (2016). Optimization of the subcritical water extraction of phenolic antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Box-Behnken design and principal component analysis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 234-244.
- Algan Cavuldak, Ö., Vural, N., Akay, M. A., & Anli, R. E. (2019). Optimization of ultrasound-assisted water extraction conditions for the extraction of phenolic compounds from black mulberry leaves (*Morus nigra* L.). *Journal of food process engineering*, 42(5), e13132.
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 4(196), 2167-0412.
- Batinić, P., Čutović, N., Mrđan, S., Jovanović, A. A., Čirić, K., Marinković, A., & Bugarski, B. (2022). The comparison of *Ocimum basilicum* and *Levisticum officinale* extracts obtained using different extraction solvents and techniques. *Lekovite sirovine*, (42), 43-43.
- Bystrzanowska, M., & Tobiszewski, M. (2019). Multi-objective optimization of microextraction procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 266-273.
- Chalker-Scott, L., & Fuchigami, L. H. (2018). The role of phenolic compounds in plant stress responses. In *Low temperature stress physiology in crops* (pp. 67-80). CRC press.
- Chemat, F., & Cravotto, G. (Eds.). (2012). *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Chethan, S., & Malleshi, N. G. (2007). Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability. *Food chemistry*, 105(2), 862-870.
- Chouhan, K. B. S., Tandey, R., Sen, K. K., Mehta, R., & Mandal, V. (2019). Extraction of phenolic principles: value addition through effective sample pretreatment and operational improvement. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 177-186.
- Curve fitting. (2004). Curve fitting toolbox for use with Matlab. The MathWorks Inc, Natick. [http://cda.psych.uiuc.edu/matlab\\_pdf/curvefit.pdf](http://cda.psych.uiuc.edu/matlab_pdf/curvefit.pdf).
- Dastan, S., Turker, I., & Isleroglu, H. (2022). Enhanced recovery of bioactive compounds from *Trigonella-foenum graecum* seeds by ultrasonic-assisted extraction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 1073-1086.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H., & Devasagayam, T. P. (2005). Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(11), 977-983.
- Farahmandfar, R., Asnaashari, M., & Bakhshandeh, T. (2019). Influence of ultrasound-assist and classical extractions on total phenolic, tannin, flavonoids, tocopherol and antioxidant characteristics of *Teucrium polium* aerial parts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1357-1363.
- Foroughi, A. H., & Razavi, M. J. (2022). Multi-objective shape optimization of bone scaffolds: Enhancement of mechanical properties and permeability. *Acta Biomaterialia*, 146, 317-340.
- Gbashi, S., Njobeh, P. B., De Saeger, S., De Boevre, M., & Madala, N. E. (2020). Development, chemometric-assisted optimization and in-house validation of a modified pressurized hot water extraction methodology for multi-mycotoxins in maize. *Food chemistry*, 307, 125526.
- Gil-Ramírez, A., Mendiola, J. A., Arranz, E., Ruíz-Rodríguez, A., Reglero, G., Ibáñez, E., & Marín, F. R. (2012). Highly isoxanthohumol enriched hop extract obtained by pressurized hot water extraction (PHWE). Chemical and functional characterization. *Innovative food science & emerging technologies*, 16, 54-60.
- Gómez-Salazar, J. A., Patlán-González, J., Sosa-Morales, M. E., Segovia-Hernandez, J. G., Sánchez-Ramírez, E., & Ramírez-Márquez, C. (2022). Multi-objective optimization of sustainable red

- prickly pear (*Opuntia streptacantha*) peel drying and biocompounds extraction using a hybrid stochastic algorithm. *Food and Bioproducts Processing*, 132, 155-166.
- Gonçalves, A. L. (2021). The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: a review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. *Applied Sciences*, 11(2), 871.
- Hayat, K., Hussain, S., Abbas, S., Farooq, U., Ding, B., Xia, S., ... & Xia, W. (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70(1), 63-70.
- Humadi SS, Istudor V. Humadi, S. S., & Istudor, V. (2009). *Lythrum salicaria* (purple loosestrife). Medicinal use, extraction and identification of its total phenolic compounds. *Farmacia*, 57(2), 192-200.
- Iqbal, S., Younas, U., Sirajuddin, Chan, K. W., Sarfraz, R. A., & Uddin, K. (2012). Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *International journal of molecular sciences*, 13(6), 6651-6664.
- Jerez, M., Pinelo, M., Sineiro, J., & Núñez, M. J. (2006). Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis. *Food chemistry*, 94(3), 406-414.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., & Alam, M. S. (2006). *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology*, 44(7), 984-993.
- Khatri, D., & Chhetri, S. B. B. (2020). Reducing sugar, total phenolic content, and antioxidant potential of nepalese plants. *BioMed Research International*, 2020.
- Krivorotova, T., & Sereikaite, J. (2014). Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(6), 329-333.
- Lee, L. S., Lee, N., Kim, Y. H., Lee, C. H., Hong, S. P., Jeon, Y. W., & Kim, Y. E. (2013). Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules*, 18(11), 13530-13545.
- Mahdi, A. A., Rashed, M. M., Al-Ansi, W., Ahmed, M. I., Obadi, M., Jiang, Q., ... & Wang, H. (2019). Enhancing bio-recovery of bioactive compounds extracted from *Citrus medica* L. Var. *sarcodactylis*: optimization performance of integrated of pulsed-ultrasonic/microwave technique. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1661-1673.
- Martiny, T. R., Raghavan, V., de Moraes, C. C., da Rosa, G. S., & Dotto, G. L. (2021). Optimization of green extraction for the recovery of bioactive compounds from Brazilian olive crops and evaluation of its potential as a natural preservative. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), 105130.
- Melo, P. S., Massarioli, A. P., Denny, C., dos Santos, L. F., Franchin, M., Pereira, G. E., ... & de Alencar, S. M. (2015). Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry*, 181, 160-169.
- Murugesh, C. S., Rastogi, N. K., & Subramanian, R. (2018). Athermal extraction of green tea: Optimisation and kinetics of extraction of polyphenolic compounds. *Innovative food science & emerging technologies*, 50, 207-216.
- Özcan, M. M., Doğu, S., & Uslu, N. (2018). Effect of species on total phenol, antioxidant activity and phenolic compounds of different wild onion bulbs. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 902-905.
- Parvin, K., Nahar, K., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2022). Plant phenolic compounds for abiotic stress tolerance. *Managing plant production under changing environment*, 193-237.
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39-54.

- Radojković, M., Zeković, Z., Jokić, S., Vidović, S., Lepojević, Ž., & Milošević, S. (2012). Optimization of solid-liquid extraction of antioxidants from black mulberry leaves by response surface methodology. *Food Technology and Biotechnology*, 50(2), 167-176.
- Ramirez-Atencia, C., Rodriguez-Fernandez, V., & Camacho, D. (2020). A revision on multi-criteria decision making methods for multi-UAV mission planning support. *Expert Systems with Applications*, 160, 113708.
- Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M., & Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food chemistry*, 110(3), 620-626.
- Saha, J., Biswas, A., Chhetri, A., & Sarkar, P. K. (2011). Response surface optimisation of antioxidant extraction from kinema, a Bacillus-fermented soybean food. *Food chemistry*, 129(2), 507-513.
- San Cristóbal, J. R. (2011). Multi-criteria decision-making in the selection of a renewable energy project in Spain: The Vikor method. *Renewable energy*, 36(2), 498-502.
- Sato, Y., Izui, K., Yamada, T., & Nishiwaki, S. (2017). Pareto frontier exploration in multiobjective topology optimization using adaptive weighting and point selection schemes. *Structural and Multidisciplinary Optimization*, 55, 409-422.
- Shukla, S., Mehta, A., John, J., Singh, S., Mehta, P., & Vyas, S. P. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of *Caesalpinia bonducella* seeds. *Food and chemical Toxicology*, 47(8), 1848-1851.
- Singh, B., Singh, N., Thakur, S., & Kaur, A. (2017). Ultrasound assisted extraction of polyphenols and their distribution in whole mung bean, hull and cotyledon. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 921-932.
- Song, J., Li, D., Liu, C., & Zhang, Y. (2011). Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. *Innovative food science & emerging technologies*, 12(3), 282-287.
- Spréa, R. M., Fernandes, A., Finimundy, T. C., Pereira, C., Alves, M. J., Calhella, R. C., ... & Ferreira, I. C. (2020). Lovage (*Levisticum officinale* WDJ Koch) roots: A source of bioactive compounds towards a circular economy. *Resources*, 9(7), 81.
- Szádóczki, Z., Bozóki, S., Juhász, P., Kadenko, S. V., & Tsyganok, V. (2023). Incomplete pairwise comparison matrices based on graphs with average degree approximately 3. *Annals of Operations Research*, 326(2), 783-807.
- Szparaga, A. (2023a). Biostimulating Extracts from *Arctium lappa* L. as Ecological Additives in Soybean Seed Coating Applications. *Agricultural Engineering*, 27(1), 1-10.
- Szparaga, A. (2023b). From biostimulant to possible plant bioprotectant agents. *Agricultural Engineering*, 27(1), 87-98.
- Szparaga, A., Stachnik, M., Czerwińska, E., Kocira, S., Dymkowska-Malesa, M., & Jakubowski, M. (2019). Multi-objective optimization based on the utopian point method applied to a case study of osmotic dehydration of plums and its storage. *Journal of food engineering*, 245, 104-111.
- Tunçtürk, M., & Özgökçe, F. (2015). Chemical composition of some Apiaceae plants commonly used in herby cheese in Eastern Anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(1), 55-62.
- Vázquez, G., Fernández-Agulló, A., Gómez-Castro, C., Freire, M. S., Antorrena, G., & González-Álvarez, J. (2012). Response surface optimization of antioxidants extraction from chestnut (*Castanea sativa*) bur. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 126-134.
- Vázquez, M. B., Andreatta, A. E., Martini, R. E., Montoya, S. N., Cabrera, J. L., & Comini, L. R. (2020). Optimization of pretreatment with microwaves prior the pressurized hot water extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea pustulata*, using Doehlert experimental design. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 155, 108055.
- Viacava, G. E., Roura, S. I., & Agüero, M. V. (2015). Optimization of critical parameters during antioxidants extraction from butterhead lettuce to simultaneously enhance polyphenols and antioxidant activity. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 146, 47-54.

- Vu, H. T., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. (2019). Maximising recovery of phenolic compounds and antioxidant properties from banana peel using microwave assisted extraction and water. *Journal of food science and technology*, 56, 1360-1370.
- Vuong, Q. V., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2011). Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of separation science*, 34(21), 3099-3106.
- Wani, K. M., & Uppaluri, R. V. (2022). Pulsed ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from papaya pulp and papaya peel using response surface methodology: Optimization and comparison with hot water extraction. *Applied Food Research*, 2(2), 100178.

## **WIELOOBIEKTOWA OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ZIELONEJ EKSTRAKCJI ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH Z *LEVISTICUM OFFICINALE* WDJ KOCH: OPTYMALNOŚĆ PARETO I ROZWIĄZANIA KOMPROMISOWE W ZARZĄDZANIU PROCESAMI**

**Streszczenie.** Rośliny należące do rodziny Apiaceae (w tym *Levisticum officinale* WDJ Koch) są bogatym źródłem fitochemikaliów i metabolitów wtórnych o potencjalnym potencjale prozdrowotnym i agrochemicznym. Celem niniejszej pracy było dostarczenie ważnych wytycznych dotyczących kontrolowania konwencjonalnej ekstrakcji wodnej w celu uzyskania ekstraktów z korzenia *Levisticum officinale* o zmaksymalizowanych poziomach związków bioaktywnych. Dlatego też w niniejszym badaniu oceniono i zoptymalizowano potencjał przeciwutleniający wodnych ekstraktów z *Levisticum officinale* pod kątem analizy wpływu parametrów procesu ekstrakcji, tj. temperatury, czasu i stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika. Ostatecznym celem była optymalizacja całkowitej zawartości związków fenolowych, flawonoidów, cukrów i całkowitej zdolności przeciwutleniającej w celu zidentyfikowania warunków procesu niezbędnych do wytworzenia wysoce bioaktywnych ekstraktów, które mogłyby być stosowane w wielu gałęziach przemysłu. Ekstrakcję biomasy korzenia lubczyku przeprowadzono przy użyciu wody jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. Aby przeprowadzić optymalizację ekstrakcji wodnej, zastosowano wielowymiarowe modele regresji i przeprowadzono analizę wielokryterialną przy użyciu nawigacji zestawu Pareto. Procedury optymalizacyjne wykazały dużą złożoność rozważanego problemu badawczego, co bezpośrednio utrudnia wybór jednego najlepszego rozwiązania. W związku z tym wyznaczono zbiory rozwiązań. Analiza frontu Pareto wykazała, że dla maksymalnej wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych z *Levisticum officinale*, optymalnymi parametrami procesu ekstrakcji były 0,0714 g·ml<sup>-1</sup> jako stosunek biomasy do wody oraz czas 35,7142 min, w najwyższej analizowanej temperaturze. Dla najwyższej analizowanej wartości stosunku biomasy roślinnej do rozpuszczalnika (0,075 g·ml<sup>-1</sup>) i maksymalnej temperatury procesu (95°C), ekstrakcję można było prowadzić przez 20 min lub w zakresie 37,1429-38,5714 min. Z drugiej strony, jeśli czas ekstrakcji osiągnie 40 min, a stosunek próbki do rozpuszczalnika 0,075 g·ml<sup>-1</sup>, optymalna temperatura procesu wynosi od 75°C do 95°C.

**Słowa kluczowe:** ekstrakcja wodą, modelowanie, optymalizacja, optymalność Pareto, lubczyk

**P2. Plawgo, M.,** Kocira, S., & Bohata, A. (2024). Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. *Processes*, 12(5), 1026. DOI: 10.3390/pr12051026 (**70 pkt. MNiSW, Impact Factor 3,5**).

## Article

# Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions

Michał Plawgo <sup>1</sup>, Sławomir Kocira <sup>2,3,\*</sup>  and Andrea Bohata <sup>4</sup><sup>1</sup> Future Production AS, Svanedamsveien 10, 4621 Kristiansand, Norway; mip@f-p.no<sup>2</sup> Department of Machinery Exploitation and Management of Production Processes, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland<sup>3</sup> Department of Landscape Management, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, 370 05 České Budějovice, Czech Republic<sup>4</sup> Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, 370 05 České Budějovice, Czech Republic; bohata@fzt.jcu.cz

\* Correspondence: slawomir.kocira@up.lublin.pl or skocira@fzt.jcu.cz

**Abstract:** The current research trend is not only focused on advanced techniques to intensify the extraction of bioactive compounds from plants, but also on the optimization process. The objective of this work was the implementation of the multiple criteria analysis using navigation on Pareto sets to determine the optimal parameters for the microwave-assisted extraction of *Levisticum officinale* WDJ Koch roots in order to obtain the maximum efficiency of the antioxidant potential of the extracts. The optimized parameters were extraction time, microwave power, and plant biomass/solvent ratio, while the evaluation criteria were based on the total phenols, flavonoids, reducing sugars, and antioxidant capacity. It was shown that the process parameters analyzed, i.e., biomass/solvent ratio, process time, and microwave power, determined the extraction efficiency of total phenolic content (TPC). A different observation was made for the analysis of total flavonoid content (TFC) and total antioxidant potential (TAA). Compared to the assessment of TFC and TAA, a completely different trend was observed for the analysis of total reducing sugars (RSC). Sets of Pareto optimal, compromise, and preferred solutions were identified that will maximize the efficiency of the extraction of bioactive compounds from biomass. Due to the determined number of Pareto optimal solutions, an approach related to the introduction of preferences in the optimization procedure was applied. It was shown that for a satisfactory level of bioactive compounds, extraction should be carried out at a maximum microwave power of 750 W. Preferred solutions were obtained for root biomass to water ratios ranging from 0.0536 g/mL to 0.0679 g/mL. The preferred optimal time for microwave-assisted water extraction ranged from 64.2857 to 85.7143 s.

**Keywords:** extraction; modeling; Pareto optimality; lovage; polyphenols; antioxidant activity

**Citation:** Plawgo, M.; Kocira, S.; Bohata, A. Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. *Processes* **2024**, *12*, 1026. <https://doi.org/10.3390/pr12051026>

Academic Editors: Marijana Zovko Končić and Sylwia Zielińska

Received: 18 April 2024

Revised: 10 May 2024

Accepted: 15 May 2024

Published: 18 May 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

The plant *Levisticum officinale* WDJ Koch, or lovage, is a member of the Apiaceae family. It is a rich source of many classes of secondary metabolites, with a broad spectrum of pharmacological and therapeutic activities [1–5]. Many active compounds, such as phenolic compounds or flavonoids from plants, have a range of beneficial health properties. However, its potential is not only limited to pharmacological applications [6–8]. Indeed, studies show that the active compounds contained in plant extracts may also have the potential to biostimulate crop plants [8,9]. The extraction of phytochemicals from lovage roots has been studied, but research in this area has mainly focused on conventional solvent extraction and oil extraction efficiency. Currently, advanced extraction techniques for enhancing the extraction of phenolic compounds from herbal materials are being researched, which include pressurized extraction (PLE) [10], microwave-assisted extraction (MAE) [11] and ultrasound [12], or supercritical fluid extraction [13]. However, it is important to underline

the fact that an extraction technique can be described as “green” and environmentally friendly, as well as cheap, when the used solvent is water. Currently, among extraction technologies, microwave-assisted extraction (MAE) deserves special attention [14,15]. Its main advantages over conventional methods, include, in particular, the increased speed of the process, as well as the improved efficiency of the extraction of bioactive compounds at a reduced cost [16,17]. A study by Vinatoru et al. [18] indicates that microwave-assisted extraction of the plant matrix is a beneficial technique because it is associated with the homogeneous internal heating of the entire volume of the material, resulting in increased pressure inside the plant cells, causing them to burst and efficiently release the desired bioactive compounds. However, for the extraction efficiency and stability of the extracted compounds, the process parameters should be selected individually for each plant matrix. It should also be emphasized that, despite the fact that each extraction technique is distinguished by certain advantages and limitations, each should be optimized individually with respect to the plant material and phytochemicals of interest (maximization of extraction) [19].

As mentioned earlier, the beneficial pharmacological properties of aromatic or herbal plants are generally related to the presence of a variety of plant secondary metabolites with different structures. From the point of view of crop physiology, polyphenolic compounds with strong antioxidant capacity can be used in crop biostimulation [20]. Indeed, phenolic compounds influence plant growth and development by stimulating seed germination, increased biomass accumulation, and improving plant metabolism [21–23]. Extracts with high polyphenol content have different compositions, depending on the source of extraction, extraction conditions and techniques, and extraction solvent. Consequently, these aspects need to be investigated for future agronomic applications [23]. The benefits of phytochemicals, as indicated in the subject literature, and the drive to replace synthetic fertilizers and crop protection products with natural substances have led to increased research efforts to discover and use bioactive compounds from natural sources such as aromatic plants for crop biostimulation [23–25]. Due to the fact that there is a growing awareness of the negative impact of agrochemicals and the ongoing transformation towards “green agriculture”, the use of natural biostimulants is becoming increasingly popular globally [26]. Research indicates that natural biostimulants have a positive effect on overall plant productivity and yield quality, as well as on reducing the impact of biotic and abiotic stress-inducing factors on plants [26,27].

The objective of this research was the implementation of the multiple criteria analysis using navigation on Pareto sets to determine the optimal parameters for the microwave-assisted extraction of *Levisticum officinale* roots in order to maximize the antioxidant potential of the extracts. The parameters for optimization were extraction time, microwave power, and plant biomass/solvent ratio, while the evaluation criteria were based on the total phenolic content, flavonoids, reducing sugars, and antioxidant capacity (as determined by DPPH) of the extracts. It is hoped that such systematic studies will greatly expand the knowledge regarding the application of microwave-assisted extraction for the advanced processing of lovage into high-value natural components for agronomic applications.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant Material

The dried roots of an organically grown *Levisticum officinale* L. (sourced from Runo Polska, PL-EKO 07 EU Organic Farming, Poland) were ground into powder (fraction size of 500 µm). The ground powder was stored at 4 °C in airtight bags until further use.

### 2.2. Microwave-Assisted Extraction (MAE)

The extraction of lovage root biomass was carried out using 100 mL of water (at pH 7.0) as the extraction solvent in a laboratory microwave oven (JT358, Whirlpool, Benton Harbor, MI, USA). The device is equipped with a digital control system for regulating irradiation time and microwave power. For MAE, the independent variables were: ex-

traction time (30, 60, and 90 s); microwave power (550, 650, and 750 W), and the ratio of plant biomass/water ( $w/v$ ) (2.5 g/100 mL (0.025 g/mL), 5 g/100 mL (0.050 g/mL), and 7.5 g/100 mL (0.075 g/mL)). Each process was carried out in triplicate. After MAE treatment, the extract was centrifuged (9500 rpm, 20 min) and filtered through a Büchner funnel lined with Whatman No. 1 filter paper, and the supernatant was collected in dark glass bottles and stored at 4 °C, pending further use and analysis.

### 2.3. Bioactive Characterization of Obtained Extracts

The total content of phenolic compounds (TPC) was determined in the obtained extracts from *Levisticum officinale* based on the Ribeiro method [28], using Folin–Ciocalteu reagent. The quantitative assessment of TPC levels in the extracts was expressed as mg gallic acid equivalent/g extract. The extracts were also assessed for total flavonoid content (TFC), according to the method of Iqbal et al. [29]. TFC levels were expressed as the catechin equivalent ( $\mu\text{mol/L}$ ). The total antioxidant activity (TAA) was also determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) test, employing the method of Lee et al. [30]. The scavenging activity (inhibition of the DPPH radical by the sample) was expressed as the percentage of DPPH decrease. The reducing sugars content (RSC) was analyzed, based on the method using DNSA (3,5-dinitrosalicylic acid) proposed by Krivorotova and Sereikaite [31]. The total concentration of reducing sugars in the samples was expressed as g of D-glucose equivalent (GE) per L of extract.

### 2.4. Mathematical Model

The analysis of the possibility of increasing the efficiency of the microwave-assisted water extraction of bioactive compounds from the roots of *Levisticum officinale* was based on the created mathematical models and optimization tools based on computer computation and simulation packages (Matlab R2021a). The optimization procedure began with the creation of multivariate regression models (experimental data). The decision variables were sample/solvent ratio (g/mL) ( $x_1$ ), microwave power (W) ( $x_2$ ), and time of microwave assisted extraction (s) ( $x_3$ ). Multivariate polynomials were used to define the relationship between the criteria and decision variables:

$$y_{reg}(x_1, x_2, x_3) = a_0 + a_1 * x_1 + a_2 * x_2 + a_3 * x_3 + a_4 * x_1 * x_2 + a_5 * x_1 * x_3 + a_6 * x_2 * x_3 + a_7 * x_1^2 + a_8 * x_2^2 + a_9 * x_3^2 \quad (1)$$

The predictive accuracy of the models was analyzed based on the values of the  $R^2$  coefficient, adjusted  $R^2$ , and MSE (mean squared prediction error).  $R^2$  is defined as the ratio of the sum of squares of regression ( $SSR$ ) and the total sum of squares ( $SST$ ).  $SSR$  is defined as [32]:

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SST} \quad (2)$$

The adjusted  $R^2$  was also determined:

$$Adj R^2 = 1 - \frac{SSE(n-1)}{SST(v)} \quad (3)$$

$v$ —degrees of freedom

$SSE$ —sum of squares due to error

$SST$ —the sum of squares about the mean

The mean squared prediction error ( $MSE$ ) was determined as the mean square deviation between the experimental data and the values resulting from the adopted model:

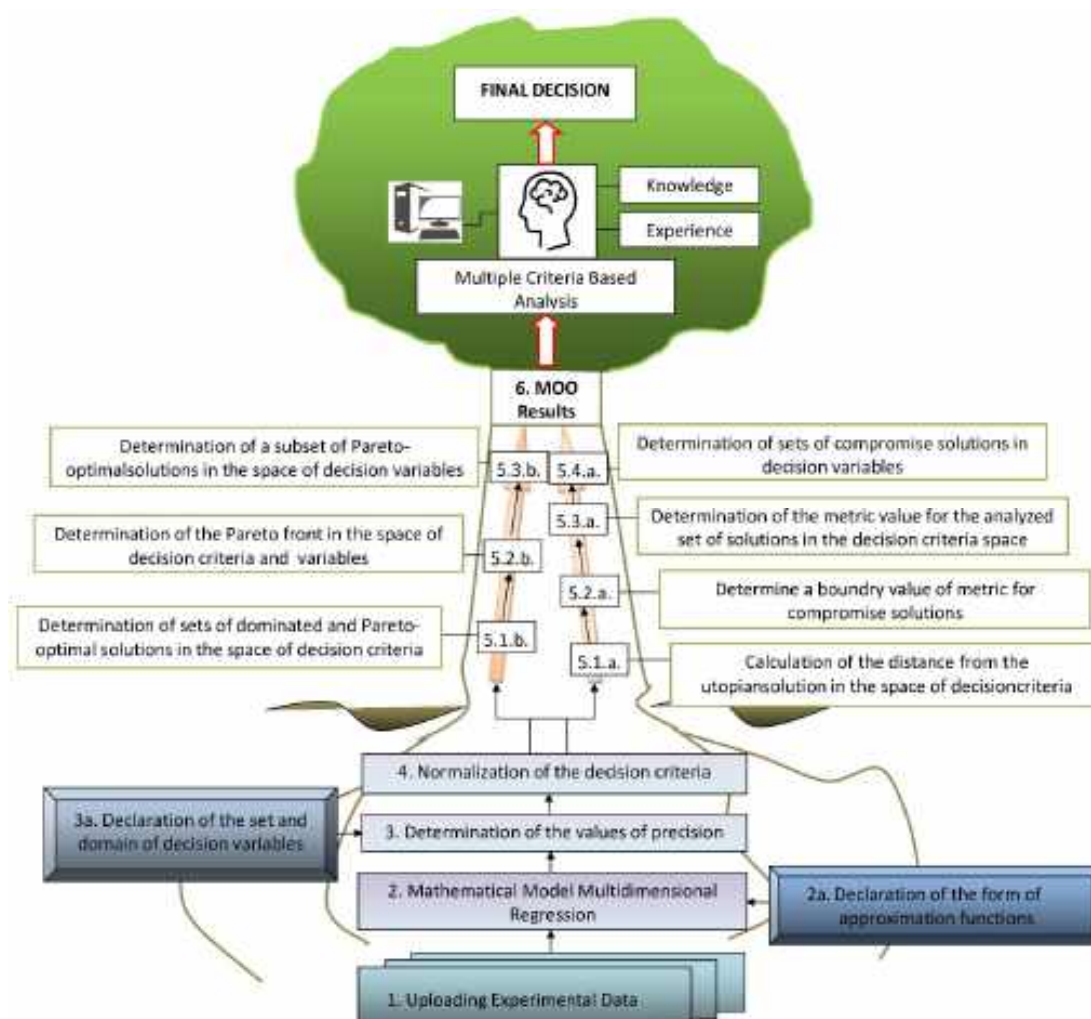
$$MSE = \frac{SSE}{v} \quad (4)$$

## 2.5. Multi-Objective Optimization

In the presented optimization task, a four-dimensional space of decision criteria was adopted:  $K = [K_1, K_2, K_3, K_4] \in R^4$ . The objective of the multi-criteria optimization task was to produce an extract from the roots of *Levisticum officinale*, characterized by the maximum value of all the decision criteria:

$$K_1 \rightarrow \max, K_2 \rightarrow \max, K_3 \rightarrow \max, K_4 \rightarrow \max \quad (5)$$

The optimization procedure is shown in Figure 1.



**Figure 1.** The flow chart of multi-objective optimization of the MAE extraction process.

The decision criteria corresponded to the individual quality characteristics of extracts from *Levisticum officinale*:  $K_1$ —TPC (total phenolic content) (mg GAE/g);  $K_2$ —TFC (total flavonoids content) ( $\mu\text{mol CAT/L}$ );  $K_3$ —TAA (total antioxidant activity) (DPPH-% inh);  $K_4$ —RSC (reducing sugar content) (g GE/L). These criteria were calculated for a specific set of decision variables for the microwave-assisted extraction process. The following parameters of the extraction process were adopted as decision variables:  $x_1$ —sample/solvent ratio (g/mL),  $x_2$ —microwave power (W), and  $x_3$ —time (s).

The domain of decision variables was defined by the following formula:

$$D = x_1 \times x_2 \times x_3 \quad (6)$$

Constraints imposed on decision variables  $x_1$ – $x_3$  were assumed as follows:

$$x_1 \in \langle 0.025; 0.075 \rangle [\text{g/mL}] \quad (7)$$

$$x_2 \in \langle 550; 750 \rangle [\text{W}] \quad (8)$$

$$x_3 \in \langle 30; 90 \rangle [\text{s}] \quad (9)$$

The values of the four individual criteria for a fixed domain of the set of variables D were determined based on a multivariate approximation of the experimental results.

The multi-objective optimization task consisted of determining a set of solutions in set D for decision criteria that meet the conditions for achieving the maximum values.

The decision criteria were scaled to dimensionless values and normalized as follows:

$$K_i^{(n)} = \frac{K_i^{max} - K_i}{K_i^{max} - K_i^{min}} \quad i = 1, 2, 3, 4 \quad K_i^{(n)} \in \langle 0; 1 \rangle \quad (10)$$

where  $K_i^{min}$  and  $K_i^{max}$  are the smallest and largest values of the criteria for the analyzed domain of the decision variables, respectively. The standardization procedure used allows for comparison of the values of the criteria describing different quantities and expressed in different units. The maximum value of the actual criterion corresponds to the value 0 in the space of standardized criteria.

The set of all possible Pareto optimal solutions was determined, and then the explicit form of the set of dominated and non-dominated solutions for extracts from *Levisticum officianle* in the criteria space was determined (set in a four-dimensional criteria space). In order to analyze and visualize these sets, subsets of the four-dimensional space ( $K_1, K_2, K_3, K_4$ ) in three-dimensional and two-dimensional criterion spaces were considered [33].

#### 2.6. Smart Pareto Filter—Pareto Frontier Exploration Using Weighting of Decision Criteria

The method for obtaining a smart representation was used. In the proposed method, the multi-objective optimization of the Pareto front topology is based on the weighted sum method. The weighted sum method is a useful approach for many practical multi-subject optimization problems [34,35]. The procedure diagram is shown in Figure 2. The following were adopted for the decision criteria:

$$K = \sqrt{K_1^2 + K_2^2 + K_3^2 + K_4^2} \quad (11)$$

After entering the importance of individual criteria, the following form was obtained:

$$K = \sqrt{w_1 K_1^2 + w_2 K_2^2 + w_3 K_3^2 + w_4 K_4^2} \quad (12)$$

The criteria were assigned weights based on the following equation:

$$w_1 + w_2 + w_3 + w_4 = 1 \quad (13)$$

For criteria  $K_1$ – $K_3$ , the value of  $w_1$ ,  $w_2$ , and  $w_3$  was 0.3. However, for  $K_4$ , the value of  $w_4$  was 0.1.

Using this approach, it was possible to determine the so-called “preferred” solutions from the Pareto front.

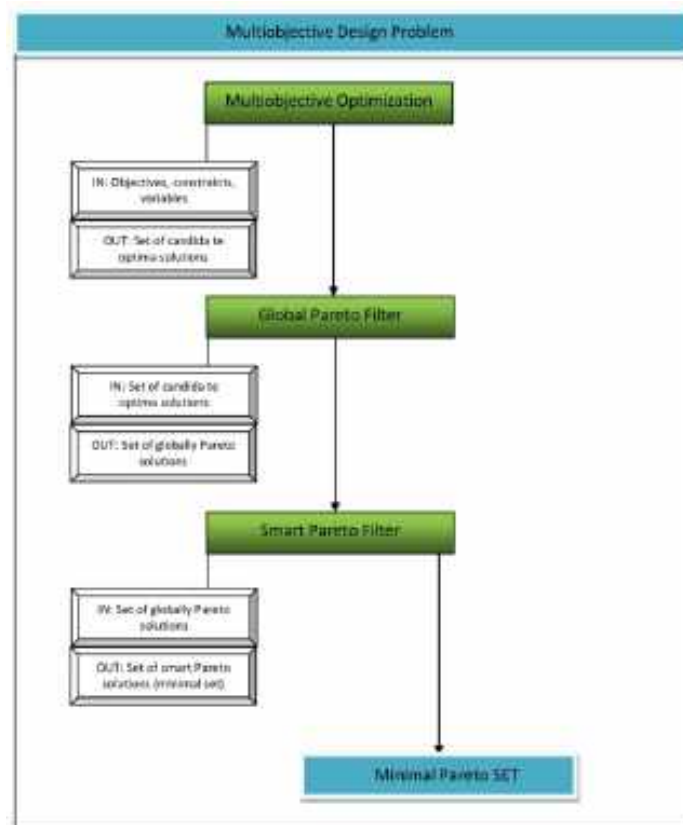


Figure 2. Methodology of smart Pareto set.

### 2.7. Reducing the Set of Pareto Optimal Solutions—The Compromise Solutions

In this optimization procedure, the definition of the Utopia point was adopted, i.e., the ideal point that maximizes the goals simultaneously (the so-called unattainable point) [36]. Therefore, the concept of achievable compromise solutions on the Pareto front, with the minimum distance from the Utopia point ( $d_U$ ), was introduced. To find this compromise solution on the Pareto front, first, the objective functions were normalized to the range [0, 1]. A graphical representation of the procedure is shown in Figure 3.

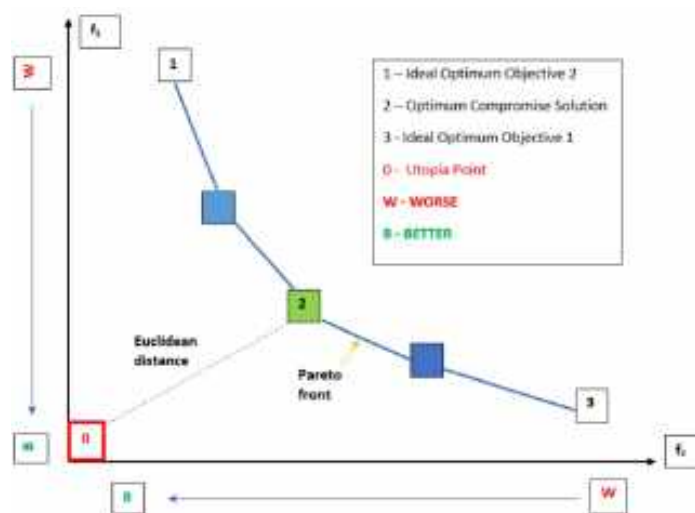


Figure 3. Illustration of the Pareto front and the Utopia point.

In the next step, the Euclidean distance of all solutions on the Pareto front was determined, measured from the ideal point. Therefore, in order to analyze the set of possible

solutions, a Euclidean metric of the form was introduced in the space of the standardized decision criteria, as follows:

$$d_U = d(K_0K) = \sqrt{\sum_{i=1}^4 K_i^2} \quad (14)$$

where  $K_0 = (0, 0, 0, 0)$  is the origin of the coordinate system, or the so-called Utopian solution.

Pareto optimal solutions with the minimum distance from the Utopia point were indicated as the best solution from a given set ( $d_U$ ). The obtained solutions can be treated as the best solutions from the obtained Pareto set in terms of the equal satisfaction of the all criteria.

### 2.8. Statistical Analysis

An analysis was performed in Matlab 7.0 using the F-statistic to test the statistical significance of the model. The values of the F-statistic (F-statistic for testing the final model vs. no model, mean only) allowed for the assessment of the significance of the elements or components of the model. The SSE—the sum of squared errors (residuals)—was given, defined as a numerical value. The SSR—the sum of squares due to regression—or the explained sum of squares (ESS)—the sum of the differences between the predicted value and the mean of the dependent variable—were also calculated, as well as the pval, a vector of  $p$ -values for testing whether elements of  $b$  are 0.

## 3. Results

### 3.1. The Mathematical Models—Multivariate Regression

The first step for the multi-criteria optimization of microwave-assisted extraction (MAE) was to build adequate response models (criteria) of TPC, TFC, TAA, and RSC for the process input parameters (biomass/solvent ratio, microwave exposure time, and microwave power). The effects of the decision variables (extraction process parameters) on the extraction efficiency of phenolic compounds, flavonoids, carbohydrates, and antioxidant potential are shown in Figures 4–7.

The regression model for total phenolic content is presented in Equation (1).

$$TPC = 1235.24 + (-2407.77) * x_1 + (-2.67) * x_2 + (-6.71) * x_3 + 5.59 * x_1 * x_2 + 22.32 * x_1 * x_3 + 0.012 * x_2 * x_3 + (-2830.27) * x_1^2 + 0.0013 * x_2^2 + (-0.012) * x_3^2 \quad (15)$$

The  $R^2$  coefficient of 0.813 in good agreement with the  $Adj R^2$  coefficient of 0.716 (difference = 0.097), with a mean squared prediction error (MSE) value of 212.794 (Table 1), indicating that the model for total polyphenol content (TPC) can be used to navigate the design space.

**Table 1.** Indicators of model fit of the experimental results and F-statistics for the decision criteria.

Criteria	MSE	$R^2$	$Adj R^2$	SSE	SSR	F-Value	$p$ -Value
$K_1$	2127.941	0.813	0.716	$3.620 \times 10^4$	$8.970 \times 10^4$	4.6842	$3.100 \times 10^{-3}$
$K_2$	1606.676	0.821	0.726	$2.730 \times 10^4$	$1.250 \times 10^5$	8.6418	$8.510 \times 10^{-5}$
$K_3$	16.410	0.820	0.723	278.848	$1.260 \times 10^3$	8.5237	$9.290 \times 10^{-5}$
$K_4$	2.450	0.890	0.830	41.7226	$3.180 \times 10^2$	14.3846	$2.640 \times 10^{-6}$

Legend: SSE—sum of squared errors (residuals), expressed as a numerical value; SSR—sum of squares due to regression, or explained sum of squares (ESS)—sum of the differences between the predicted value and the mean of the dependent variable; pval—vector of  $p$ -values for testing whether elements of  $b$  are 0.

The regression models for total flavonoid content (criterion  $K_2$ ) and total antioxidant potential (criterion  $K_3$ ) reflected the experimental data equally well (Equations (2) and (3)).

$$TFC = 653.74 + 1238.19 * x_1 + (-1.16) * x_2 + (-5.36) * x_3 + 11.97 * x_1 * x_2 + (-46.98) * x_1 * x_3 + 0.0061 * x_2 * x_3 + (-16119.8) * x_1^2 + 0.0003 * x_2^2 + 0.036 * x_3^2 \quad (16)$$

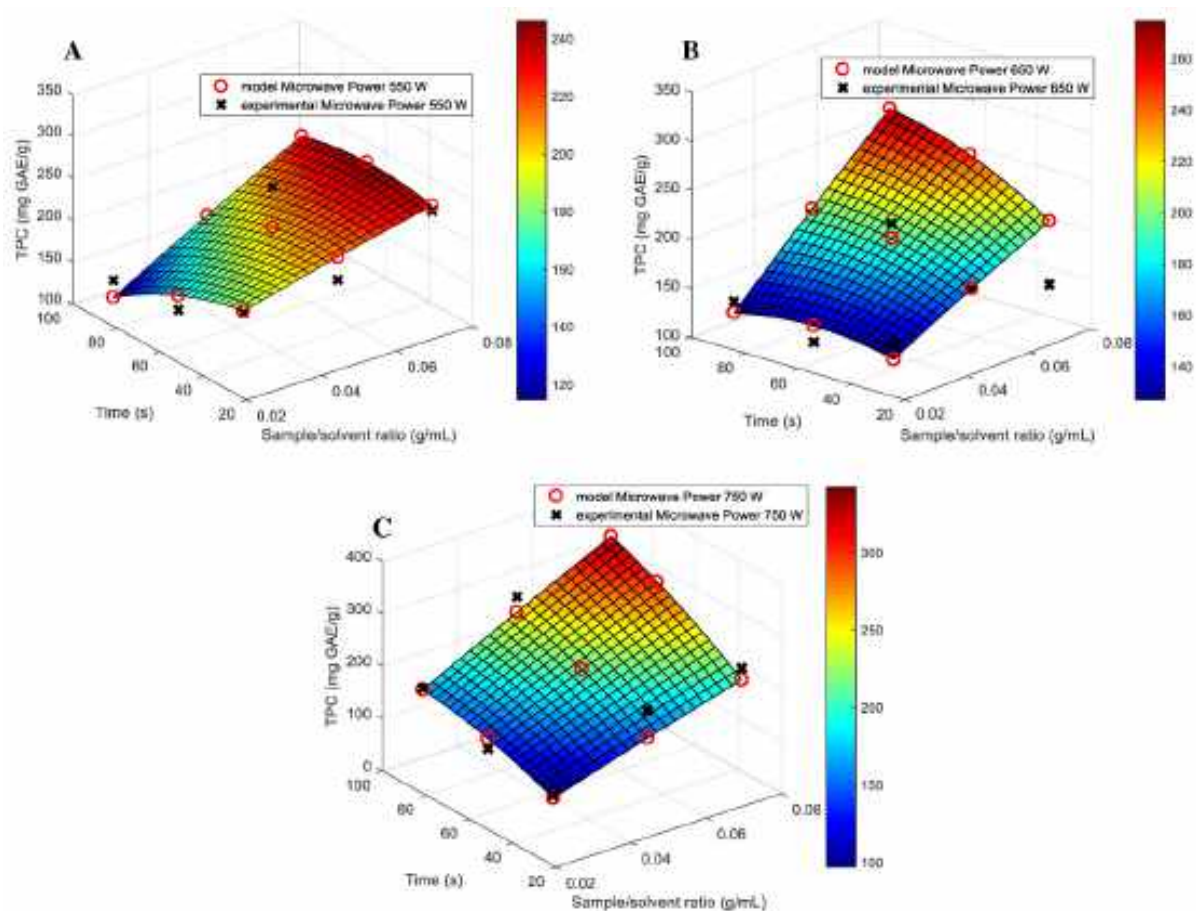
$$TAA = 201.53 + 1578.34 * x_1 + (-0.59) * x_2 + 0.558 * x_3 + 0.257 * x_1 * x_2 + (-3.42) * x_1 * x_3 + 0.0006 * x_2 * x_3 + (-13650.1) * x_1^2 + 0.00042 * x_2^2 + (-0.0067) * x_3^2 \quad (17)$$

The determined values of the  $R^2$  coefficients were 0.821 and 0.820, respectively, while the adjusted  $R^2$  values ( $Adj R^2$ ) reached 0.7260 and 0.7225. It was therefore concluded that the generated polynomial equations could be applied to the optimization procedure for the MAE extraction parameters for maximizing the  $K_2$  and  $K_3$  criteria.

The regression equation for RSC is presented in Equation (4).

$$RSC = 2.95 + (-235.05) * x_1 + 0.051 * x_2 + (-0.07) * x_3 + (-0.29) * x_1 * x_2 + (-1.73) * x_1 * x_3 + 0.00021 * x_2 * x_3 + 4189.67 * x_1^2 + (-3.43) * x_2^2 + (-0.00046) * x_3^2 \quad (18)$$

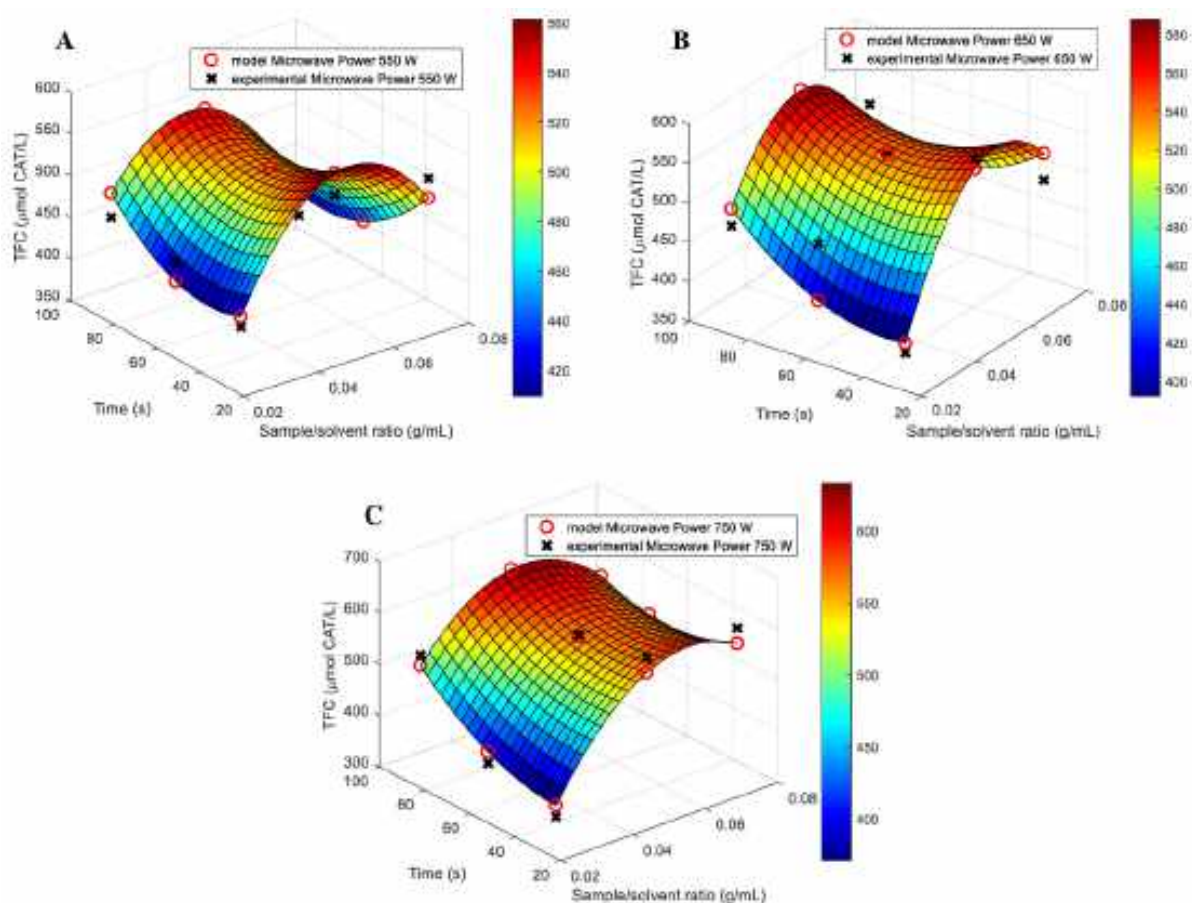
The best fit of the models to the experimental results was obtained for RSC (reducing sugar content). For this criterion, the  $R^2$  was 0.8900, with a corrected value for this indicator of 0.8300 (difference of 0.0600). This indicates the predictive ability of the model for RSC.



**Figure 4.** Experimental and predicted values (regression function with interpolation) for TPC, as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio, g/mL) and  $x_3$  (time, s) for (A) microwave power  $x_2 = 550$  W; (B) microwave power  $x_2 = 650$  W; (C) microwave power  $x_2 = 750$  W.

It was shown that the process parameters analyzed, i.e., biomass/solvent ratio, process time, and microwave power, determined the extraction efficiency of the total phenolic content (TPC). Increased microwave power, to 650 and 750 W, led to increased levels of

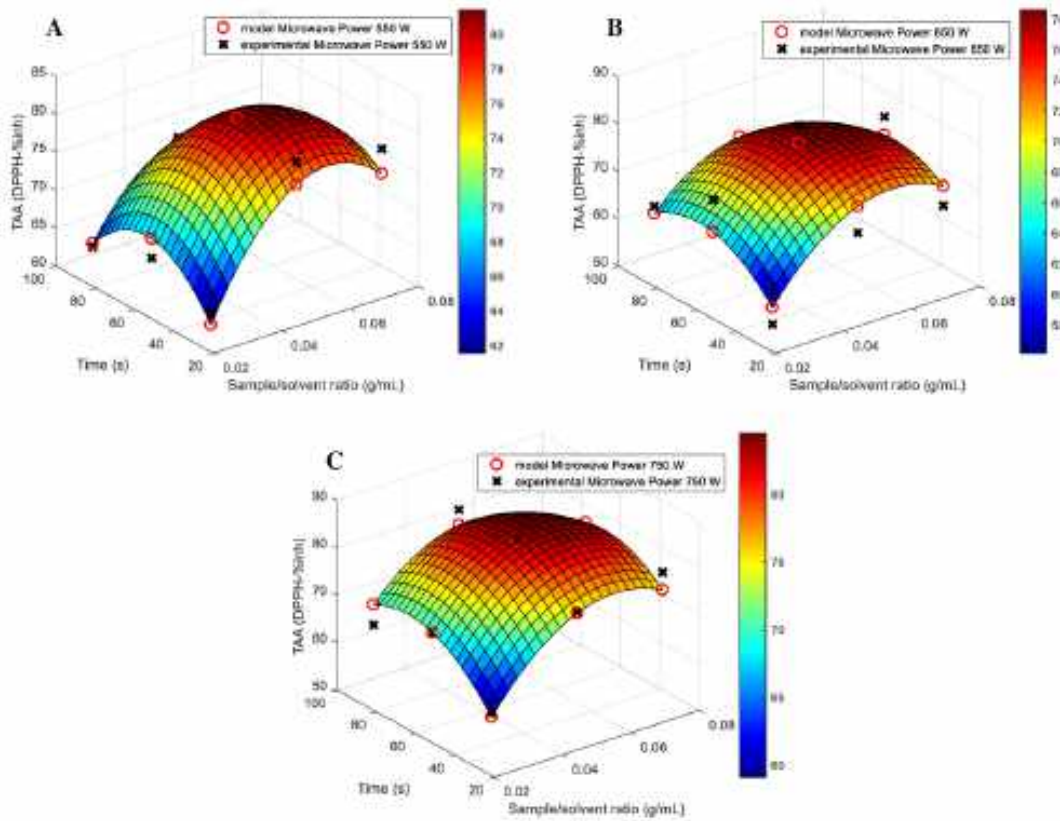
TPC in aqueous extracts. Similar effects were observed when the microwave exposure time was increased on the plant biomass in the solvent. The high total levels of phenolic compounds in the extracts resulted from the extraction procedure in which the ratio of the *Levisticum officinale* root biomass to water was the highest. The extracts, obtained with a plant sample to water ratio of 0.075, expressed a higher concentration of the total phenolic compound pool.



**Figure 5.** Experimental and predicted values (regression function with interpolation) for TFC, as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio, g/mL) and  $x_3$  (time, s) for (A) microwave power  $x_2 = 550$  W; (B) microwave power  $x_2 = 650$  W; (C) microwave power  $x_2 = 750$  W.

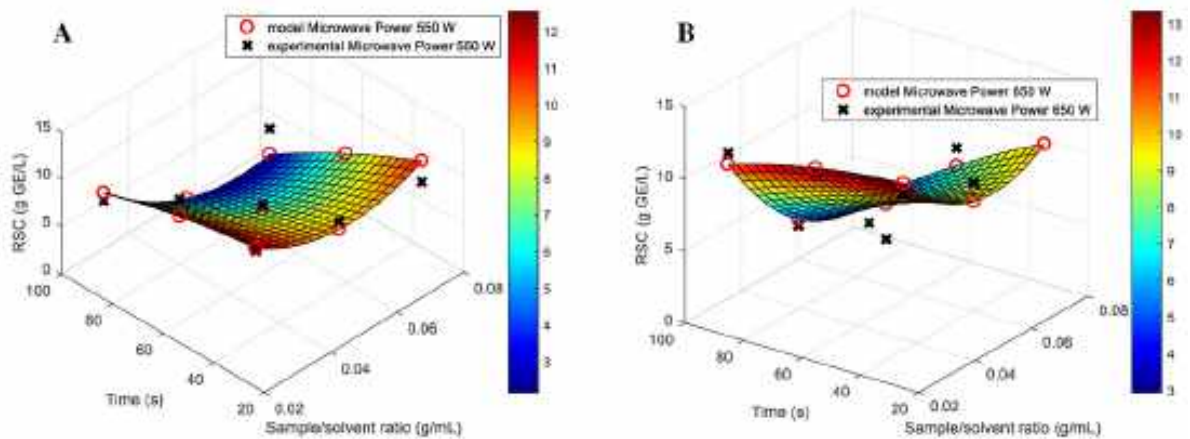
A different observation was made for the analysis of total flavonoid content (TFC). Admittedly, all process parameters shaped the value of this criterion, but to a completely different degree than for TPC. It was shown that exceeding the limit of the extraction process parameters led to a decrease in the level of flavonoids in the extracts (Figure 5). In general, prolonging the extraction procedure resulted in an increased TFC content in the samples analyzed. However, when the effect of the ratio of *Levisticum officinale* root biomass to solvent volume was assessed, it was found that flavonoid extraction reached increased levels for the average indicator analyzed (0.050 g/mL). In addition, it was found that at increased microwave power, of the order of 650 and 750 W, similar amounts of flavonoids were already observed in the extracts.

Similar relationships with the analysis of total flavonoid content were observed when assessing total antioxidant potential (TAA). An occurrence of a certain TAA extreme was noted, and after certain process parameter limits were exceeded, the analyzed quality characteristic of the extracts decreased. For an increase in antioxidant activity, the average analyzed process time was more favorable, as was the average biomass/water ratio (0.050 g/mL). In addition, it was noted that the highest microwave power analyzed led to extracts with higher antioxidant potential.

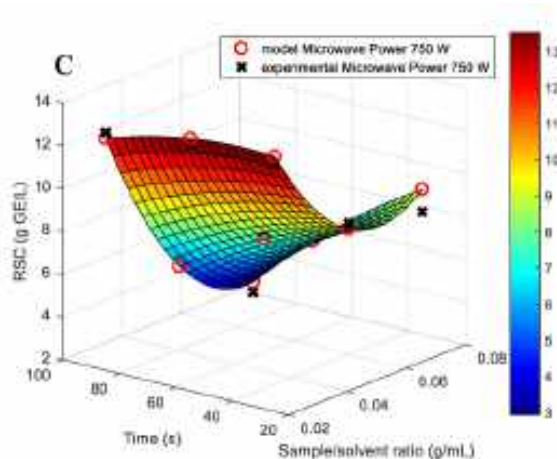


**Figure 6.** Experimental and predicted values (regression function with interpolation) for TAA, as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio, g/mL) and  $x_3$  (time, s) for (A) microwave power  $x_2 = 550$  W; (B) microwave power  $x_2 = 650$  W; (C) microwave power  $x_2 = 750$  W.

Compared to the assessment of TFC and TAA, a completely different trend was observed for the analysis of total reducing sugars in the extracts. The models generated indicate the parameters at which there was a sharp decrease. This was the case for a biomass-to-solvent ratio value of 0.050 g/mL. Increasing the exposure time of the samples to microwaves led to an increase in RSC levels. When analyzing the effect of microwave power, it was shown that for 550 and 650 W, similar concentrations of reducing sugars occurred. Increasing this parameter only, up to the maximum analyzed in the experiment, resulted in increased differences in RSC in the extracts (Figure 7).



**Figure 7.** Cont.



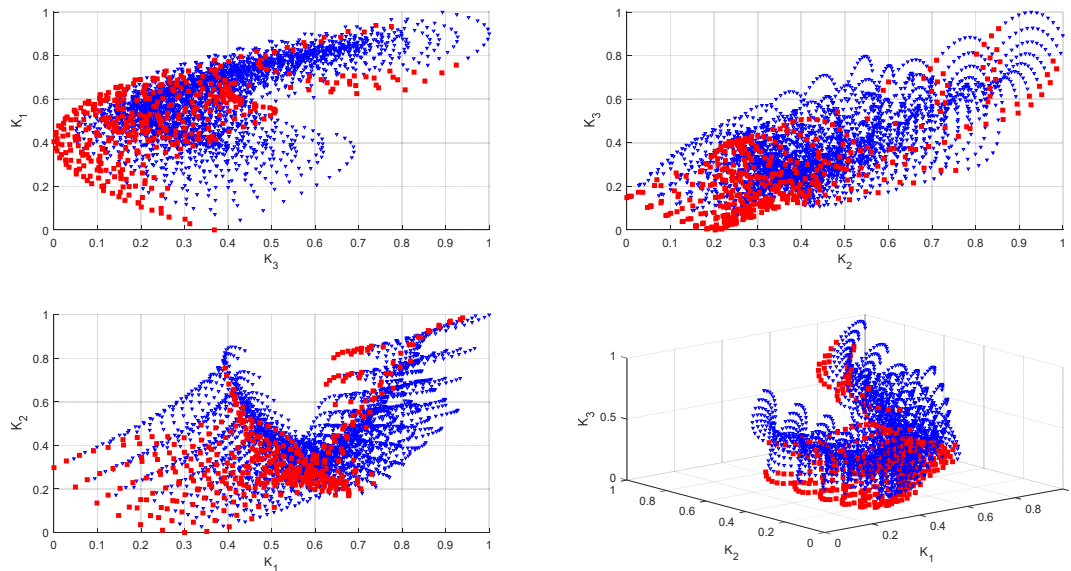
**Figure 7.** Experimental and predicted values (regression function with interpolation) for RSC, as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio, g/mL) and  $x_3$  (time, s) for (A) microwave power  $x_2 = 550$  W; (B) microwave power  $x_2 = 650$  W; (C) microwave power  $x_2 = 750$  W.

### 3.2. Multi-Criteria Optimization of Microwave-Assisted Aqueous Extraction Process

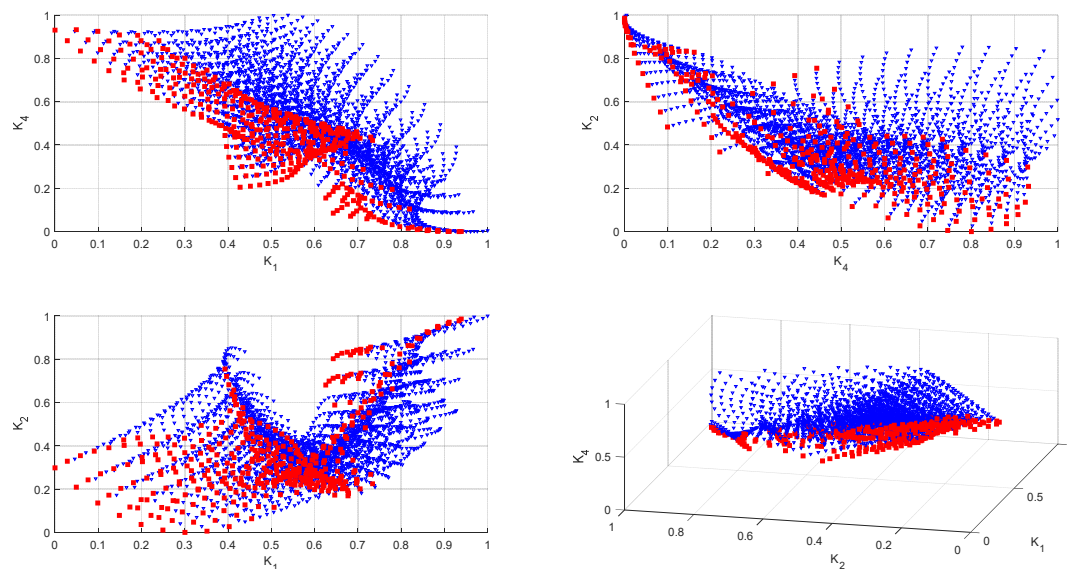
The generated models in the form of multivariate regression equations, supported by the interpolation of multivariate polynomial equations, were then used in multi-criteria (multi-objective) optimization procedures. Thus, by combining all equations, it was possible to create a so-called global model for multi-objective optimization, which made it possible to predict multiple output signals (TPC, TFC, TAA, RSC) as a function of the input process parameters ( $x_1, x_2, x_3$ ). The predictive outputs (criteria) indicate the possibility of global insights into the entire extraction process efficiency domain under study, which was expressed in terms of maximizing the values of the individual criteria. Figures 8 and 9 show Pareto fronts in the two-dimensional and three-dimensional decision criteria space (after normalization for the maximized criteria, 0 is the best case scenario). Due to the demonstrated complexity, the analysis of the research problem required visualization of the results of multi-objective optimization (Figure 10) with representation of the Pareto-optimal solution sets in the space of the decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (microwave power), and  $x_3$  (time). The analysis of the Pareto fronts showed that the edge is a multi-consistent set. It should be emphasized that the process parameters of microwave-assisted aqueous extraction ( $x_1, x_2$  and  $x_3$ ) simultaneously influenced the objective function of the identified domain. Thus, the mathematical model of the four-objective optimization problem, determining the extraction process, focused on finding parameters such that  $x = (x_1^{\text{opt}}, x_2^{\text{opt}}, x_3^{\text{opt}})$  in the analyzed domain.

In the multi-object Pareto front shown in Figure 8, POS, obtained as a result of optimization in the space of decision variables (microwave-assisted extraction process parameters), shows the multiplicity of Pareto optimal solutions (possible scenarios for decision-making). This therefore indicates the need to consider the problem of maximizing the bioactive compounds in extracts by designing them in conjunction with a real-world situation (process analysis of optimization results using the decision maker). Therefore, the decision maker can choose the parameters for microwave-assisted aqueous extraction, based on knowledge and preference, as well as on practical technical and engineering requirements. In such a decision-making process, the set of Pareto optimal solutions (against dominated solutions) presented in a three-dimensional space of decision variables is of great help. It is proven that there is a relatively large area of non-dominated solutions. It was shown that for maximizing the four analyzed quality criteria of *Levisticum officinale* extracts, a number of options can be chosen. First of all, the boundary conditions of the process itself can be applied, i.e., increasing the extraction process time, as well as increasing the microwave power and the biomass/water ratio. The second option indicates that achieving the objective function (maximizing the criteria) with a low ratio of lovage roots to the

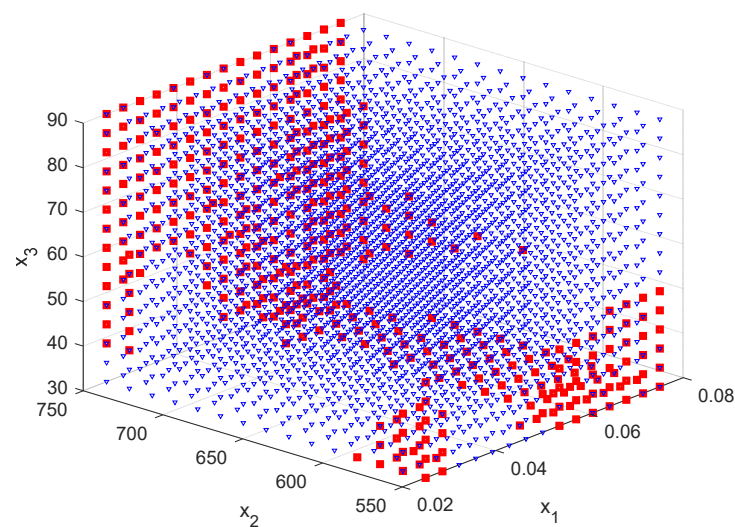
extractant agent assumes increased microwave power or exposure time. Increasing the biomass/solvent ratio, on the other hand, allows for a decrease in microwave power and a shortening of the procedure to achieve satisfactory levels of bioactive compounds. Moving further into the three-dimensional space of Pareto optimal solutions, it can also be seen that the use of medium microwave power and medium biomass/solvent ratios can reduce the time of the entire extraction process (Table 2). And this is where the flexibility of the controllability of the microwave-assisted aqueous extraction process comes in.



**Figure 8.** Pareto solution sets for maximizing regression equations for criterion relationships  $K_1$  (TPC—total phenolic content, maximized),  $K_2$  (TFC—total flavonoids content),  $K_3$  (TAA—total antioxidant activity). Red color indicates Pareto optimal solutions (Pareto front); blue color indicates dominated solutions.



**Figure 9.** Pareto solution sets for maximizing regression equations for criterion relationships  $K_1$  (TPC—total phenolic content, maximized),  $K_2$  (TFC—total flavonoids content, maximized),  $K_4$  (RSC—reducing sugar content). Red color indicates Pareto optimal solutions; blue color indicates dominated solutions. For maximized criteria, 0 is the best case scenario.



**Figure 10.** Pareto solution sets for maximizing regression equations as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (microwave power), and  $x_3$  (time). Red color indicates Pareto optimal solutions; blue color indicates dominated solutions.

**Table 2.** Optimal solutions from the Pareto front for decision variables.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0250	550.0000	30.0000	0.0607	721.4286	34.2857
0.0250	550.0000	34.2857	0.0607	735.7143	30.0000
0.0250	550.0000	38.5714	0.0607	735.7143	34.2857
0.0250	550.0000	42.8571	0.0607	735.7143	38.5714
0.0250	550.0000	47.1429	0.0607	735.7143	42.8571
0.0250	550.0000	51.4286	0.0607	735.7143	60.0000
0.0250	564.2857	30.0000	0.0607	735.7143	64.2857
0.0250	564.2857	34.2857	0.0607	735.7143	68.5714
0.0250	564.2857	38.5714	0.0607	735.7143	72.8571
0.0250	564.2857	42.8571	0.0607	735.7143	81.4286
0.0250	578.5714	30.0000	0.0607	735.7143	85.7143
0.0250	578.5714	34.2857	0.0607	735.7143	90.0000
0.0250	578.5714	38.5714	0.0607	750.0000	30.0000
0.0250	592.8571	30.0000	0.0607	750.0000	34.2857
0.0250	735.7143	38.5714	0.0607	750.0000	38.5714
0.0250	735.7143	42.8571	0.0607	750.0000	42.8571
0.0250	735.7143	47.1429	0.0607	750.0000	47.1429
0.0250	735.7143	51.4286	0.0607	750.0000	51.4286
0.0250	735.7143	55.7143	0.0607	750.0000	55.7143
0.0250	735.7143	60.0000	0.0607	750.0000	60.0000
0.0250	750.0000	38.5714	0.0607	750.0000	64.2857
0.0250	750.0000	42.8571	0.0607	750.0000	68.5714
0.0250	750.0000	47.1429	0.0607	750.0000	72.8571
0.0250	750.0000	51.4286	0.0607	750.0000	77.1429
0.0250	750.0000	55.7143	0.0607	750.0000	81.4286
0.0250	750.0000	60.0000	0.0607	750.0000	85.7143
0.0250	750.0000	64.2857	0.0607	750.0000	90.0000
0.0250	750.0000	68.5714	0.0643	550.0000	30.0000
0.0250	750.0000	72.8571	0.0643	550.0000	34.2857
0.0250	750.0000	77.1429	0.0643	550.0000	38.5714
0.0250	750.0000	81.4286	0.0643	550.0000	42.8571

Table 2. Cont.

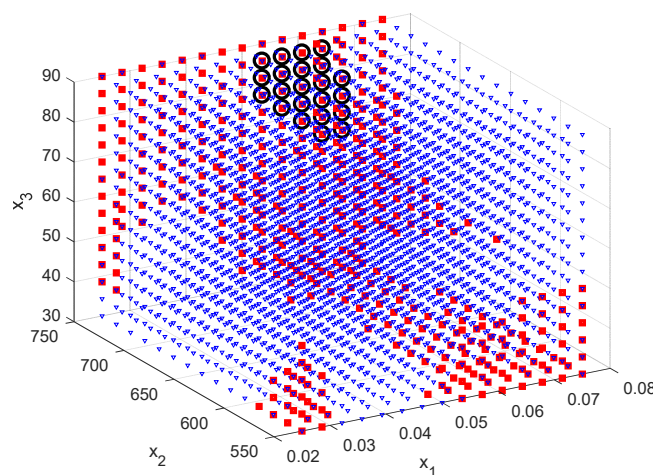
$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0250	750.0000	85.7143	0.0643	550.0000	47.1429
0.0250	750.0000	90.0000	0.0643	550.0000	51.4286
0.0286	550.0000	30.0000	0.0643	564.2857	30.0000
0.0286	550.0000	34.2857	0.0643	578.5714	30.0000
0.0286	550.0000	38.5714	0.0643	592.8571	30.0000
0.0286	550.0000	42.8571	0.0643	607.1429	30.0000
0.0286	564.2857	30.0000	0.0643	621.4286	30.0000
0.0286	564.2857	34.2857	0.0643	635.7143	30.0000
0.0286	564.2857	38.5714	0.0643	650.0000	30.0000
0.0286	564.2857	42.8571	0.0643	664.2857	30.0000
0.0286	578.5714	30.0000	0.0643	678.5714	30.0000
0.0286	578.5714	34.2857	0.0643	692.8571	30.0000
0.0286	578.5714	38.5714	0.0643	707.1429	30.0000
0.0286	750.0000	51.4286	0.0643	721.4286	30.0000
0.0286	750.0000	55.7143	0.0643	721.4286	34.2857
0.0286	750.0000	60.0000	0.0643	721.4286	38.5714
0.0286	750.0000	64.2857	0.0643	735.7143	34.2857
0.0286	750.0000	68.5714	0.0643	735.7143	42.8571
0.0286	750.0000	72.8571	0.0643	735.7143	47.1429
0.0286	750.0000	77.1429	0.0643	735.7143	51.4286
0.0286	750.0000	81.4286	0.0643	735.7143	55.7143
0.0286	750.0000	85.7143	0.0643	735.7143	60.0000
0.0286	750.0000	90.0000	0.0643	735.7143	64.2857
0.0321	564.2857	30.0000	0.0643	735.7143	68.5714
0.0321	578.5714	30.0000	0.0643	735.7143	72.8571
0.0321	750.0000	51.4286	0.0643	735.7143	85.7143
0.0321	750.0000	55.7143	0.0643	735.7143	90.0000
0.0321	750.0000	60.0000	0.0643	750.0000	30.0000
0.0321	750.0000	64.2857	0.0643	750.0000	34.2857
0.0321	750.0000	68.5714	0.0643	750.0000	38.5714
0.0321	750.0000	72.8571	0.0643	750.0000	42.8571
0.0321	750.0000	77.1429	0.0643	750.0000	47.1429
0.0321	750.0000	81.4286	0.0643	750.0000	51.4286
0.0321	750.0000	85.7143	0.0643	750.0000	55.7143
0.0321	750.0000	90.0000	0.0643	750.0000	60.0000
0.0357	750.0000	55.7143	0.0643	750.0000	64.2857
0.0357	750.0000	60.0000	0.0643	750.0000	68.5714
0.0357	750.0000	64.2857	0.0643	750.0000	72.8571
0.0357	750.0000	68.5714	0.0643	750.0000	77.1429
0.0357	750.0000	72.8571	0.0643	750.0000	81.4286
0.0357	750.0000	77.1429	0.0643	750.0000	85.7143
0.0357	750.0000	81.4286	0.0643	750.0000	90.0000
0.0357	750.0000	85.7143	0.0679	550.0000	30.0000
0.0357	750.0000	90.0000	0.0679	550.0000	34.2857
0.0393	750.0000	55.7143	0.0679	550.0000	38.5714
0.0393	750.0000	60.0000	0.0679	550.0000	42.8571
0.0393	750.0000	64.2857	0.0679	550.0000	47.1429
0.0393	750.0000	68.5714	0.0679	550.0000	51.4286
0.0393	750.0000	72.8571	0.0679	564.2857	30.0000
0.0393	750.0000	77.1429	0.0679	578.5714	30.0000
0.0393	750.0000	81.4286	0.0679	592.8571	30.0000
0.0393	750.0000	85.7143	0.0679	607.1429	30.0000
0.0393	750.0000	90.0000	0.0679	621.4286	30.0000
0.0429	735.7143	64.2857	0.0679	635.7143	30.0000
0.0429	750.0000	51.4286	0.0679	650.0000	30.0000
0.0429	750.0000	55.7143	0.0679	664.2857	30.0000

Table 2. Cont.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0429	750.0000	60.0000	0.0679	678.5714	30.0000
0.0429	750.0000	64.2857	0.0679	692.8571	30.0000
0.0429	750.0000	68.5714	0.0679	707.1429	30.0000
0.0429	750.0000	72.8571	0.0679	721.4286	30.0000
0.0429	750.0000	77.1429	0.0679	735.7143	30.0000
0.0429	750.0000	81.4286	0.0679	735.7143	34.2857
0.0429	750.0000	85.7143	0.0679	735.7143	38.5714
0.0429	750.0000	90.0000	0.0679	735.7143	42.8571
0.0464	735.7143	55.7143	0.0679	735.7143	47.1429
0.0464	750.0000	42.8571	0.0679	735.7143	51.4286
0.0464	750.0000	47.1429	0.0679	735.7143	55.7143
0.0464	750.0000	51.4286	0.0679	735.7143	60.0000
0.0464	750.0000	55.7143	0.0679	735.7143	64.2857
0.0464	750.0000	60.0000	0.0679	735.7143	68.5714
0.0464	750.0000	64.2857	0.0679	735.7143	72.8571
0.0464	750.0000	68.5714	0.0679	750.0000	30.0000
0.0464	750.0000	72.8571	0.0679	750.0000	34.2857
0.0464	750.0000	77.1429	0.0679	750.0000	38.5714
0.0464	750.0000	81.4286	0.0679	750.0000	42.8571
0.0464	750.0000	85.7143	0.0679	750.0000	47.1429
0.0464	750.0000	90.0000	0.0679	750.0000	51.4286
0.0500	550.0000	34.2857	0.0679	750.0000	55.7143
0.0500	550.0000	38.5714	0.0679	750.0000	60.0000
0.0500	564.2857	30.0000	0.0679	750.0000	64.2857
0.0500	735.7143	38.5714	0.0679	750.0000	68.5714
0.0500	735.7143	47.1429	0.0679	750.0000	72.8571
0.0500	735.7143	51.4286	0.0679	750.0000	77.1429
0.0500	735.7143	55.7143	0.0679	750.0000	81.4286
0.0500	735.7143	60.0000	0.0679	750.0000	85.7143

Due to the determined number of Pareto optimal solutions, an approach related to the introduction of preferences in the optimization procedure was applied in the next step. The Pareto set reduction method was used, and set navigation was carried out using an a priori method, based on the preference of the decision-making process to direct the finding of optimal solutions to the preferred region, through different weighting of criteria and interest in alternative solution scenarios. The effects of this solution set reduction approach are shown in Figure 11.

Reducing the solutions from the Pareto fronts and the so-called smart Pareto approach yielded a subset of optimal solutions (preferred solutions). Assigning weights to the criteria allowed the first three quality criteria of the extracts to be given greater importance (Table 3). The optimal subsets showed that for satisfactory levels of biologically active compounds, aqueous extraction should be carried out at a maximum microwave power of 750 W. Preferred solutions were obtained for *Levisticum officinale* biomass/solvent ratios ranging from 0.0536 g/mL to 0.0679 g/mL. In contrast, the preferred optimum running time for microwave-assisted aqueous extraction was in the range of 64.2857 to 85.7143 s. Thus, for the maximization of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant potential, it is not indicated that extraction should be conducted at maximum process parameters.



**Figure 11.** Visualization of smart Pareto solutions against Pareto front optimal solutions in decision variable spaces  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (microwave power), and  $x_3$  (time). Red color indicates Pareto optimal solutions; blue color indicates dominated solutions; black dots/circles indicate smart Pareto solutions.

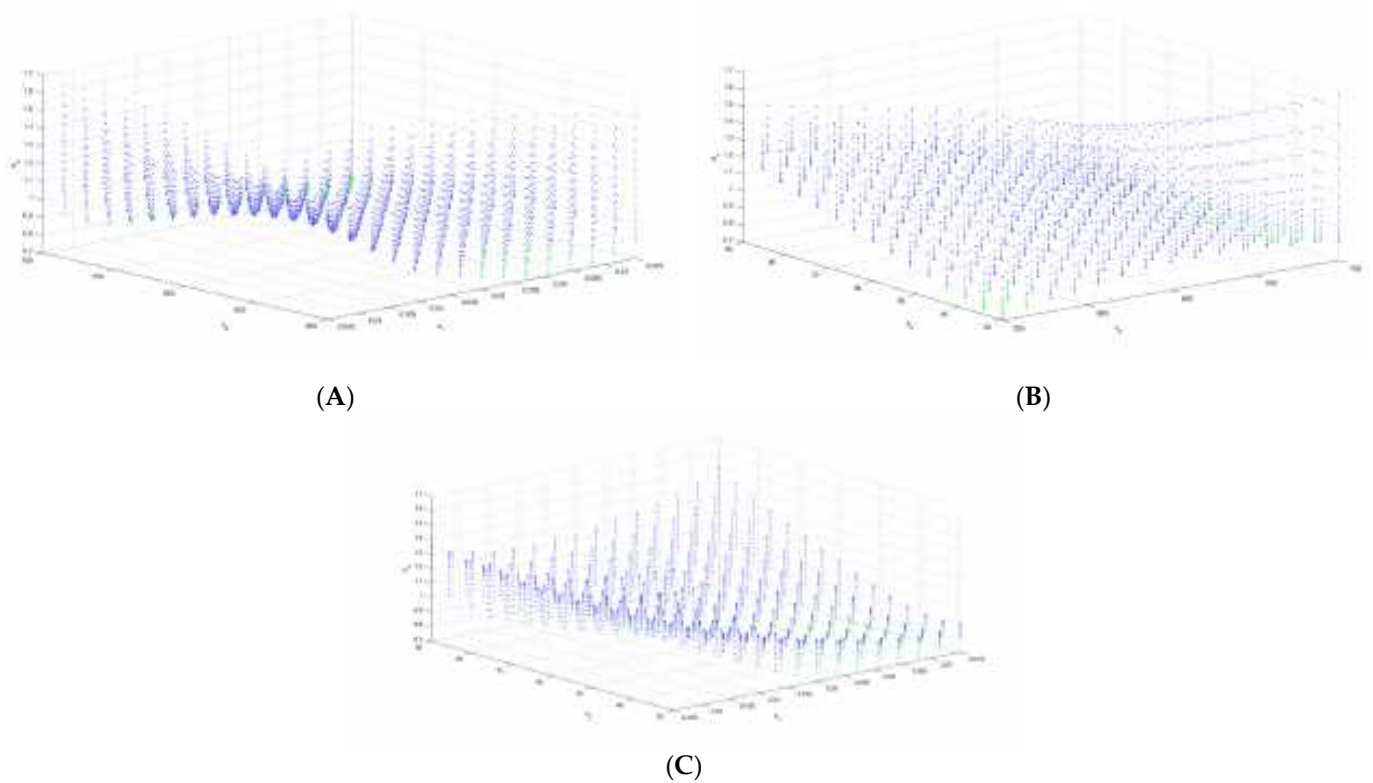
**Table 3.** Pareto front solution reduction—subsets of optimal solutions (smart Pareto) for decision variables.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0536	750	77.1429	0.0607	750	85.7143
0.0536	750	81.4286	0.0643	750	64.2857
0.0536	750	85.7143	0.0643	750	68.5714
0.0571	750	72.8571	0.0643	750	72.8571
0.0571	750	77.1429	0.0643	750	77.1429
0.0571	750	81.4286	0.0643	750	81.4286
0.0571	750	85.7143	0.0643	750	85.7143
0.0607	750	68.5714	0.0679	750	64.2857
0.0607	750	72.8571	0.0679	750	68.5714
0.0607	750	77.1429	0.0679	750	72.8571
0.0607	750	81.4286	0.0679	750	77.1429

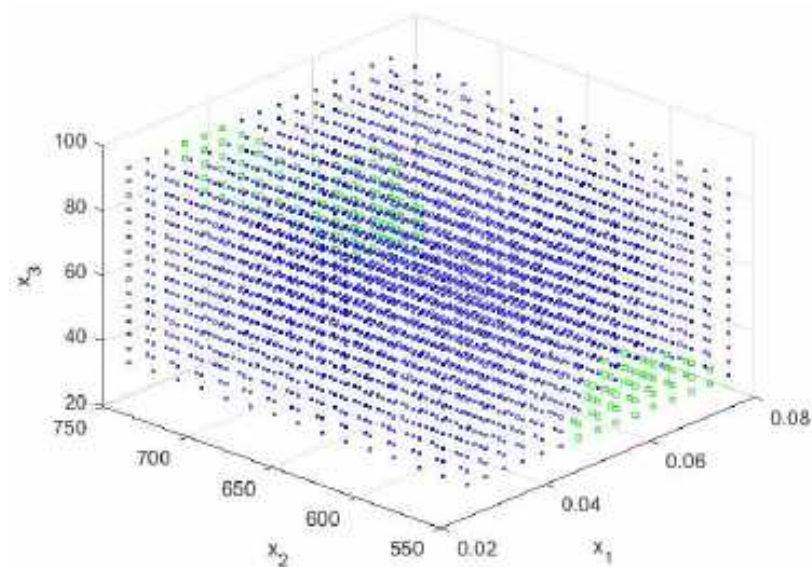
The next proposed step in the search for optimal solutions was a post-Pareto analysis, involving the determination of the distance of points from the front end to the ideal “unattainable” Utopia point, based on the decision maker’s additional input in deciding which compromise solutions would be accepted. This approach allowed the Pareto optimal set to be narrowed down, while allowing the decision maker to have access to a set of solutions with a practical dimension. The sets of compromise solutions as a function of the two decision variables are shown in Figure 12, while for a more complete visualization, Figure 13 shows the sets of compromise solutions in the three-dimensional space of all analyzed variables/parameters of the extraction process.

Analysis of the trade-off solutions in the space of decision variables shows that they occur in two subsets (Figure 13).

The set of Pareto compromise solutions is shown in Table 4. By minimizing the distance of non-dominated solutions from the Utopia point, it was shown that for simultaneous maximization of the decision criteria, the extraction process can be controlled over certain ranges of decision variables.



**Figure 12.** Sets of trade-off solutions based on distance from the Utopia point as a function of decision variables (A)  $x_1$  (sample/solvent ratio) and  $x_3$  (time); (B)  $x_2$  (microwave power) and  $x_3$  (time); (C)  $x_1$  (sample/solvent ratio) and  $x_3$  (time). Green color indicates compromise solutions; blue color indicates dominated solutions.



**Figure 13.** Illustration of compromise solutions based on the distance from the Utopia point, as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (microwave power), and  $x_3$  (time). Green color indicates compromise solutions; blue color indicates dominated solutions.

Table 4. The set of Pareto compromise solutions for the MAE extraction.

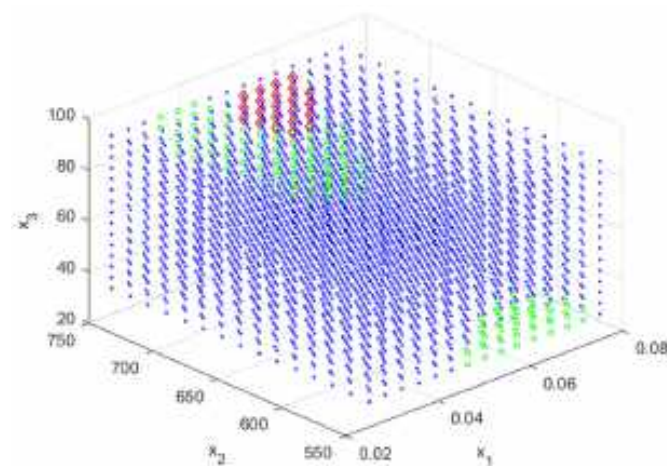
$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0357	750.0000	85.7143	0.0643	564.2857	30.0000
0.0357	750.0000	90.0000	0.0643	564.2857	34.2857
0.0393	750.0000	72.8571	0.0643	564.2857	38.5714
0.0393	750.0000	77.1429	0.0643	578.5714	30.0000
0.0393	750.0000	81.4286	0.0643	578.5714	34.2857
0.0393	750.0000	85.7143	0.0643	578.5714	38.5714
0.0393	750.0000	90.0000	0.0643	592.8571	30.0000
0.0429	750.0000	68.5714	0.0643	721.4286	47.1429
0.0429	750.0000	72.8571	0.0643	721.4286	51.4286
0.0429	750.0000	77.1429	0.0643	721.4286	55.7143
0.0429	750.0000	81.4286	0.0643	735.7143	42.8571
0.0429	750.0000	85.7143	0.0643	735.7143	47.1429
0.0429	750.0000	90.0000	0.0643	735.7143	51.4286
0.0464	550.0000	30.0000	0.0643	735.7143	55.7143
0.0464	550.0000	34.2857	0.0643	735.7143	60.0000
0.0464	750.0000	64.2857	0.0643	750.0000	38.5714
0.0464	750.0000	68.5714	0.0643	750.0000	42.8571
0.0464	750.0000	72.8571	0.0643	750.0000	47.1429
0.0464	750.0000	77.1429	0.0643	750.0000	51.4286
0.0464	750.0000	81.4286	0.0643	750.0000	55.7143
0.0464	750.0000	85.7143	0.0643	750.0000	60.0000
0.0500	550.0000	30.0000	0.0643	750.0000	64.2857
0.0500	550.0000	34.2857	0.0679	550.0000	30.0000
0.0500	550.0000	38.5714	0.0679	550.0000	34.2857
0.0500	564.2857	30.0000	0.0679	550.0000	38.5714
0.0500	750.0000	60.0000	0.0679	564.2857	30.0000
0.0500	750.0000	64.2857	0.0679	564.2857	34.2857
0.0500	750.0000	68.5714	0.0679	564.2857	38.5714
0.0500	750.0000	72.8571	0.0679	578.5714	30.0000
0.0500	750.0000	77.1429	0.0679	578.5714	34.2857
0.0500	750.0000	81.4286	0.0679	721.4286	42.8571
0.0536	550.0000	30.0000	0.0679	721.4286	47.1429
0.0536	550.0000	34.2857	0.0679	721.4286	51.4286
0.0536	550.0000	38.5714	0.0679	721.4286	55.7143
0.0536	564.2857	30.0000	0.0679	735.7143	38.5714
0.0536	564.2857	34.2857	0.0679	735.7143	42.8571
0.0536	564.2857	38.5714	0.0679	735.7143	47.1429
0.0536	750.0000	55.7143	0.0679	735.7143	51.4286
0.0536	750.0000	60.0000	0.0679	735.7143	55.7143
0.0536	750.0000	64.2857	0.0679	735.7143	60.0000
0.0536	750.0000	68.5714	0.0679	750.0000	34.2857
0.0536	750.0000	72.8571	0.0679	750.0000	38.5714
0.0571	550.0000	30.0000	0.0679	750.0000	42.8571
0.0571	550.0000	34.2857	0.0679	750.0000	47.1429
0.0571	550.0000	38.5714	0.0679	750.0000	51.4286
0.0571	550.0000	42.8571	0.0679	750.0000	55.7143
0.0571	564.2857	30.0000	0.0679	750.0000	60.0000
0.0571	564.2857	34.2857	0.0679	750.0000	64.2857
0.0571	564.2857	38.5714	0.0714	550.0000	30.0000
0.0571	578.5714	30.0000	0.0714	550.0000	34.2857
0.0571	578.5714	34.2857	0.0714	564.2857	30.0000
0.0571	735.7143	55.7143	0.0714	564.2857	34.2857
0.0571	735.7143	60.0000	0.0714	721.4286	38.5714
0.0571	750.0000	51.4286	0.0714	721.4286	42.8571
0.0571	750.0000	55.7143	0.0714	721.4286	47.1429
0.0571	750.0000	60.0000	0.0714	721.4286	51.4286
0.0571	750.0000	64.2857	0.0714	735.7143	38.5714
0.0571	750.0000	68.5714	0.0714	735.7143	42.8571
0.0607	550.0000	30.0000	0.0714	735.7143	47.1429
0.0607	550.0000	34.2857	0.0714	735.7143	51.4286
0.0607	550.0000	38.5714	0.0714	735.7143	55.7143
0.0607	550.0000	42.8571	0.0714	735.7143	60.0000
0.0607	564.2857	30.0000	0.0714	750.0000	34.2857
0.0607	564.2857	34.2857	0.0714	750.0000	38.5714
0.0607	564.2857	38.5714	0.0714	750.0000	42.8571
0.0607	578.5714	30.0000	0.0714	750.0000	47.1429

Table 4. Cont.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_2$ (Microwave Power)	$x_3$ (Time)
0.0607	578.5714	34.2857	0.0714	750.0000	51.4286
0.0607	578.5714	38.5714	0.0714	750.0000	55.7143
0.0607	735.7143	47.1429	0.0714	750.0000	60.0000
0.0607	735.7143	51.4286	0.0714	750.0000	64.2857
0.0607	735.7143	55.7143	0.0750	735.7143	38.5714
0.0607	735.7143	60.0000	0.0750	735.7143	42.8571
0.0607	750.0000	42.8571	0.0750	735.7143	47.1429
0.0607	750.0000	47.1429	0.0750	735.7143	51.4286
0.0607	750.0000	51.4286	0.0750	750.0000	34.2857
0.0607	750.0000	55.7143	0.0750	750.0000	38.5714
0.0607	750.0000	60.0000	0.0750	750.0000	42.8571
0.0607	750.0000	64.2857	0.0750	750.0000	47.1429
0.0607	750.0000	68.5714	0.0750	750.0000	51.4286
0.0643	550.0000	30.0000	0.0750	750.0000	55.7143
0.0643	550.0000	34.2857	0.0750	750.0000	60.0000
0.0643	550.0000	38.5714			

To obtain extracts of satisfactory composition, a scenario in which a reduced biomass/water ratio (from 0.0357 to 0.0464 g/mL) can be used, but the highest microwave power must be employed. Increasing the biomass/water ratio to 0.0571 g/mL, on the other hand, allows the microwave power to be lowered significantly, while reducing the time of the process itself.

To evaluate the two procedures, Figure 14 compares the preferred solutions from the Pareto front against the compromise solutions. It should be emphasized that at this stage, it is up to the decision maker to decide which analysis is of greater practical relevance for the design and control of the microwave-assisted extraction process.



**Figure 14.** Visualization of smart Pareto solutions against the trade-offs. Red color—smart Pareto solution; green color—compromise solutions; blue color—dominated solutions.

Theoretically, the compromise solutions, determined using an acceptable distance from the Utopia point, form concrete sets in which the decision maker can move. In the 3D visualization in the space of all decision variables, the elements of this set are equal compromise solutions. However, this can sometimes lead to a problem in decision making during the actual process. Often, there is a need to select and identify one specific and preferred solution from the set of compromise solutions. Thus, out of the set of compromise solutions, one was identified whose distance from the Utopia point was the smallest among all the solutions analyzed. Such an optimal compromise solution was identified as the point in the space of decision variables with coordinates  $x_1 = 0.0643$  g/mL,  $x_2 = 550$  W, and  $x_3 = 30$  s (thus, a so-called “super” compromise solution was identified).

#### 4. Discussion

Microwave-assisted extraction (MAE) is a process that is currently receiving considerable attention in the literature. This is due to the fact that this method allows for a significant reduction in processing time and extractant agent consumption with respect to conventional extraction [12]. In addition, it allows the principles and objectives of green chemistry to be realized, due to the possibility of using water as an eco-friendly solvent. The interest in microwave-assisted extraction is largely due to the possibility of improving the efficiency of the extraction of bioactive compounds from plant biomass, including compounds with antioxidant activity. Therefore, the design and optimization of extraction processes is becoming increasingly important. This is because it is of particular importance not only in preventing the loss of bioactive compounds, which are sensitive to process parameters, but also in minimizing the cost intensity of the extraction procedure itself [37]. In our research, the process variables that determined the efficiency of bioactive compound extraction were extraction time, microwave power, and the ratio of plant biomass to the solvent. It was shown that for increased yields of phenolic compounds and reducing sugars, an increased biomass ratio of *Levisticum officianle* roots to water was more beneficial.

On the other hand, the ratio had a different effect on the flavonoid levels and antioxidant potential of the extracts. It was shown that there was a decrease in the content of these compounds in the extracts when the central analyzed value of this ratio was exceeded. Kim and Lim [38] also studied the effect of the ratio of *Citrus unshiu* pomace to solvent on the extraction efficiency of flavonoids. The amount of these bioactive compounds increased with an increase in this extraction parameter. However, the researchers did not observe statistically significant differences. Admittedly, according to Iglesias-Carres et al. [39], a high biomass/solvent ratio leads to the improved extraction efficiency of bioactive compounds, which the researchers explain by an increased concentration difference at the sample/extractant interface. However, as Assefa et al. [40] pointed out, conducting extraction with an increased biomass ratio is economically unjustifiable, as it involves, firstly, obtaining negligible differences in the levels of bioactive compounds and secondly, increased energy consumption in the subsequent concentration steps of the extracts produced [40]. A study by Hayat et al. [41] showed that the performance of an extraction process using banana peels was drastically reduced when the procedure was conducted at increased biomass/solvent ratios. According to the authors, an excessive increase in the sample/solvent ratio leads to a decrease in the concentration of phenolic compounds and antioxidant potential in DPPH and FRAP assays. Hayat et al. [41] hypothesized that the observed trends may be due to the swelling process of the plant material, which in turn leads to an increase in the contact zone between the biological matrix and the extractant agent [42]. Dahmoune et al. [17] emphasized that for the design of industrial-scale extraction, preliminary experimental studies are needed, conducted with a view to maximizing the extraction efficiency of bioactive compounds in terms of minimizing the solvents and plant matrices used [17]. Taking this into account, Kim and Lim [38] put forward the proposal that the procedure for optimizing microwave-assisted extraction should include the selection of an appropriate range of the sample to solvent ratio.

The research on the extraction of active compounds from the roots of *Levisticum officinale* also showed the effect of process time on the levels of phenolic compounds, flavonoids, sugars, and antioxidant potential. It was found that increasing the time resulted in an increase in the pool of these compounds, although increasing the time no longer resulted in such large increases. However, in the case of the antioxidant potential, assessed by the DPPH test, there was a decrease in this parameter when a certain time limit was exceeded. This is confirmed by the results obtained by Kim and Lim [38], who found that the extraction efficiency of flavonoids from *Citrus unshiu* pomace reached a maximum level at a certain time, after which there was no longer a significant change in this parameter. Similar observations were also reached by Mokrani and Madani [43], who evaluated the effect of time on the extraction efficiency of phenolic compounds and the antioxidant capacity of peach fruit. According to the researchers, the observed phenomenon is a direct result of

Fick's second law of diffusion, according to which, after a certain amount of time, there will be a final equilibrium between the plant biomass and the solvent of the concentrations in the reaction system, [43]. Vu et al. [42] emphasized that time is the extraction parameter of key importance, and in the case of microwave extraction, this impact is even greater. Therefore, an important optimization task is pointed out to determine the appropriate time range for conducting the extraction. Dahmoune et al. [17] indicate that extending the extraction time beyond the optimal range may lead to a decrease in the efficiency of extracting bioactive components from the plant matrix due to the fact that an uncontrolled increase in temperature and thermal degradation of antioxidant compounds may occur.

The last parameter of the microwave-assisted extraction process optimized in this research was the power of the magnetron. Increasing microwave power led to increased levels of bioactive compounds. However, for the content of phenolic compounds and flavonoids, increasing the microwave power from 650 to 750 W no longer resulted in significant differences. Research by Kheyar et al. [44], which focused on optimizing microwave-assisted extraction for maximizing the total pool of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves, confirmed that microwave power determined the efficiency of the process. However, for the optimal power of 626.53 W, the extraction time was prolonged compared to that noted in studies on *Levisticum officinale*.

In contrast, a study by Sai-Ut et al. [45] found that the optimal microwave power for the extraction of polyphenols from *Careya sphaerica* Roxb. was 1000 W. On the other hand, this required an increased ratio of plant biomass to solvent. The positive effect of using microwaves in the extraction process is pointed out by Kheyar et al. [44] who stated that the content of polyphenols increased with increasing microwave power, reaching a maximum at 500 W. Increasing the microwave power to 1000 W resulted in a decrease in the polyphenol content of the extract. The reason for this situation may be that microwaves affect the plant material too intensively, causing structural changes that negatively affect the availability of polyphenols or the loss of their stability. High microwave power can also stimulate reactions that reduce the availability of bioactive compounds. Moreover, Mandal et al. [46] confirmed that microwave energy is a determinant of the extraction efficiency of phenolic compounds. However, the researchers emphasized that increasing the microwave power may lead to disruption of the dynamic structure of the sample and degradation of the bioactive compounds [46]. In addition, unjustified increases in microwave energy no longer lead to a significant increase in the extraction efficiency of active compounds and are associated with higher economic expenses [42].

Thus, as many researchers point out, there is a need not only to design the extraction process, but also to optimize its efficiency. This is particularly relevant for microwave-assisted extraction, as it can ultimately reduce the energy intensity of the process. Therefore, optimization problems in real processes are characterized by multiple, sometimes conflicting objectives. It should be emphasized that the multi-objective optimization procedures for microwave-assisted extraction proposed in this paper are not only a search for a set of solutions (process parameters), but also a decision-making process based on the knowledge, experience, and preferences of the decision maker. Only by integrating computer methods with the decision maker's position will it be possible to identify a set or region of optimal solutions to control the extraction process. The results of the optimization procedures presented in this work will allow the decision maker to make a posteriori decisions. In such a case, sets of Pareto optimal, preferred, and compromise solutions generated without the decision maker's preferences can be provided to him to make a decision based on the most preferred options among the alternatives [47]. Therefore, the method developed in this work allows for the creation of a sequential process in which the decision maker reaches decisions about the parameters of the extraction procedure, knowing that he is choosing from non-dominated solutions, and the optimization of each analyzed criterion corresponds to the maximum value of this criterion. However, if in the decision-making process there is a need to give greater importance to individual criteria, the proposed procedure also makes this possible by indicating preferred solutions [47,48].

## 5. Conclusions

The root biomass of *Levisticum officinale* is rich in bioactive compounds with high antioxidant potential. It has also been shown that microwave-assisted water extraction is a suitable method for ecologically obtaining phytochemicals from lovage biomass. For industrial applications and the improvement of such an extraction procedure, mathematical models with the correct predictive ability were created and used in optimization procedures and in the forecasting of process parameters. Sets of Pareto optimal, compromise, and preferred solutions were indicated, which will allow for maximizing the efficiency of the extraction of bioactive compounds from plant biomass. Optimized processing conditions will not only improve the extraction process, but are also necessary to increase the scale of ecological production of compounds with antioxidant potential intended for various industries, including applications in the fields of pharmacy, foods, and agronomy. The multi-objective optimization procedures proposed in this work will not only enable the search for a set of optimal solutions (process parameters), but will also facilitate the decision-making process, based on the knowledge, experience, and preferences of the decision maker. In the optimal subsets, it was shown that for a satisfactory level of bioactive compounds, extraction should be carried out at a maximum microwave power of 750 W. The preferred solutions were obtained for the ratio of *Levisticum officinale* root biomass to water in the range of 0.0536 g/mL to 0.0679 g/mL. The preferred optimal time for microwave-assisted water extraction ranged from 64.2857 to 85.7143 s. The conducted research and multi-criteria optimization methods indicate the need for further research in this area to identify a greater role for the decision maker and to increase the scale of microwave-assisted extraction for industrial applications.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.P. and S.K.; methodology, M.P.; software, M.P.; validation, M.P., S.K. and A.B.; formal analysis, M.P.; investigation, M.P.; resources, M.P.; data curation, M.P.; writing—original draft preparation, M.P.; writing—review and editing, M.P., S.K. and A.B.; visualization, M.P. and S.K.; supervision, S.K.; project administration, S.K. and A.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This article was supported by the Polish National Agency for Academic Exchange under the Strategic Partnership project BPI/PST/2021/1/00034/U/00001, “Crucial, Long-Term Collaborations for the Development of an Innovative, Ecological Approach in Biostimulants Production”.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Conflicts of Interest:** Author Michał Plawgo was employed by the Future Production AS. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## References

1. Lin, G.; Chan, S.S.K.; Chung, H.S.; Li, S.L. Chemistry and biological activities of naturally occurring phthalides. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2005**, *32*, 611–669. [\[CrossRef\]](#)
2. Beck, J.J.; Chou, S.C. The structural diversity of phthalides from the *Apiaceae*. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 891–900. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Yang, Y.C.; Li, J.; Zu, Y.G.; Fu, Y.J.; Luo, M.; Wu, N.; Liu, X.L. Optimisation of microwave-assisted enzymatic extraction of corilagin and geraniin from *Geranium sibiricum* Linne and evaluation of antioxidant activity. *Food Chem.* **2010**, *122*, 373–380. [\[CrossRef\]](#)
4. Pannek, J.; Gach, J.; Boratyński, F.; Olejniczak, T. Antimicrobial activity of extracts and phthalides occurring in *Apiaceae* plants. *Phytother. Res.* **2018**, *32*, 1459–1487. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Nalini, P.; Poonam, Y. Synthesis and Biological activities of some new Phthalides. *Orient. J. Chem.* **2012**, *2*, 57–61.
6. Song, J.; Li, D.; Liu, C.; Zhang, Y. Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* **2011**, *12*, 282–287. [\[CrossRef\]](#)
7. Szparaga, A.; Kocira, S.; Kapusta, I.; Zagula, G. Exploring the agro-potential of extract from *Levisticum officinale* WDJ Koch in soybean cultivation. *Ind. Crop. Prod.* **2023**, *203*, 117235. [\[CrossRef\]](#)
8. Szparaga, A.; Kocira, S.; Kapusta, I.; Zagula, G. Solid–liquid extraction of bioactive compounds as a green alternative for developing novel biostimulant from *Linum usitatissimum* L. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2023**, *10*, 108. [\[CrossRef\]](#)
9. Szparaga, A. Biostimulating Extracts from *Arctium lappa* L. As Ecological Additives in Soybean Seed Coating Applications. *Agric. Eng.* **2023**, *27*, 1–10. [\[CrossRef\]](#)

10. Luthria, D.L. Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food Chem.* **2008**, *107*, 745–752. [CrossRef]
11. Spigno, G.; De Faveri, D.M. Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. *J. Food Eng.* **2009**, *93*, 210–217. [CrossRef]
12. Jerman, T.; Trebse, P.; Mozetic Vodopivec, B. Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chem.* **2010**, *123*, 175–182. [CrossRef]
13. Camel, V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2000**, *19*, 229–248. [CrossRef]
14. Pérez-Serradilla, J.A.; De Castro, M.L. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chem.* **2011**, *124*, 1652–1659. [CrossRef]
15. Milutinović, M.; Miladinović, M.; Gašić, U.; Dimitrijević-Branković, S.; Rajilić-Stojanović, M. Recovery of bioactive molecules from *Hypericum perforatum* L. dust using microwave-assisted extraction. *Biomass Conv. Bioref.* **2024**, *14*, 7111–7123. [CrossRef]
16. Gallo, M.; Ferracane, R.; Graziani, G.; Ritieni, A.; Fogliano, V. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices. *Molecules* **2010**, *15*, 6365–6374. [CrossRef] [PubMed]
17. Dahmoune, F.; Nayak, B.; Moussi, K.; Remini, H.; Madani, K. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem.* **2015**, *166*, 585–595. [CrossRef]
18. Vinatoru, M.; Mason, T.J.; Calinescu, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2017**, *97*, 159–178. [CrossRef]
19. Šeremet, D.; Jokić, S.; Aladić, K.; Cebin, A.V.; Božac, N.; Mandura, A.; Komes, D. Optimization of heat-, microwave-assisted and subcritical water extraction of phenolic compounds from ground ivy (*Glechoma hederacea* L.) using response surface methodology. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* **2021**, *25*, 100346. [CrossRef]
20. Shahidi, F.; Ambigaipalan, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *J. Funct. Foods* **2015**, *18*, 820–897. [CrossRef]
21. Popa, V.I.; Belega, C. On the role played by some natural products, with aromatic structure, in processes of plant growing. *Cell. Chem. Technol.* **1994**, *28*, 613–620.
22. Balas, A.; Popa, V. Bioactive compounds extracted from *Picea abies* bark. In Proceedings of the 10th European workshop on Lignocellulosics and Pulp, Stockholm, Sweden, 25–28 August 2008; pp. 345–356.
23. Tanase, C.; Bujor, O.C.; Popa, V.I. Phenolic natural compounds and their influence on physiological processes in plants. In *Polyphenols in Plants*, 2nd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2019; pp. 45–58. [CrossRef]
24. González-Vallinas, M.; González-Castejón, M.; Rodríguez-Casado, A.; Ramírez de Molina, A. Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy: A complementary approach with promising perspectives. *Nutr. Rev.* **2013**, *71*, 585–599. [CrossRef] [PubMed]
25. Zhang, Z.; Liao, L.; Moore, J.; Wu, T.; Wang, Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chem.* **2009**, *113*, 160–165. [CrossRef]
26. Sharma, H.S.S.; Fleming, C.; Selby, C.; Rao, J.R.; Martin, T. Plant biostimulants: A review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *J. Appl. Phycol.* **2014**, *26*, 465–490. [CrossRef]
27. Craigie, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* **2011**, *23*, 371–393. [CrossRef]
28. Ribeiro, S.M.R.; Barbosa, L.C.A.; Queiroz, J.H.; Knödler, M.; Schieber, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chem.* **2008**, *110*, 620–626. [CrossRef]
29. Iqbal, S.; Younas, U.; Sirajuddi; Chan, K.W.; Sarfraz, R.A.; Uddin, K. Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): A comparative study. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 6651–6664. [CrossRef]
30. Lee, L.S.; Lee, N.; Kim, Y.H.; Lee, C.H.; Hong, S.P.; Jeon, Y.W.; Kim, Y.E. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules* **2013**, *18*, 13530–13545. [CrossRef] [PubMed]
31. Krivorotova, T.; Sereikaite, J. Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants. *Electron. J. Biotechnol.* **2014**, *17*, 329–333. [CrossRef]
32. *Curve Fitting Toolbox for Use with Matlab*; The MathWorks Inc.: Natick, MA, USA. Available online: [http://cda.psych.uiuc.edu/matlab\\_pdf/curvefit.pdf](http://cda.psych.uiuc.edu/matlab_pdf/curvefit.pdf) (accessed on 10 April 2024).
33. Gómez-Salazar, J.A.; Patlán-González, J.; Sosa-Morales, M.E.; Segovia-Hernandez, J.G.; Sánchez-Ramírez, E.; Ramírez-Márquez, C. Multi-objective optimization of sustainable red prickly pear (*Opuntia streptacantha*) peel drying and biocompounds extraction using a hybrid stochastic algorithm. *Food Bioprod. Process.* **2022**, *132*, 155–166. [CrossRef]
34. Chen, Y.; Zhou, S.; Li, Q. Multiobjective topology optimization for finite periodic structures. *Comput. Struct.* **2010**, *88*, 806–811. [CrossRef]
35. Marler, R.T.; Arora, J.S. The weighted sum method for multiobjective optimization: New insights. *Struct. Multidiscip. Optim.* **2010**, *41*, 853–862. [CrossRef]
36. Das, I. A preference ordering among various Pareto optimal alternatives. *Struct. Multidiscip. Optim.* **1999**, *18*, 30–35. [CrossRef]
37. Azzouzi, H.; Elhajji, L.; Achchoub, M.; Benbati, M.; Salmaoui, S. Assessment of total phenolic content and antioxidant activity potential of clementine extract obtained by microwave assisted extraction method. *Biosci. Biotech. Res. Asia* **2021**, *18*, 779–785. [CrossRef]
38. Kim, D.S.; Lim, S.B. Extraction of flavanones from immature *Citrus unshiu* pomace: Process optimization and antioxidant evaluation. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 19950. [CrossRef] [PubMed]

39. Iglesias-Carres, L.; Mas-Capdevila, A.; Bravo, F.I.; Aragonès, G.; Muguerza, B.; Arola-Arnal, A. Optimization of a polyphenol extraction method for sweet orange pulp (*Citrus sinensis* L.) to identify phenolic compounds consumed from sweet oranges. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0211267. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Assefa, A.D.; Saini, R.K.; Keum, Y.S. Extraction of antioxidants and flavonoids from yuzu (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peels: A response surface methodology study. *J. Food Meas. Charact.* **2017**, *11*, 364–379. [[CrossRef](#)]
41. Hayat, K.; Hussain, S.; Abbas, S.; Farooq, U.; Ding, B.; Xia, S.; Xia, W. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Sep. Purif. Technol.* **2009**, *70*, 63–70. [[CrossRef](#)]
42. Vu, H.T.; Scarlett, C.J.; Vuong, Q.V. Maximising recovery of phenolic compounds and antioxidant properties from banana peel using microwave assisted extraction and water. *J. Food Sci. Technol.* **2019**, *56*, 1360–1370. [[CrossRef](#)]
43. Mokrani, A.; Madani, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Sep. Purif. Technol.* **2016**, *162*, 68–76. [[CrossRef](#)]
44. Kheyar, F.; Kheyar, N.; Amiali, M.; Boulekbache-Makhlouf, L.; Kadi, A.; Benchabane, A.; Bitam, A. Impacts of microwave-assisted extraction parameters on total phenolic compounds yield from Algerian *Moringa oleifera* leaves, using response surface methodology. *Nat. Prod. Res.* **2024**, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Sai-Ut, S.; Kingwascharapong, P.; Mazumder, M.A.R.; Rawdkuen, S. Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from *Careya sphaerica* Roxb. flowers using response surface methodology. *Appl. Food Res.* **2024**, *4*, 100379. [[CrossRef](#)]
46. Mandal, C.; Jaiswal, M.; Bosco, S.J.D. Process optimization for ultrasound and microwave-assisted phytonutrients extractions from *Averrhoa carambola* fruit. *Biomass Conv. Bioref.* **2023**, 1–17. [[CrossRef](#)]
47. Ferreira, J.C.; Fonseca, C.M.; Gaspar-Cunha, A. Methodology to select solutions from the pareto-optimal set: A comparative study. In Proceedings of the 9th Annual Conference on Genetic and Evolutionary Computation, London, UK, 7–11 July 2007. [[CrossRef](#)]
48. Zio, E.; Bazzo, R. A clustering procedure for reducing the number of representative solutions in the Pareto Front of multiobjective optimization problems. *Eur. J. Oper. Res.* **2011**, *210*, 624–634. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

**P3. Plawgo, M., Kocira, S., & Bohata, A. (2024). Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. *Processes*, 12(2), 275. DOI: 10.3390/pr12020275 (70 pkt. MNiSW, Impact Factor 3,5).**

## Article

# Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction

Michał Plawgo <sup>1</sup>, Sławomir Kocira <sup>2,3,\*</sup>  and Andrea Bohata <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Future Production AS, Svanedamsveien 10, 4621 Kristiansand, Norway

<sup>2</sup> Department of Machinery Exploitation and Management of Production Processes, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland

<sup>3</sup> Department of Landscape Management, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

<sup>4</sup> Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

\* Correspondence: slawomir.kocira@up.lublin.pl or skocira@fzt.jcu.cz

**Abstract:** Given that ultrasound-assisted aqueous extraction is gaining importance within “green technology” and to increase the efficiency of extracting bioactive compounds from *Levisticum officinale* root waste, optimization of its parameters was undertaken. Multi-objective (multi-criteria) optimization can be an extremely promising tool not only for designing and analyzing the extraction process, but also for making process-control decisions. Therefore, the main objective of this study was to develop and optimize an environmentally friendly ultrasound-assisted extraction methodology for the aqueous extraction of bioactive compounds from the roots of *Levisticum officinale*, which are considered a by-product. The focus was on determining the optimal extraction conditions of the independent variables, such as solid–liquid ratio, extraction time and ultrasound power, so that the optimized extracts present the highest bioactive potential expressed in terms of levels of phenolic compounds, flavonoids, sugars and antioxidant potential. Based on the Pareto-optimal solution sets, it was found that to maximize the criteria, aqueous extraction should be carried out at a *Levisticum officinale* biomass/solvent ratio of 0.0643 g/mL for a time of 8.1429 to 9.0000 min, with ultrasound assistance of 162.8571 to 201.4286 W. Among the compromise solutions, the so-called “best efficient solution” was indicated as the solution for which the Euclidean distance from the ideal point of Utopia was the smallest (among all analyzed points of the collection), which had coordinates  $x_{1\text{comp}} = 0.0750$  g/mL,  $x_{2\text{comp}} = 9.0000$  min and  $x_{3\text{comp}} = 214.2857$  W. The results obtained will provide a valuable tool to assist in the decision-making process of controlling such an extraction process.

**Keywords:** antioxidant; extraction; flavonoids; lovage; multi-criteria design; optimization; Pareto; polyphenols



**Citation:** Plawgo, M.; Kocira, S.; Bohata, A. Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. *Processes* **2024**, *12*, 275. <https://doi.org/10.3390/pr12020275>

Academic Editors: Athanasia Varvaresou and Abraham Kabutey

Received: 23 December 2023

Revised: 23 January 2024

Accepted: 25 January 2024

Published: 26 January 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Extraction is the process of deriving the biologically active compounds from a variety of materials, including plant matrices. A number of different methods in line with the principles of ‘Green chemistry’ are used for extraction, including maceration, infusion, microwave-assisted extraction (MAE) [1], ultrasound-assisted extraction (UAE) [2], supercritical carbon dioxide [3], Soxhlet extraction, ultrahigh pressure extraction [4], enzyme-assisted extraction (EAE) and infrared radiation (IR) [5]. The process parameters, including solvent type, temperature, time and material/solvent ratio determine the efficiency of the extraction procedure. Nowadays, the observed development of extraction techniques is mainly related to minimizing the cost of the process while maximizing the efficiency of the extraction of biologically active compounds (e.g., maximum antioxidant potential or

antimicrobial or biostimulatory potential) [6]. However, in terms of increasing environmental concerns, water is indicated as a safe solvent that is widely used to produce plant extracts [7].

Among the extraction methods, ultrasound-assisted technology (UAE) is currently used for the extraction of bioactive phytochemicals from various plant materials and by-products [8]. UAE additionally allows an efficient and uncomplicated transfer of the designed method from the laboratory to the industrial scale [9]. However, the efficiency of many compound's extraction in this method is determined by a number of process parameters including, but not limited to, the temperature, time, power and frequency of the ultrasound [9–12]. Studies by He et al. [13] and Rocha et al. [8] even indicate that, compared to conventional extraction, the use of ultrasound leads to improved extraction efficiency of bioactive compounds, including phenolic compounds and anthocyanins [14]. Considering that phenolic compounds have a wide range of biological activities and applications (including agrochemicals), the development and prototyping of efficient methods for their extraction from natural sources is currently of invaluable importance. However, depending on the potential applications of the extracts, it is still challenging to design the process appropriately, despite the efforts made in this direction by many researchers [12,15,16]. According to Batinić et al. [17], it is extremely challenging to develop a single, general and efficient protocol for the extraction of active compounds, including phenolic compounds, from different plant materials. Therefore, the extraction process should be optimized for each plant matrix [17]. Mathematical and statistical tools are, therefore, used to analyze not only the influence of process variables, but also to optimize the experimental conditions of the process [14,18]. Extraction optimization is carried out using a number of methods, including empirical, statistical and combined methods. It should be emphasized that an appropriate optimization procedure and its results are essential for the future industrial application of the process and the commercialization of the manufactured product [19].

Among the aromatic plants used by the food, cosmetic and pharmaceutical industries is *Levisticum officinale* WDJ Koch, commonly known as lovage [20]. Many studies indicate the medicinal potential of this plant [21]. Recent studies also indicate the agropotential of this plant [22–24]. Currently, the leaves of *Levisticum officinale* are used primarily as a spice, and as a result, the roots of this plant seem to go unnoticed, which means that they are often treated as a by-product [25]. The results of several research endeavors indicate that water extract from lovage roots contains a broad and diverse range of bioactive compounds and secondary metabolites (saponins, flavonoids, phenolic acids, steroids, carbohydrates, organic acids) [22,25–28]. However, the active phytochemicals of plants are mainly located inside the cells, and an efficient extraction method is required to isolate them. Ultrasound-assisted extraction appears to be an excellent tool for this objective [29]. Additionally, there is interest in the possibility of using organic aqueous extraction to increase the efficiency of extracting bioactive compounds from lovage roots, which can be transformed from an agri-food by-product into valuable intermediates or products in various industries [25]. As many plant extracts have therapeutic or antimicrobial effects, it seems forward thinking to approach their unconventional use in, among other industries, agriculture. The reason is the fact that their action may have biostimulating potential for crop plants. This is particularly relevant in the current agricultural situation, where excessive use of fertilizers is associated with a range of environmental problems in different ecosystems [30]. Thus, improving crop production, which is a major agronomic challenge, while reducing the use of chemicals, will be possible if new agronomic methods are incorporated, including the use of natural biostimulants, which are currently considered among the best products, targeting action to increase plant protection and growth, while improving yield quantity and quality [31,32].

Given that UAE aqueous extraction is gaining importance within 'green technology' and to increase the efficiency of extracting bioactive compounds from *Levisticum officinale* root waste, optimization of its parameters was undertaken. Multi-objective (multi-criteria) optimization can be an extremely promising tool not only for designing and analyzing

the extraction process, but also for making process-control decisions. Therefore, the main objective of this study was to develop and optimize an environmentally friendly UAE-based methodology for the aqueous extraction of bioactive compounds from the roots of *Levisticum officinale*, which are considered a by-product. The focus was on determining the optimal extraction conditions of the independent variables, such as the solid–liquid ratio, extraction time and ultrasound power, so that the optimized extracts present the highest bioactive potential expressed in terms of levels of phenolic compounds, flavonoids, sugars and antioxidant potential.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant Material—*Levisticum Officinale*

The dried roots of the *Levisticum officinale* (sourced from Runo Polska, PL-EKO 07 EU Organic Farming) were ground to a powder (fraction size of 500  $\mu\text{m}$ ). The ground powder was stored at 4 °C in airtight bags until further use.

### 2.2. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) Procedure

The extraction was performed using an Ultron U-509 ultrasonic system with an operating frequency set at the 20 kHz. The lovage-root biomass was mixed with ultrapure deionized water (extraction solvent) in a 150 mL flat-bottomed amber glass bottle with the appropriate extractant:solid ratio. The glass bottle was immersed in an ultrasonic bath in a fixed position to ensure that the acoustic field in the bottle was as regular as possible. During extraction, the temperature was controlled at a constant 60 °C by circulating water from a thermostated water bath. UAE extraction parameters were extraction time (3, 6 and 9 min), sample/solvent ratio ( $w/v$ ) (2.5 g/100 mL (0.025 g/mL), 5 g/100 mL (0.050 g/mL), 7.5 g/100 mL (0.075 g/mL) and ultrasound power (60, 120 and 240 W).

All extractions were carried out in triplicate. Extractions were followed by centrifugation (9500 rpm, 20 min) and filtration (Whatman<sup>®</sup> No. 1 filter paper). The supernatant was collected and stored at 4 °C in sealed dark glass bottles until further use and analysis.

### 2.3. Quantification of Bioactive Compounds in the Produced Extracts

The total phenolic content (TPC) was determined in the samples obtained using ultrasound-assisted extraction. The quantification of the pool of phenolic compounds was performed using a modified spectrophotometric method proposed by Mugwagwa and Chimphango [33] with anhydrous sodium carbonate and Follin-Ciocalteu reagents. A standard curve was prepared and used (gallic acid as a standard). TPC was expressed as mg gallic acid equivalent/g extract.

The total flavonoid content (TFC) in the extracts was evaluated using the spectrophotometric method (with the  $\text{AlCl}_3$  reagent) presented by Iqbal et al. [34]. The concentration of TFC in the samples was determined as catechin equivalent ( $\mu\text{mol/L}$ ) from a standard curve for this compound.

The total antioxidant activity (TAA) was also analyzed in water extracts from *Levisticum officinale* using the spectrophotometric method. The antioxidant activity of DPPH was assessed based on the method of Lee et al. [2]. A methanol solution of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was used. The scavenging activity was calculated according to  $[(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100$ .

The total reducing sugar content (RSC) was determined using a spectrophotometric method using 3,5-dinitrosalicylic acid (DNSA). The measurement was carried out based on the method of Krivorotov and Sereikaite [35]. The level of reducing sugars in the extracts was determined using a standard curve for D-glucose, and the results were expressed as g of D-glucose equivalent (GE) per L of extract.

### 2.4. Mathematical Model

For the majority of engineering processes, the relationships between the system's responses and the independent variables are unknown. Therefore, it is necessary to identify

the correct approximation to represent these responses as functions of these variables. For this purpose, polynomial functions are used [36]. Multivariate regression models (generated in Matlab R2021a) were used to perform ultrasound-assisted extraction optimization. The models were created, based on experimental data (content of bioactive compounds in extracts from *Levisticum officinale*—decision criteria). The sample/solvent ratio (g/mL) ( $x_1$ ), time of extraction (s) ( $x_2$ ) and ultrasound power (W) ( $x_3$ ) were selected as process parameters (in the optimization procedure—decision variables).

The multivariable polynomial, describing the analyzed decision criteria as a function of the decision variables, was defined as (1):

$$y_{reg}(x_1, x_2, x_3) = a_0 + a_1 * x_1 + a_2 * x_2 + a_3 * x_3 + a_4 * x_1 * x_2 + a_5 * x_1 * x_3 + a_6 * x_2 * x_3 + a_7 * x_1^2 + a_8 * x_2^2 + a_9 * x_3^2 \quad (1)$$

The Fisher test value (F-value),  $p$ -value, the coefficient of determination ( $R^2$ ), the adjusted determination coefficient (Adj  $R^2$ ), and the mean squared prediction error (MSE) were used to evaluate the model accuracy [37].

$R^2$  (2) and Adj  $R^2$  (3) were expressed as follows:

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n w_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2} \quad (2)$$

$$Adj R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2 (n - 1)}{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \bar{y})^2 (v)} \quad (3)$$

The mean squared prediction error (MSE) is the index of the mean square deviation between the experimental data and the values, resulting from the adopted model (4):

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^n w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{v} \quad (4)$$

## 2.5. Multi-Criteria Optimization

The defined optimization task was considered in a four-dimensional criteria space (5):

$$K = [K_1, K_2, K_3, K_4] \in R^4 \quad (5)$$

In this space, solutions were sought for which all four analyzed criteria would have extreme values. The decision criteria were defined as  $K_1$ —TPC total phenolic content (mg GAE/g);  $K_2$ —TFC total flavonoids content ( $\mu\text{mol CAT/L}$ );  $K_3$ —TAA total antioxidant activity (DPPH- %inh);  $K_4$ —RSC reducing sugar content (g GE/L). The aforementioned criteria were determined for a specific set of decision variables for the extraction process, assisted with ultrasound:  $x_1$ —sample/solvent ratio (g/mL);  $x_2$ —time (min);  $x_3$ —ultrasound power (W). The objective of the optimization procedure was to identify the parameters for the production of aqueous extracts from *Levisticum officinale*, for which criteria  $K_1$ – $K_4$  will have the maximum value. The domain (D) of the set of decision variables was defined as the Cartesian product (6):

$$D = x_1 \times x_2 \times x_3 \quad (6)$$

The restrictions/limitations on the decision variables were as follows (7)–(9):

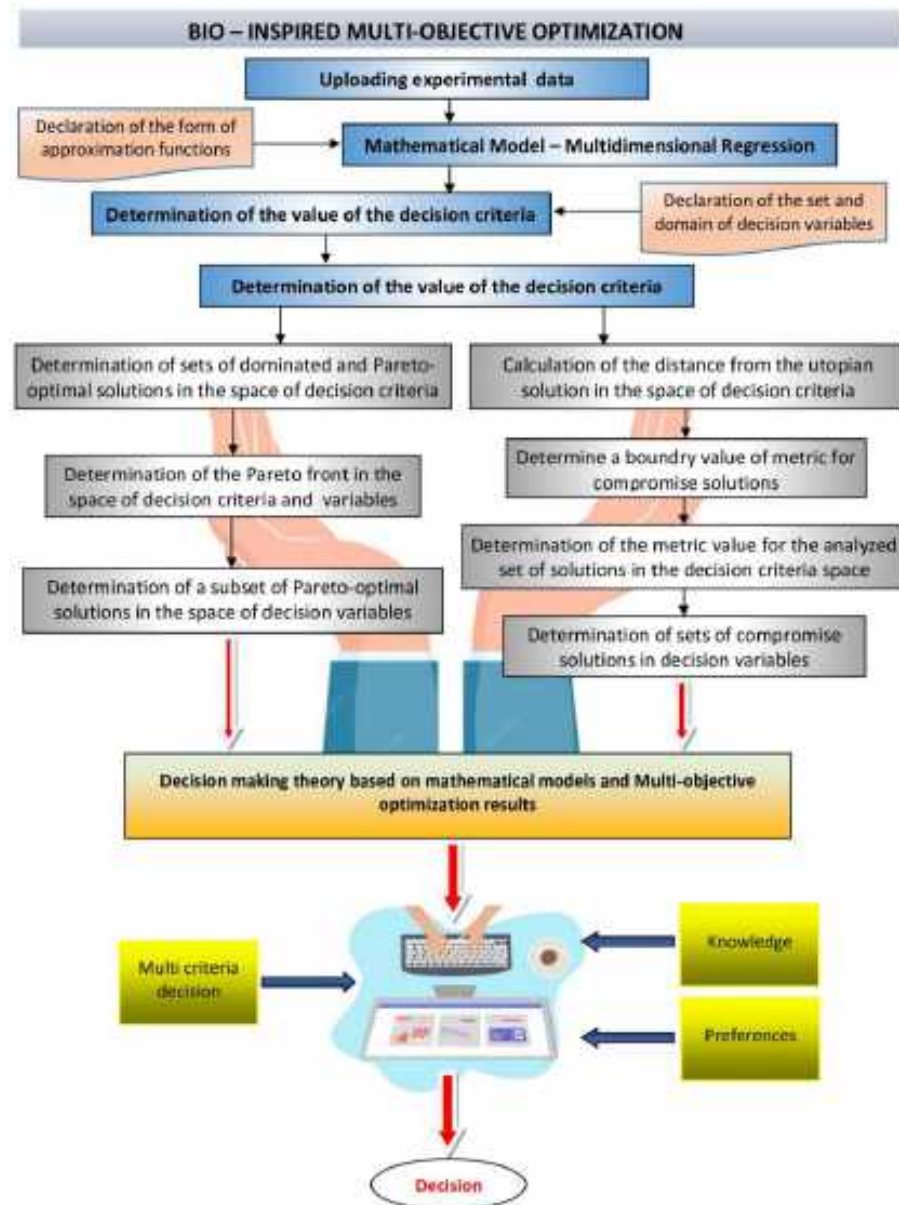
$$x_1 \in \langle 0.025 ; 0.075 \rangle [\text{g/mL}] \quad (7)$$

$$x_2 \in \langle 60 ; 240 \rangle [\text{W}] \quad (8)$$

$$x_3 \in \langle 3 ; 9 \rangle [\text{min}] \quad (9)$$

For the defined domain (D) of the set of decision variables ( $x_1$ – $x_3$ ), the values of  $K_1$ – $K_4$  were determined using multivariate approximation of the obtained experimental results.

A diagram of the optimization procedure is shown in Figure 1. The various stages of the procedures related to the determination of Pareto fronts (Pareto-optimal solutions) and compromise solutions are presented. Details related to the determination of compromise and preferred solutions are presented in Sections 2.6 and 2.7.



**Figure 1.** The schematic chart of multi-objective optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) process.

The multi-criteria optimization task was related to the determination of a set of solutions in the domain  $D$  for decision criteria that satisfied the following conditions (10):

$$K_1 \rightarrow \max, K_2 \rightarrow \max, K_3 \rightarrow \max, K_4 \rightarrow \max \quad (10)$$

In the subsequent step, all decision criteria were scaled to dimensionless variables and normalized, assuming that  $K_i^{\min}$  i  $K_i^{\max}$  are, respectively, the minimum and maximum values of the criteria for the analyzed set of decision variables (11), (12):

$$K_i^{(n)} = \frac{K_i^{\max} - K_i}{K_i^{\max} - K_i^{\min}} \quad (11)$$

$$i = 1, 2, 3, 4$$

$$K_i^{(n)} \in \langle 0; 1 \rangle \quad (12)$$

This approach provided an opportunity to compare the values of criteria that involved different characteristics and were initially expressed in different units. After this procedure, the highest value of the actual criterion corresponded to the value 0 (in the space of normalized criteria). Then, a dominance relation was introduced between two, arbitrary vectors of decision criteria  $K = [k_1, k_2, k_3, k_4]$  i  $K' = [k_1', k_2', k_3', k_4']$  belonging to D (13) [38]:

$$K \succ K' \Leftrightarrow K - K' \in C \quad C = \left\{ (a_1; a_2; a_3; a_4) \in R^4 \right\} \quad (13)$$

## 2.6. Quantification of Bioactive Compounds in the Produced Extracts

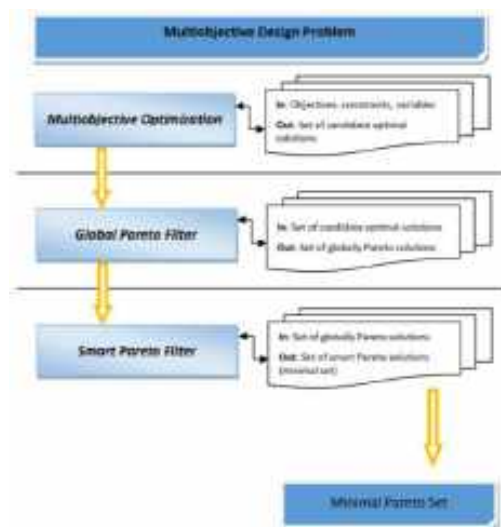
The method for obtaining a smart representation of solutions from Pareto fronts was used. In the proposed method, multi-objective Pareto front topology optimization is based on the weighted sum method for each criterion [39]. For the analyzed criteria, the relationship was assumed (14):

$$K = \sqrt{K_1^2 + K_2^2 + K_3^2 + K_4^2} \quad (14)$$

After assigning weights for each decision criteria, the relationship was of the form (15):

$$K = \sqrt{w_1 K_1^2 + w_2 K_2^2 + w_3 K_3^2 + w_4 K_4^2} \quad (15)$$

The criteria were assigned weights:  $w_1 + w_2 + w_3 + w_4 = 1$ . The scheme for reducing the set of Pareto-optimal solutions and determining preferred solutions is shown in Figure 2.



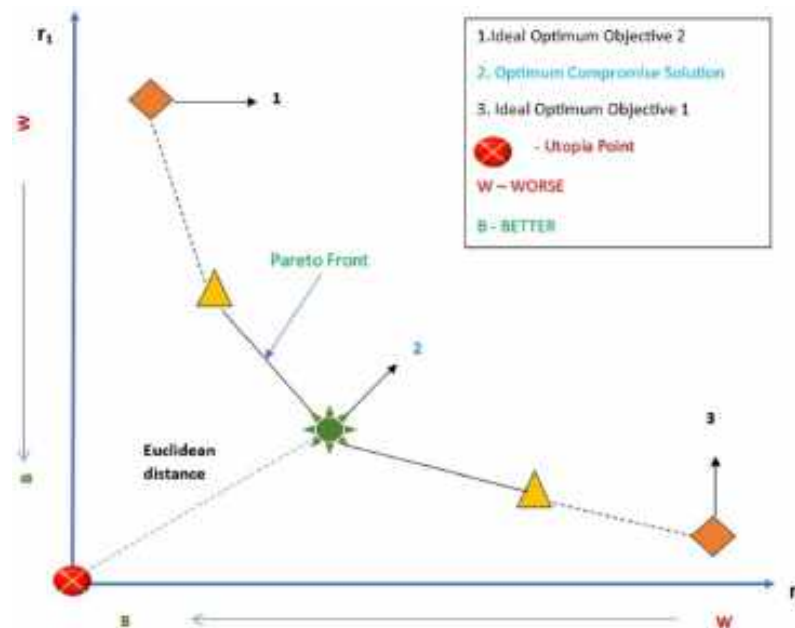
**Figure 2.** Methodology of smart Pareto.

For criteria  $K_1$ – $K_3$ , the values of weights  $w_1$ ,  $w_2$  and  $w_3$  were 0.3. And for criterion  $K_4$ , the value of weight  $w_4$  was 0.1.

## 2.7. Reducing the Set of Pareto Optimal Solutions—The Compromise Solutions

At this stage of the optimization procedure, the definition of the Utopia point, considered the optimal solution in all respects, was adopted [40]. The Utopia point is referred to as the “ideal point” that maximizes all goals simultaneously, but it is also the so-called “unattainable point”. Therefore, the concept of achievable compromise solutions on the Pareto front with a minimum Euclidean distance from the Utopia point ( $d_U$ ) was introduced. In the search for compromise solutions on the Pareto front, a normalization of the

objective function in the range [0,1] was introduced. A schematic of the procedure is shown in Figure 3.



**Figure 3.** Illustration of the Pareto front and the Utopia point.

In the subsequent step, the distance of all solutions on the Pareto front, measured from the Utopia point, was determined. The Pareto-optimal solution with the minimum distance from the Utopia point was selected as the best solution from the given set [41].

Thus, in order to analyze the set of all permissible solutions, a Euclidean metric of the form was introduced in the space of the normalized decision criteria (16):

$$d_U = d(K_0, K) = \sqrt{\sum_{i=1}^4 K_i^2} \quad (16)$$

where  $K_0 = (0, 0, 0, 0)$  is the beginning of the coordinate system, the so-called utopian solution ( $d_U$ ).

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Models Fitting

The experimental data were fitted using a multivariate polynomial model. The regression coefficients of the resulting equations describing the individual extract-quality criteria in terms of the decision factors/variables analyzed were presented as Table 1.

Analysis of the regression coefficients in Table 1 shows that both process time and ultrasound power had a negative effect, while the biomass/water ratio had a positive effect on the TPC. A similar relationship was found for TAA. However, for TFC, it was shown that all factors had a positive effect on this characteristic of *Levisticum officinale* extracts. For the RSC the positive effect correlated with the root biomass/water ratio and ultrasound power, while extraction time had a negative effect on RSC.

An analysis of the proposed models for ultrasound-assisted aqueous extraction of *Levisticum officinale* roots is shown in Table 1. The high  $R^2$  values ( $>0.80$ ) of 0.91 for TPC ( $K_1$ ), 0.88 for TFC ( $K_2$ ), 0.93 for TAA and 0.93 for RSC, respectively, indicate that the models based on multivariate polynomials sufficiently reflected the experimental data. According to Ahmed et al. [42], a high correlation and strong fit is shown using a regression model with an  $R^2$  value greater than 0.8. In addition, the analyses showed that the Adj  $R^2$  values were 0.86, 0.81, 0.89, 0.85 for TPC, TFC, TAA and RSC, respectively, confirming a good model

fit. Based on the analyses, it can be concluded that the generated models were characterized using the predictive ability of the characteristics of *Levisticum officinale* extracts depending on the parameters of the extraction process [43].

**Table 1.** The predicted quadratic polynomial models for properties extracted from *Levisticum officinale* polyphenols, flavonoids, antioxidant potential and reducing sugars.

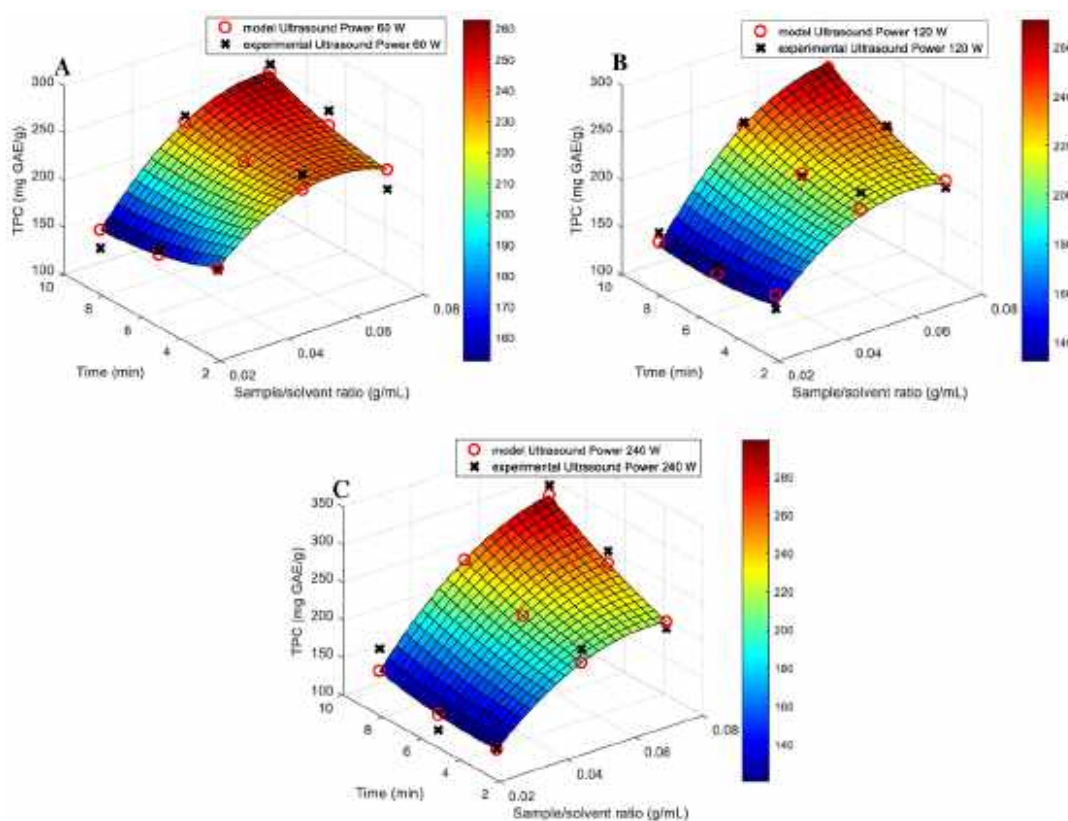
Source	Total Phenolic Content (TPC) (mg GAE/g)	Total Flavonoids Content (TFC) ( $\mu\text{mol CAT/L}$ )	Total Antioxidant Activity (TAA) (DPPH—%inh)	Reducing Sugar Content (RSC) (g GE/L)
Absolute term, $a_0$	166.92	−126	22.9	4.02
Linear				
$a_1$	4852.1	10,707.8	2122.25	87.53
$a_2$	−0.956	0.29	−0.33	0.02
$a_3$	−20.533	44.8	−5.97	−1.79
Interaction				
$a_4$	5.58	2.89	0.32	0.035
$a_5$	213.7	105.3	−2.22	21.12
$a_6$	0.043	0.045	0.012	0.003
Quadratic				
$a_7$	−49,195.96	−87,147.45	−16,726.9	−1197.48
$a_8$	0.0012	−0.0026	−0.00029	−0.0001
$a_9$	0.66	−3.87	0.387	0.059
Indicators				
MSE	373.84	1308.28	16.84	1.11
R-square	0.91	0.88	0.93	0.91
Adjusted R square	0.86	0.804	0.889	0.854
F-statistic				
sse	$6.36 \times 10^3$	$2.22 \times 10^4$	286.1482	18.8592
F-value	18.21	12.796	24.0004	17.9322
ssr	$6.13 \times 10^4$	$1.51 \times 10^5$	$3.64 \times 10^3$	$1.79 \times 10^2$
$p$ -value	$4.74 \times 10^{-7}$	$6.05 \times 10^{-6}$	$5.91 \times 10^{-8}$	$5.31 \times 10^{-7}$

Legend: sse—sum of squared errors (residuals), expressed as a numerical value; ssr—the sum of squares due to regression (SSR) or explained sum of squares (ESS) is the sum of the differences between the predicted value and the mean of the dependent variable;  $p$ -value—a vector of  $p$ -values for testing whether elements of  $b$  are 0.

The fit of the polynomial models to the experimental results of the phenolic compound content together with the interpolation is shown in Figure 4.

The research showed that the content of phenolic compounds in the extracts increased when extraction of *Levisticum officinale* roots was carried out using an increased plant biomass to solvent ratio. Admittedly, the increases in TPC were no longer as significant when the root-to-water ratio was increased from 0.05 to 0.075 g/mL. Additionally, it was found that increasing the extraction time led to the production of extracts with higher levels of phenolic compounds. The results also showed that increasing the ultrasound power affected the total pool of phenols extracted from *Levisticum officinale*. The highest TPC extraction yields (above 300 mg GAE/g) were recorded for extracts produced using a biomass/solvent ratio of 0.075 g/mL, for 9 min and at an ultrasound power of 240 W. This is supported by the results obtained by Nikolić et al. [41], in which the authors analyzed the effect of ultrasound-assisted extraction parameters on the content of phenolic compounds in the extracts. According to the researchers, changing the ratio of solvent to plant biomass also had a greater effect on TPC than process time [44]. Similar observations were reached by Brahmi et al. [45], who analyzed the effect of ultrasound-assisted extraction conditions on the amount of extracted phenolic compounds from *Opuntia ficusindica*. The researchers showed that both the content of phenolic compounds and the antioxidant potential of

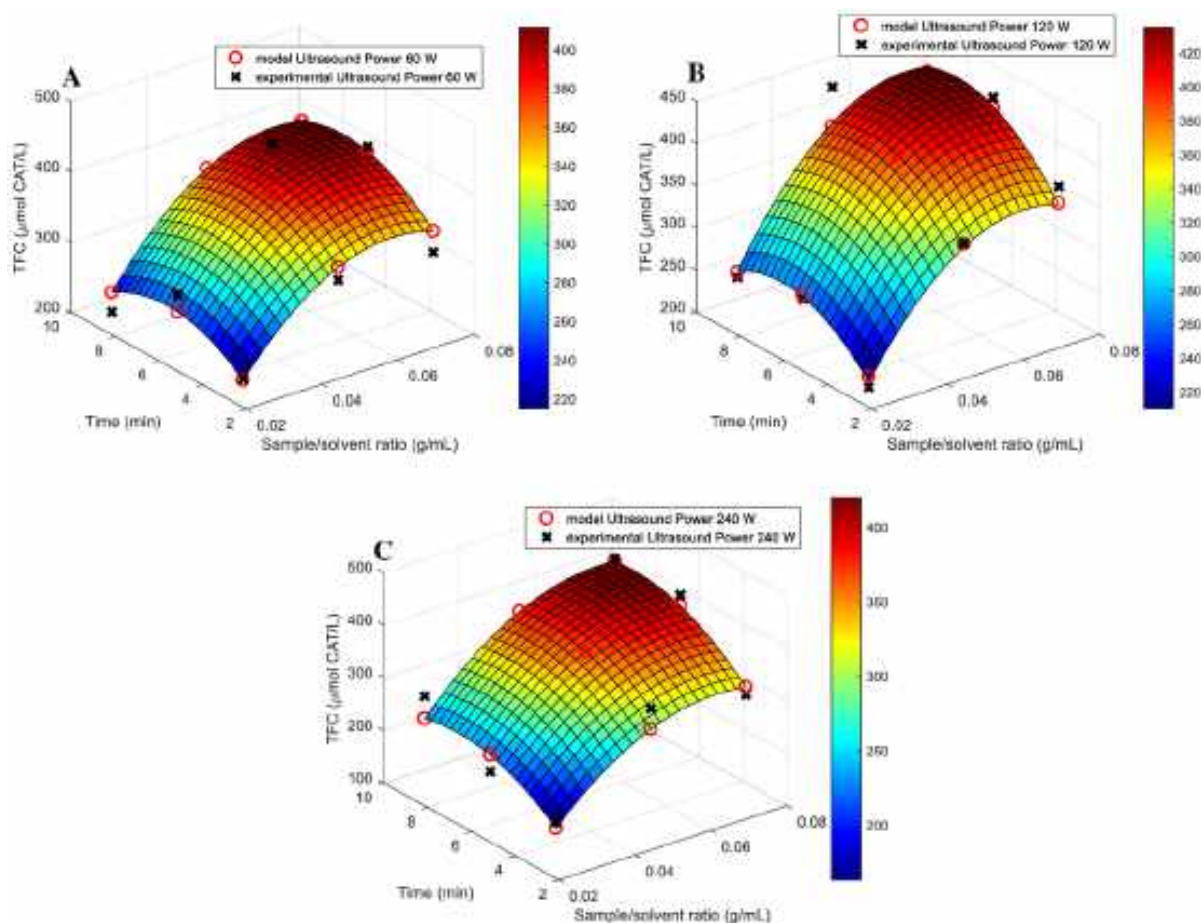
the extracts reached a certain level at a certain time, after which no more significant differences caused by increasing this extraction parameter were observed. Also, Irakli et al. [9], who showed that the total polyphenols content of the extracts increased with increasing extraction time, noted a limiting time for the effect of ultrasound, after which the TPC extraction efficiency stabilized and then gradually decreased. Medina-Torres et al. [46] explain these observations with the fact that ultrasound-assisted extraction time is generally divided into two phases. The first is the ‘washing stage’, and it is during this process that the maximum number of active compounds is extracted. On the other hand, in the next stage, the so-called ‘slow extraction phase’, compounds contained in the plant biomass are transferred to the solvent using a diffusion mechanism. Therefore, it is important to determine the influence of the time of the ultrasound-assisted extraction procedure and to optimize this parameter, as unskillfully controlling such a process and increasing the time of the procedure may, consequently, lead to degradation of bioactive compounds induced by radiation generated using ultrasound [45]. Kutlu et al. [47] also highlighted the importance of ultrasound power for the extraction efficiency of phenolic compounds. The aforementioned researchers found that the amount of TPC extracted from *Artemisia dracunculus* increased by 15% with increasing ultrasonic power at the same analyzed sonication time and solvent-to-sample ratio. Similar observations were made by Garcia-Mendoza et al. [48] who extracted active compounds from *Juglans regia*. They found that TPC levels in the extracts increased by 12% when the process was carried out at increased ultrasonic power (from 180 to 220 W) [47].



**Figure 4.** Experimental and predicted values (regression function with interpolation) for TPC in function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio, g/mL) and  $x_3$  (time, min) for (A) ultrasound power  $x_2 = 60$  W, (B) ultrasound power  $x_2 = 120$  W, (C) ultrasound power  $x_2 = 240$  W.

Analysis of the flavonoids’ levels in extracts from the roots of *Levisticum officinale* showed that this characteristic was influenced by the parameters of the extraction process, assisted with ultrasound (Figure 5). It was found that increasing the time of the extraction procedure generally resulted in a higher pool of flavonoids in the samples. However, such

significant differences in TFC were no longer observed for extraction times of 6 min and 9 min.

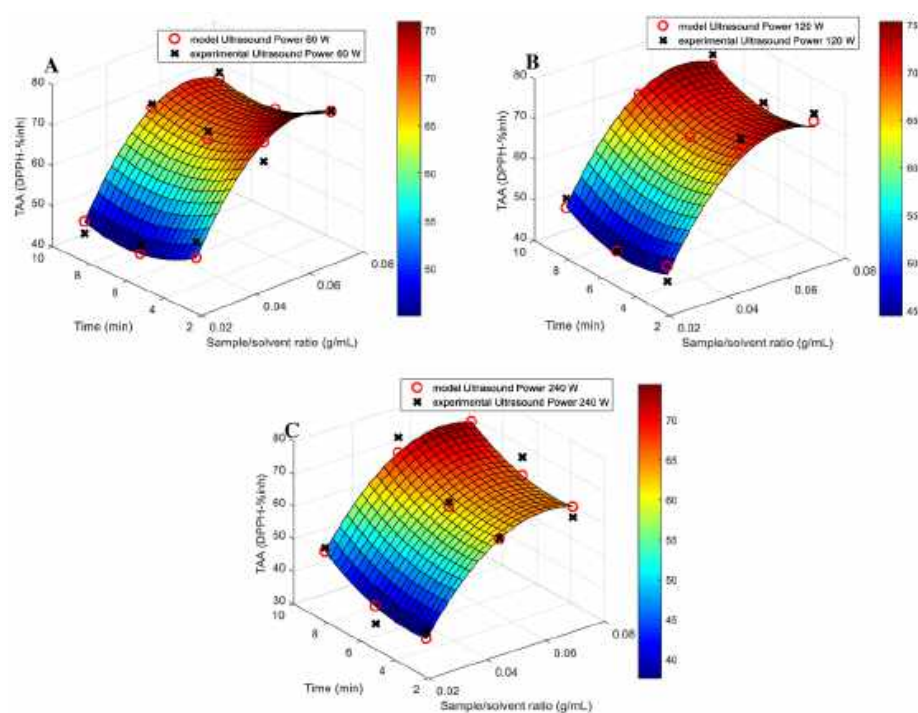


**Figure 5.** Interpolation and regression function of criterion  $K_2$  (TFC, total flavonoid content) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (sample/solvent ratio (g/mL)) and  $x_3$  (time (min)) for (A)  $x_2 = 60$  W (ultrasound power), (B)  $x_2 = 120$  W (ultrasound power), (C)  $x_2 = 240$  W (ultrasound power).

The study also showed that flavonoids' levels in the extracts changed with changes in the ratio of root biomass to solvent. These changes were greater the longer the extraction process time was. When analyzing the effect of ultrasound power, it was found that the lowest concentration of TFC occurred in extracts produced when the process was assisted with ultrasound at 60 W. In contrast, the increase in flavonoids in the aqueous extracts was highest as a result of power at 120 W. Assefa et al. [46] evaluated the effect of extraction time on the antioxidant activity and flavonoid content of extracts from *Citrus junos*. The study of the aforementioned authors proved that antioxidant potential and flavonoid levels increased with increasing extraction process duration until a critical time value was reached, after which the analyzed indicators already assumed a constant value. The researchers suggest that this is due to the fact that both antioxidant compounds and flavonoids were completely extracted. They also came to similar conclusions regarding the effect of changing the biomass/solvent ratio. The authors, therefore, emphasize the need to optimize these extraction process parameters. An ill-considered increase in the use of plant biomass is not only connected with a negative economic impact, but also disturbs the efficiency of the extraction of bioactive compounds from different matrices, which is based on mass-transfer principles. Rational control of the process in terms of this parameter leads to a reduction in biomass consumption, which in turn results in reduced process and energy costs [49].

Increasing the time of the extraction procedure and increasing the plant biomass/water ratio were shown to be beneficial for increasing TAA (Figure 6). However, when the process

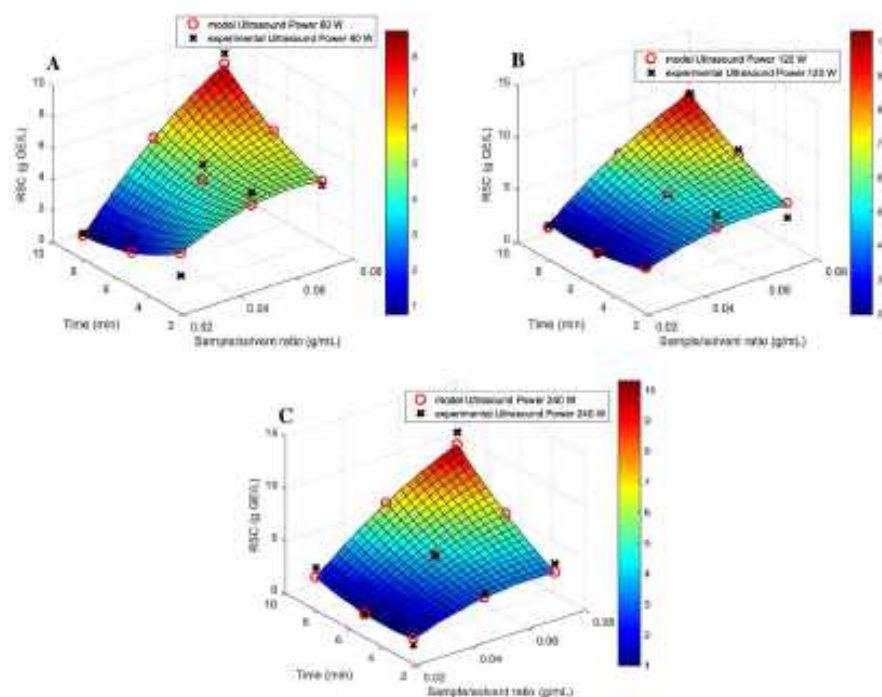
was assisted with ultrasound at 60–120 W at the average analyzed time parameters and the mentioned biomass ratio, a certain state of stabilization was observed in the total antioxidant potential, expressed as % inh DPPH. In addition, increasing the ultrasound power to the maximum analyzed (240 W) no longer led to significant changes in the TAA of the extracts. Nikolić et al. [44] even found that increasing the UAE time and excessively increasing the solid/liquid ratio lead to a decrease in the antioxidant potential of *Centaureum erythraea* extracts. The authors suggest that the effect of prolonged exposure to cavitation energy may be to degrade plant metabolites and reduce the antioxidant potential of the compounds. Babotă et al. [50] additionally indicate that increasing the ratio of the plant matrix to solvent too much may, after reaching a certain limiting phase, already reduce mass transfer, leading to a reduction in the extraction efficiency of bioactive compounds [44].



**Figure 6.** Interpolation and regression function of criterion  $K_3$  (TAA, total antioxidant activity) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (sample/solvent ratio (g/mL)) and  $x_3$  (time (min)) for (A)  $x_2 = 60$  W (ultrasound power), (B)  $x_2 = 120$  W (ultrasound power), (C)  $x_2 = 240$  W (ultrasound power).

According to Dawidowicz et al. [51], the observed slight decrease in TAA could be related to a decrease in the concentration of hydrogen ions, which in turn led to an increase in the reaction rate between DPPH and flavonoids. The results of the research by Pekał and Pyrzynska [52] proved that radicals had higher antioxidant activity in the DPPH test of tea extracts due to the dominance of the electron transfer mechanism with a conjugated proton. The above-mentioned authors showed that the pH of the extracts determined the results obtained in the DPPH antioxidant activity test, leading to differences in the assessment of their antioxidant activity recorded in less-acidic environments. Additionally, Dawidowicz and Olszowy [53] proved that changing the concentration of hydrogen ions leads to changes in the mechanism of the DPPH scavenging process [52]. Another reason for the decrease in TAA could be the amount of compounds extracted after 6 min, resulting from the biomass to solvent ratio used. According to Bolling et al. [54], this is due to the fact that there is a non-linear function between sample concentration and antioxidant activity as a result of synergistic or antagonistic interactions between the components of the extracts [55].

The situation was different for the content of reducing sugars (Figure 7).



**Figure 7.** Interpolation and regression function of criterion  $K_4$  (RSC, reducing sugar content) as a function of process parameters (decision variables)  $x_1$  (sample/solvent ratio (g/mL)) and  $x_3$  (time (min)) for (A)  $x_2 = 60$  W (ultrasound power), (B)  $x_2 = 120$  W (ultrasound power), (C)  $x_2 = 240$  W (ultrasound power).

The RSC did not change if the extraction time was extended, using low biomass/water ratios. In contrast, in the other cases analyzed, this characteristic increased with increased procedure duration. Increased ultrasound power resulted in higher sugar-extraction efficiency. However, the differences between 120 and 240 W were no longer significant. Similar observations were reached by Mondal et al. [56] who analyzed the extraction efficiency of reducing sugars from *Arctium lappa* L. root waste. The researchers showed that the highest concentration of sugars was contained in extracts produced with increased ultrasound-assisted extraction parameters (biomass/solvent ratio and process time) [56]. However, as highlighted by AlYammahi et al. [57], there are few reports in the literature concerning the ultrasonic extraction of sugars. Particularly in regard to targeted optimization of extraction parameters for maximizing the extraction of reducing sugars. AlYammahi et al. [57] evaluated the effect of extraction parameters on the level of sugars in extracts produced using ultrasound from *Phoenix dactylifera*. The researchers showed that both extraction time and biomass/solvent ratio had a significant effect on this characteristic of the extracts. The authors explained the observed relationships using the increased solubility of sugars in the solvent, resulting in increased release and diffusivity of these compounds from the plant biomass. Nuerxiati et al. [58] show that unjustified prolongation of extraction time already leads to a decrease in extraction rate and amount of extracted sugars [57]. On the other hand, da Silva Donadone et al. [59] put forward the conclusion that an additional aspect of the extraction process, determining the efficiency of carbohydrate extraction from the plant matrix, is the power of ultrasound. Chen et al. [18] showed that RSC extraction from mulberry fruit was increased as a result of increasing the ultrasound power from 60 to 180 W. Hu et al. [60] explain this by the fact that increased ultrasound power increases the effect of cavitation and vibration and thus leads to greater disintegration of the plant matrix cell walls, thereby promoting carbohydrate dissolution and diffusion [59].

Summarizing this stage of experimental research, it was found that the content of polyphenols, flavonoids and the antioxidant potential of the extracts changed with the process parameters. A longer extraction procedure and an increased biomass/solvent ratio led to a simultaneous increase in the analyzed quality parameters of the extracts,

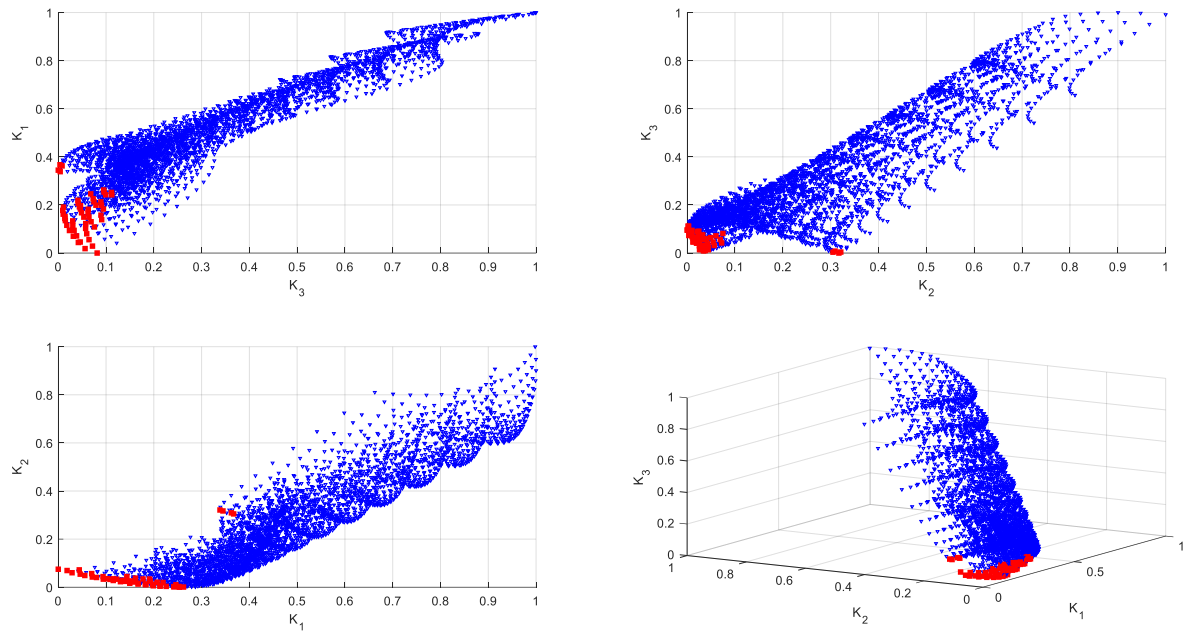
mainly as the antioxidant potential of plant extracts is determined by the level of phenolic compounds. According to Wong et al. [61], there is a correlation between high polyphenol content and high antioxidant activity. Othman et al. [62] showed that all samples of herbal plant extracts had a positive correlation between TPC and DPPH free-radical scavenging activity. The high DPPH inhibition capacity may also be a result of the presence of low-molecular-weight phenolic compounds [63,64]. Othman et al. [62] proved that there is a low positive correlation found for antioxidant activity and total flavonoid content in the composition of plant extracts. These observations confirm the study by Miliuskas et al. [65], in which the authors proved that the observed low correlations are influenced by flavonoids present in extracts with specific structures (hydroxyl position in the molecule), which determine antioxidant properties. Thus, it is indicated that depending on the extracts studied and the compounds extracted from them, the levels and correlations between the biologically active compounds should be determined individually [66].

### 3.2. Multi-Criteria Optimization

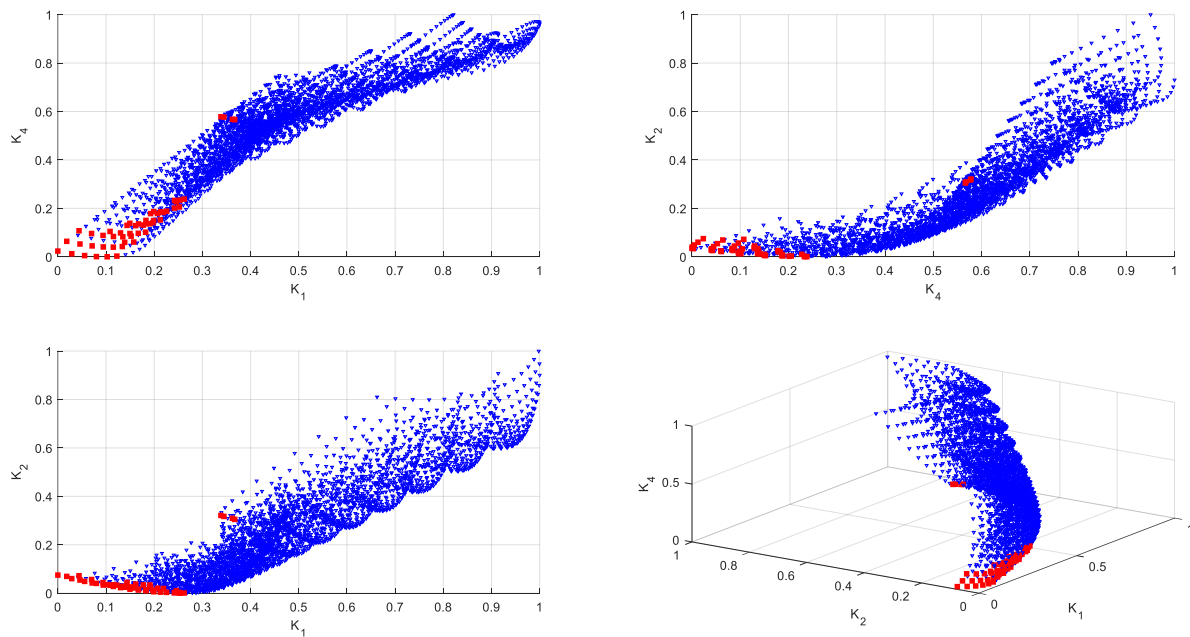
The mathematical models generated, together with the interpolation and the corresponding equations, were used in a further procedure to optimize the parameters of the extraction processes. The objective of the optimization was to identify sets of optimal solutions that would yield extracts with the highest possible TPC, TFC, TAA and RSC. Figures 8 and 9 show the Pareto fronts in the decision criteria space (TPC, TFC, TAA, RSC). There were two sets of optimal solutions in the analyzed criteria space. The representation of the fronts in the decision criteria space (2D and 3D option) allowed us to obtain a global view into the entire studied domain of the efficiency of the extraction procedure, defined in terms of the maximization of the individual decision criteria. It should be emphasized that the correlations observed in Figures 8 and 9 were obtained after the process of normalizing the decision criteria, as a result of which, for the maximized decision criteria, 0 is the best scenario. The demonstrated multifaceted degree of difficulty of the research problem, as well as the post-optimization theory of decision making, necessitated depicting the effects of multi-objective (multi-criteria) optimization (Figure 10) in the space of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (time) and  $x_3$  (ultrasound power).

Thus, in this optimization task, several objectives have been considered simultaneously, and the effect of multi-criteria optimization will be to generate sets of optimal solutions, based on the trade-off between the different objectives and the corresponding values of the decision variables [67]. Pareto front analysis showed that the optimal solutions in the space of decision variables form two disjointed sets (Figure 10). It should also be mentioned that the parameters of the ultrasound-assisted water extraction (i.e., decision variables  $x_1$ ,  $x_2$  and  $x_3$ ) were also determinants of the objective function of the identified domain. Navigating the Pareto fronts, it was shown that two scenarios could be adopted for the simultaneous maximization of the decision criteria. The first assumes that ultrasound-assisted extraction can be carried out for 3 min, using low ultrasound power (60.0000 to 72.8571 W) and a biomass/solvent ratio of 0.0607 to 0.0643 g/mL (Table 2).

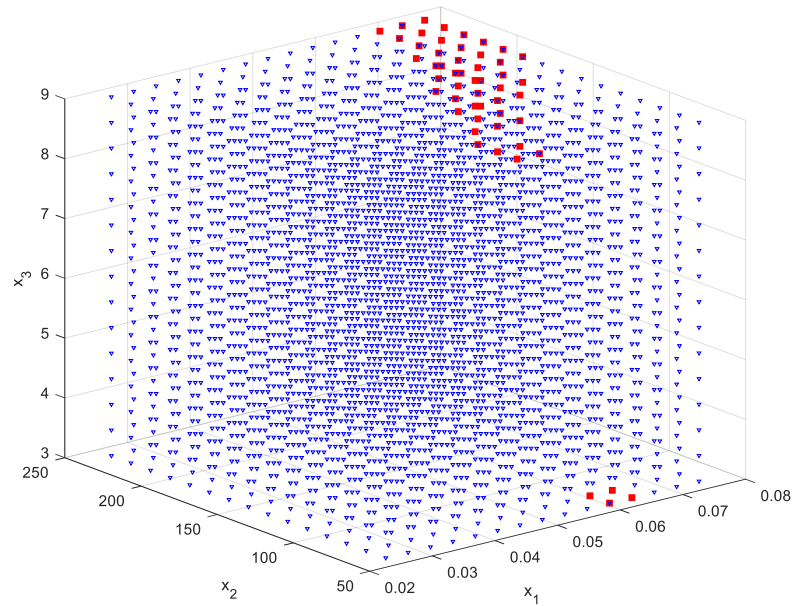
The second scenario is based on a second set of Pareto-optimal solutions. In this case, maximization of the criteria can be achieved using *Levisticum officinale* aqueous extraction at a biomass/solvent ratio of 0.0643 g/mL for a time between 8.1429 and 9.0000 min, with ultrasound assistance of 162.8571 to 201.4286 W. Thus, for satisfactory maximization of TPC, TFC, TAA and RSC in the extracts, the process boundary conditions (maximum parameter values) are not required. The set of Pareto-optimal solutions (Table 2) also shows that maximization of the criteria can occur as a result of increasing the plant biomass/water ratio (0.714 g/mL), when the extraction procedure can be carried out at the average ultrasonic power analyzed (150–188.5714 W) in a time ranging from 7.7143 to 9.000 min.



**Figure 8.** Pareto solution sets for maximizing regression equations for the relationship between criteria  $K_1$  (TPC total phenolic content—maximized),  $K_2$  (TFC total flavonoid content—maximized),  $K_3$  (TAA total antioxidant activity—maximized). Red color indicates Pareto-optimal solutions (Pareto front); blue color indicates dominated solutions.



**Figure 9.** Pareto solution sets for maximizing regression equations for the relationship between criteria  $K_1$  (TPC total phenolic content—maximized),  $K_2$  (TFC total flavonoid content—maximized),  $K_4$  (RSC reducing sugar content). Red color indicates Pareto-optimal solutions; blue color indicates dominated solutions.



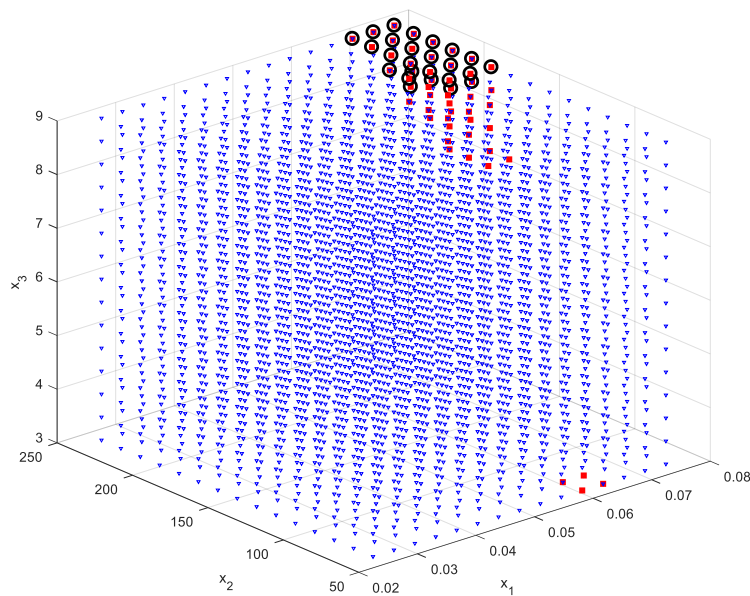
**Figure 10.** Pareto solution sets for maximizing regression equations as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (ultrasound power) and  $x_3$  (time). Red color indicates Pareto-optimal solutions; blue color indicates dominated solutions.

**Table 2.** Optimal values of decision variables—Pareto front solutions.

$x_{1opt}$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_{3opt}$ (Time)	$x_{2opt}$ (Ultrasound Power)	$x_{1opt}$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_{3opt}$ (Time)	$x_{2opt}$ (Ultrasound Power)
0.0607	3.0000	60.0000	0.0679	8.5714	188.5714
0.0607	3.0000	72.8571	0.0679	9.0000	188.5714
0.0643	3.0000	60.0000	0.0679	8.5714	201.4286
0.0643	3.0000	72.8571	0.0679	9.0000	201.4286
0.0643	8.1429	162.8571	0.0679	9.0000	214.2857
0.0643	8.5714	162.8571	0.0679	9.0000	227.1429
0.0643	9.0000	162.8571	0.0679	9.0000	240.0000
0.0643	8.5714	175.7143	0.0714	7.7143	150.0000
0.0643	9.0000	175.7143	0.0714	7.7143	162.8571
0.0643	8.5714	188.5714	0.0714	8.1429	162.8571
0.0643	9.0000	188.5714	0.0714	8.5714	162.8571
0.0643	9.0000	201.4286	0.0714	8.1429	175.7143
0.0679	7.7143	150.0000	0.0714	8.5714	175.7143
0.0679	7.7143	162.8571	0.0714	9.0000	175.7143
0.0679	8.1429	162.8571	0.0714	8.1429	188.5714
0.0679	8.5714	162.8571	0.0714	8.5714	188.5714
0.0679	7.7143	175.7143	0.0714	9.0000	188.5714
0.0679	8.1429	175.7143	0.0714	8.5714	201.4286
0.0679	8.5714	175.7143	0.0714	9.0000	201.4286
0.0679	9.0000	175.7143	0.0714	8.5714	214.2857
0.0679	8.1429	188.5714	0.0714	9.0000	214.2857

According to Woinaroschy and Damsa [67], the effect of multi-objective optimization (as opposed to optimization with only one objective) is to determine multiple points (as shown in Figure 10 and Table 2). These points are referred to as optimal in the sense that an improvement in one objective (criterion) can only be achieved if one or more others (criteria) are made worse [68]. According to Kao and Jacobson [69], analyzing a large set of Pareto-optimal solutions can be a kind of challenge. Often there is a need, voiced by decision makers in technological processes rather than engineers, for the necessity of selecting from a small set of preferred Pareto-optimal solutions. On the one hand, obtaining large sets of

Pareto-optimal solutions is an ideal approach (on the formal side), additionally providing the decision-maker with a diverse set of solutions. However, in many situations where the decision maker has unassessed importance, his or her preferences indicate that it is often impractical to identify a good subset of solutions from among too many options [70,71]. Therefore, the focus of the presented research was to extend the multi-objective optimization procedure with the objective of generating smaller subsets of Pareto-optimal solutions called preferred solutions [59,72–74]. The effects of this approach to navigating and reducing the set of Pareto-optimal solutions are shown in Figure 11.



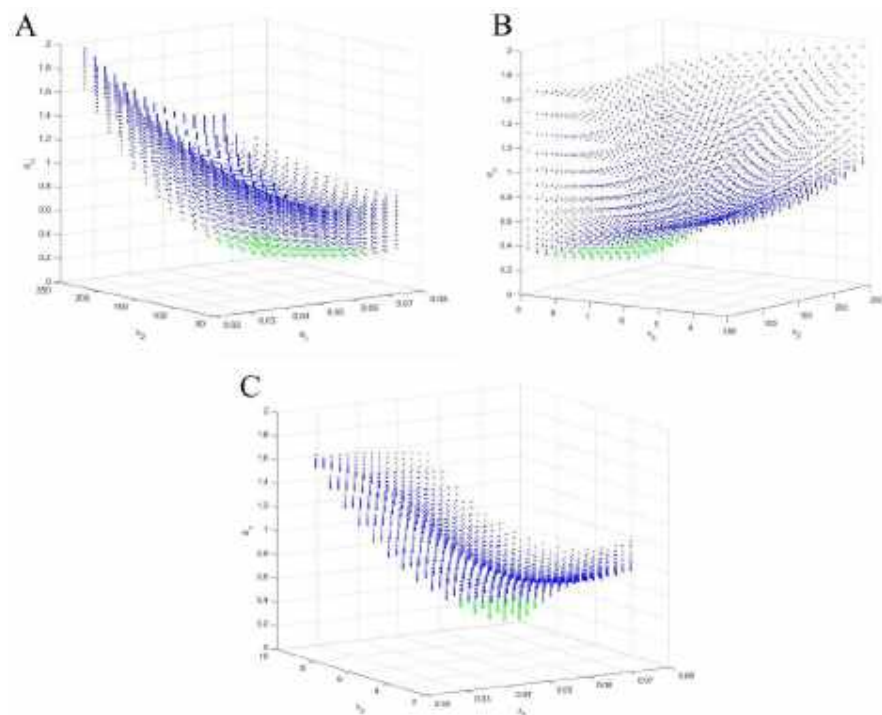
**Figure 11.** Visualization of smart Pareto solutions in the context of Pareto front optimal solutions in the decision variable spaces  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (ultrasound power) and  $x_3$  (time). Red color indicates Pareto-optimal solutions; blue color indicates dominated solutions; black dots/circles indicate smart Pareto solutions (preferred solutions).

Pareto set reduction and the use of the so-called smart Pareto approach made it possible to determine subsets of preferred solutions. The allocation of criterion weights focused on awarding greater importance to the first three criteria for the quality of the aqueous extracts, extracted using ultrasound-assisted extraction ( $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ) (Table 3). In the optimal subset (Figure 11, Table 3), it was noted that with the enhanced performance of TPC, TFC and TAA (maximized with weights of criteria  $K_1$ – $K_3$ ), the extraction procedure could be carried out in 8.5714 min, with biomass/solvent ratios of 0.0679, 0.0714, 0.0750 g/mL and ultrasound power of 201.4286, 214.2857 and 188.5714 W. In contrast, the second option in this subset indicates a marginal (boundary analyzed) extraction time of 9 min, a *Levisticum officinale* root/water weight ratio of 0.0643 to 0.0750 g/mL and ultrasound power of 175.7143 to 240.0000 W.

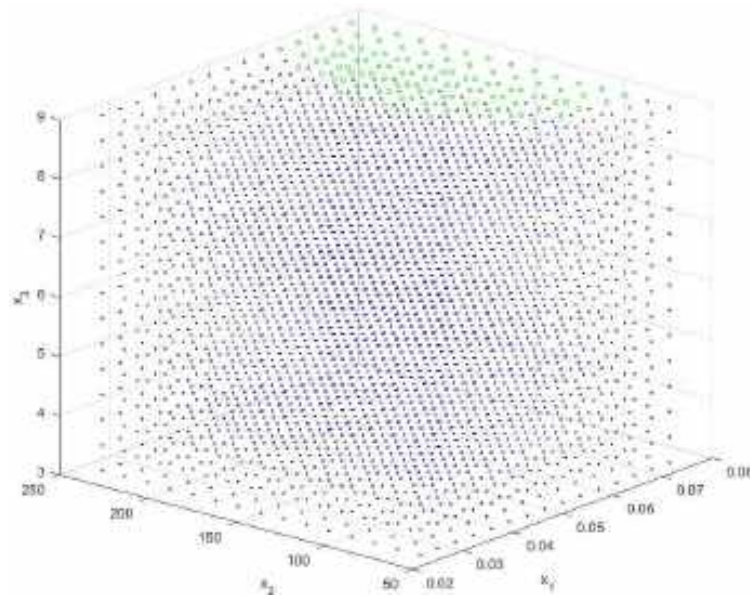
Turning to further the analysis of the multi-objective optimization procedure, which is an important part of operations research, it should be emphasized that there is no single optimal solution to multi-objective problems, but a set of solutions. From this set, it is possible to extract Pareto-optimal, efficient, non-dominated, compromise or equivalent solutions [75]. At this stage of the research, the focus was on determining a set of compromise solutions. The search for these solutions was based on the definition of a Utopia point (an ideal, unattainable point). The best solution from this set has the smallest Euclidean distance from the Utopia point. The use of this optimization procedure is an extension of the trade-off methods proposed by Gebreel [75] and Gebreel [76], in which the researcher shows the possibility of solving multi-objective optimization problems based on obtaining the best solution that is close to the Utopia point in space. The sets of compromise solutions in the space of two decision variables are shown in Figure 12.

**Table 3.** Set of preferred solutions from Pareto fronts—smart Pareto approach.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)
0.0643	9.0000	188.5714	0.0714	9.0000	201.4286
0.0643	9.0000	201.4286	0.0714	8.5714	214.2857
0.0679	9.0000	175.7143	0.0714	9.0000	214.2857
0.0679	9.0000	188.5714	0.0714	9.0000	227.1429
0.0679	8.5714	201.4286	0.0714	9.0000	240.0000
0.0679	9.0000	201.4286	0.0750	9.0000	175.7143
0.0679	9.0000	214.2857	0.0750	8.5714	188.5714
0.0679	9.0000	227.1429	0.0750	9.0000	188.5714
0.0679	9.0000	240.0000	0.0750	9.0000	201.4286
0.0714	9.0000	175.7143	0.0750	9.0000	214.2857
0.0714	8.5714	188.5714	0.0750	9.0000	227.1429
0.0714	9.0000	188.5714	0.0750	9.0000	240.0000
0.0714	8.5714	201.4286			

**Figure 12.** Sets of trade-off solutions based on distance from the Utopia point as a function of decision variables (A)— $x_1$  (sample/solvent ratio) and  $x_2$  (ultrasound power), (B)— $x_2$  (ultrasound power) and  $x_3$  (time), (C)— $x_1$  (sample/solvent ratio) and  $x_3$  (time). Green color indicates compromise solutions; blue color indicates dominated solutions.

For better visualization and to enhance the decision maker's operational capabilities, Figure 13 shows the set of trade-off solutions in the space of all decision variables analyzed. The locations of these set points are defined in Table 4.



**Figure 13.** Illustration of trade-off solutions based on distance from the Utopia point as a function of decision variables  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (ultrasound power) and  $x_3$  (time). Green color indicates compromise solutions; blue color indicates dominated solutions.

A very large set of compromise solutions was demonstrated. The values of the decision variables for this subset ranged from the average to the maximum analyzed (boundary conditions) values of the ratio of *Levisticum officinale* biomass to solvent. The extraction procedure time started at 8.1429 to 9 min. While the power had a wide range from 85.7143 to 240.0000 watts. Thus, the presented procedure provides the decision maker with ample opportunities and shows precise options for controlling the ultrasound-assisted extraction process for maximizing the total content of phenolic compounds, flavonoids, sugars and antioxidant potential.

**Table 4.** Compromise solutions based on distance from Utopia point.

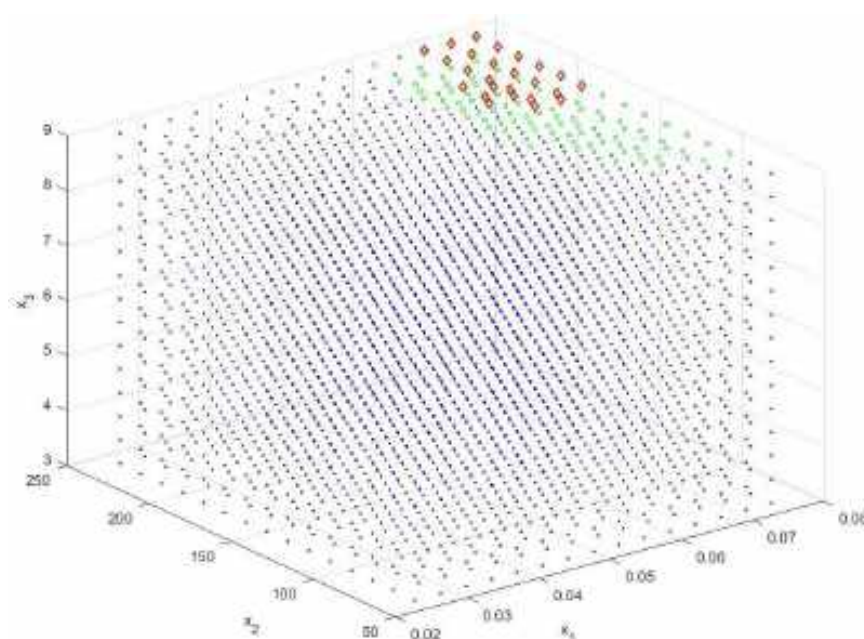
$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)
0.0607	9.0000	162.8571	0.0714	9.0000	137.1429
0.0607	9.0000	175.7143	0.0714	8.1429	150.0000
0.0607	9.0000	188.5714	0.0714	8.5714	150.0000
0.0607	9.0000	201.4286	0.0714	9.0000	150.0000
0.0607	9.0000	214.2857	0.0714	8.1429	162.8571
0.0607	9.0000	227.1429	0.0714	8.5714	162.8571
0.0607	9.0000	240.0000	0.0714	9.0000	162.8571
0.0643	9.0000	124.2857	0.0714	8.1429	175.7143
0.0643	9.0000	137.1429	0.0714	8.5714	175.7143
0.0643	9.0000	150.0000	0.0714	9.0000	175.7143
0.0643	8.5714	162.8571	0.0714	8.1429	188.5714
0.0643	9.0000	162.8571	0.0714	8.5714	188.5714
0.0643	8.5714	175.7143	0.0714	9.0000	188.5714
0.0643	9.0000	175.7143	0.0714	8.1429	201.4286
0.0643	8.5714	188.5714	0.0714	8.5714	201.4286
0.0643	9.0000	188.5714	0.0714	9.0000	201.4286
0.0643	8.5714	201.4286	0.0714	8.1429	214.2857
0.0643	9.0000	201.4286	0.0714	8.5714	214.2857
0.0643	8.5714	214.2857	0.0714	9.0000	214.2857
0.0643	9.0000	214.2857	0.0714	8.1429	227.1429

Table 4. Cont.

$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)	$x_1$ (Sample/Solvent Ratio)	$x_3$ (Time)	$x_2$ (Ultrasound Power)
0.0643	8.5714	227.1429	0.0714	8.5714	227.1429
0.0643	9.0000	227.1429	0.0714	9.0000	227.1429
0.0643	8.5714	240.0000	0.0714	8.1429	240.0000
0.0643	9.0000	240.0000	0.0714	8.5714	240.0000
0.0679	9.0000	98.5714	0.0714	9.0000	240.0000
0.0679	9.0000	111.4286	0.0750	9.0000	85.7143
0.0679	8.5714	124.2857	0.0750	9.0000	98.5714
0.0679	9.0000	124.2857	0.0750	8.5714	111.4286
0.0679	8.5714	137.1429	0.0750	9.0000	111.4286
0.0679	9.0000	137.1429	0.0750	8.5714	124.2857
0.0679	8.5714	150.0000	0.0750	9.0000	124.2857
0.0679	9.0000	150.0000	0.0750	8.1429	137.1429
0.0679	8.5714	162.8571	0.0750	8.5714	137.1429
0.0679	9.0000	162.8571	0.0750	9.0000	137.1429
0.0679	8.1429	175.7143	0.0750	8.1429	150.0000
0.0679	8.5714	175.7143	0.0750	8.5714	150.0000
0.0679	9.0000	175.7143	0.0750	9.0000	150.0000
0.0679	8.1429	188.5714	0.0750	8.1429	162.8571
0.0679	8.5714	188.5714	0.0750	8.5714	162.8571
0.0679	9.0000	188.5714	0.0750	9.0000	162.8571
0.0679	8.1429	201.4286	0.0750	8.1429	175.7143
0.0679	8.5714	201.4286	0.0750	8.5714	175.7143
0.0679	9.0000	201.4286	0.0750	9.0000	175.7143
0.0679	8.1429	214.2857	0.0750	8.1429	188.5714
0.0679	8.5714	214.2857	0.0750	8.5714	188.5714
0.0679	9.0000	214.2857	0.0750	9.0000	188.5714
0.0679	8.1429	227.1429	0.0750	8.1429	201.4286
0.0679	8.5714	227.1429	0.0750	8.5714	201.4286
0.0679	9.0000	227.1429	0.0750	9.0000	201.4286
0.0679	8.1429	240.0000	0.0750	8.1429	214.2857
0.0679	8.5714	240.0000	0.0750	8.5714	214.2857
0.0679	9.0000	240.0000	0.0750	9.0000	214.2857
0.0714	9.0000	85.7143	0.0750	8.1429	227.1429
0.0714	9.0000	98.5714	0.0750	8.5714	227.1429
0.0714	8.5714	111.4286	0.0750	9.0000	227.1429
0.0714	9.0000	111.4286	0.0750	8.1429	240.0000
0.0714	8.5714	124.2857	0.0750	8.5714	240.0000
0.0714	9.0000	124.2857	0.0750	9.0000	240.0000
0.0714	8.5714	137.1429			

Among the compromise solutions, the so-called super compromise solution also called the best efficient solution [76] was identified. This was the solution whose Euclidean distance from the ideal point of Utopia was the smallest among all analyzed points of the set. Such a solution had coordinates  $x_{1\text{comp}} = 0.0750$  g/mL,  $x_{2\text{comp}} = 9.0000$  min and  $x_{3\text{comp}} = 214.2857$  W. At this stage, it should be emphasized that Pareto sets are particularly extremely useful in understanding the trade-off relationships between different objectives and criteria in a multi-objective problem [77,78].

Figure 14 shows a graphical visualization of the sets of preferred solutions in the context of the compromise solutions. In fact, the choice of path in post-optimization interpretation will be the result of the knowledge, experience and preferences of specific decision makers. Only the combination of mathematical methods and optimization procedures with knowledge of processes, technologies or apparatus or industry capabilities will allow informed control of the extraction process for increased extraction of bioactive compounds.



**Figure 14.** Visualization of preferred solutions vs. compromise solutions  $x_1$  (sample/solvent ratio),  $x_2$  (ultrasound power) and  $x_3$  (time). Red color—smart Pareto solution; Green color—compromise solutions; blue color—dominated solutions.

However, it should be emphasized that the challenge associated with the articulation of preferences by decision makers is a current research problem. According to Wang et al. [79], only by building a practical bridge between the process designer's preferences and knowledge and optimization capabilities and procedures will a complete decision-making process be achieved [80].

#### 4. Conclusions

The research focused on the design, analysis and optimization of an environmentally friendly ultrasonic-assisted extraction using water as an eco-friendly solvent for the plant matrix in the form of *Levisticum officinale* roots. This approach will enable future use of the extracts in various industries including food, cosmetics and pharmaceuticals. In addition, the resulting post-extracted plant material can be further and safely revalorized, due to the use of water as a solvent. The study showed that the total pool of phenolic compounds and flavonoids, as well as the antioxidant potential, increased with prolongation of the extraction process until a critical time value was reached, after which the analyzed indicators already assumed a similar constant value. A similar relationship was noted when increasing the biomass ratio of *Levisticum officinale* roots to water and the power of ultrasound. Only in the case of reducing sugars, the highest efficiency of their extraction was found when the boundary analyzed process conditions were applied. Based on the Pareto-optimal solution sets, it was found that to maximize the criteria aqueous extraction should be carried out at a *Levisticum officinale* biomass/solvent ratio of 0.0643 g/mL for a time of 8.1429 to 9.0000 min, with ultrasound assistance of 162.8571 to 201.4286 W. Pareto set reduction and the use of the so-called smart Pareto approach made it possible to determine subsets of preferred solutions. In the optimal subsets, it was noted that, for the increased extraction efficiency of TPC, TFC and TAA, the extraction procedure could be carried out in 8.5714 min, with biomass/solvent ratios of 0.0679, 0.0714, 0.0750 g/mL and ultrasound power of 201.4286, 214.2857 and 188.5714 W. In contrast, the second option in this subset indicates an edge extraction time of 9 min, a *Levisticum officinale* root/water ratio of 0.0643 to 0.0750 g/mL and ultrasound power of 175.7143 to 240.0000 W. Among the compromise solutions, the so-called "best efficient solution" was indicated. The solution for which the Euclidean distance from the ideal point of Utopia was the smallest (among all analyzed points of the collection)

had coordinates  $x_{1\text{comp}} = 0.0750$  g/mL,  $x_{2\text{comp}} = 9.0000$  min and  $x_{3\text{comp}} = 214.2857$  W. The novelty and originality of the presented research is the design and optimization of balanced extraction, assisted using ultrasound, for maximizing the yield of the extracted valuable bioactive compounds, with the identification of Pareto-optimal, preferred and compromise solutions. The results obtained will provide a valuable tool to assist in the decision-making process of controlling such an extraction process, assuming that there is a possibility of increasing the scale of industrial processing of *Levisticum officinale* roots into extracts with added value from the point of view of bioactive compounds.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.P. and S.K.; methodology, M.P.; software, M.P.; validation, M.P., S.K. and A.B.; formal analysis, M.P.; investigation, M.P.; resources, M.P.; data curation, M.P.; writing—original draft preparation, M.P.; writing—review and editing, M.P., S.K. and A.B.; visualization, M.P. and S.K.; supervision, S.K.; project administration, S.K. and A.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Conflicts of Interest:** Author Michał Plawgo was employed by the company Future Production AS. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## References

1. Li, D.C.; Jiang, J.G. Optimization of the microwave-assisted extraction conditions of tea polyphenols from green tea. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2010**, *61*, 837–845. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Lee, L.S.; Lee, N.; Kim, Y.H.; Lee, C.H.; Hong, S.P.; Jeon, Y.W.; Kim, Y.E. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic antioxidants from green tea using response surface methodology. *Molecules* **2013**, *18*, 13530–13545. [[CrossRef](#)]
3. Chang, C.J.; Chiu, K.L.; Chen, Y.L.; Chang, C.Y. Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food Chem.* **2000**, *68*, 109–113. [[CrossRef](#)]
4. Jun, X.; Deji, S.; Ye, L.; Rui, Z. Comparison of in vitro antioxidant activities and bioactive components of green tea extracts by different extraction methods. *Int. J. Pharm.* **2011**, *408*, 97–101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Barba, F.J.; Zhu, Z.; Koubaa, M.; Sant'Ana, A.S.; Orlien, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2016**, *49*, 96–109. [[CrossRef](#)]
6. Banerjee, S.; Chatterjee, J. Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52*, 3158–3168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Ayyildiz, S.S.; Karadeniz, B.; Sagcan, N.; Bahar, B.; Us, A.A.; Alasalvar, C. Optimizing the extraction parameters of epigallocatechin gallate using conventional hot water and ultrasound assisted methods from green tea. *Food Bioprod. Process.* **2018**, *111*, 37–44. [[CrossRef](#)]
8. Rocha, J.C.G.; Procopio, F.R.; Mendonça, A.C.; Vieira, L.M.; Perrone, I.T.; Barros, A.R.; Stringheta, P.C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits. *Food Sci. Technol.* **2018**, *38*, 45–53. [[CrossRef](#)]
9. Irakli, M.; Chatzopoulou, P.; Ekateriniadou, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *124*, 382–388. [[CrossRef](#)]
10. Chanioti, S.; Tzia, C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from olive pomace using response surface technology: Oil recovery, unsaponifiable matter, total phenol content and antioxidant activity. *LWT—Food Sci. Technol.* **2017**, *79*, 178–189. [[CrossRef](#)]
11. Kumar, K.; Srivastav, S.; Sharanagat, V.S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrason. Sonochem.* **2021**, *70*, 105325. [[CrossRef](#)]
12. Ivanović, M.; Albrecht, A.; Krajnc, P.; Vovk, I.; Razboršek, M.I. Sustainable ultrasound-assisted extraction of valuable phenolics from inflorescences of *Helichrysum arenarium* L. using natural deep eutectic solvents. *Ind. Crops Prod.* **2021**, *160*, 113102. [[CrossRef](#)]
13. He, B.; Zhang, L.L.; Yue, X.Y.; Liang, J.; Jiang, J.; Gao, X.L.; Yue, P.X. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food Chem.* **2016**, *204*, 70–76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Ryu, D.; Koh, E. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and phenolic compounds from black soybeans (*Glycine max* L.). *Food Anal. Methods* **2019**, *12*, 1382–1389. [[CrossRef](#)]

15. Ferreira, I.C.F.R.; Martins, N.; Barros, L. Phenolic compounds and its bioavailability: In vitro bioactive compounds or health promoters? In *Advances in Food and Nutrition Research*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; Volume 82, pp. 1–44. [[CrossRef](#)]
16. Piccolella, S.; Crescente, G.; Candela, L.; Pacifico, S. Nutraceutical polyphenols: New analytical challenges and opportunities. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, *175*, 112774. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Batinić, P.; Čutović, N.; Mrđan, S.; Jovanović, A.A.; Čirić, K.; Marinković, A.; Bugarski, B. The comparison of *Ocimum basilicum* and *Levisticum officinale* extracts obtained using different extraction solvents and techniques. *Lek. Sirovine* **2022**, *42*, 43. [[CrossRef](#)]
18. Chen, C.; You, L.J.; Abbasi, A.M.; Fu, X.; Liu, R.H. Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity in vitro. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *130*, 122–132. [[CrossRef](#)]
19. Rodrigues, S.; Pinto, G.A.; Fernandes, F.A. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* **2008**, *15*, 95–100. [[CrossRef](#)]
20. Mozaffarian, V. *Flora of Iran*; No. 54: Umbelliferae; Publication of Research Institute of Forests and Rangelands; Research Institute of Forests and Rangelands: Tehran, Iran, 2007.
21. Ghaedi, N.; Pouraboli, I.; Askari, N. Antidiabetic properties of hydroalcoholic leaf and stem extract of *Levisticum officinale*: An implication for  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of extract ingredients through molecular docking. *Iran. J. Pharm. Res.* **2020**, *19*, 231. [[CrossRef](#)]
22. Szparaga, A.; Kocira, S.; Kapusta, I.; Zaguła, G. Exploring the agro-potential of extract from *Levisticum officinale* WDJ Koch in soybean cultivation. *Ind. Crops Prod.* **2023**, *203*, 117235. [[CrossRef](#)]
23. Szparaga, A. Biostimulating Extracts from *Arctium lappa* L. As Ecological Additives in Soybean Seed Coating Applications. *Agric. Eng.* **2023**, *27*, 1–10. [[CrossRef](#)]
24. Szparaga, A.; Kocira, S.; Kapusta, I.; Zaguła, G. Solid–liquid extraction of bioactive compounds as a green alternative for developing novel biostimulant from *Linum usitatissimum* L. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2023**, *10*, 108. [[CrossRef](#)]
25. Spréa, R.M.; Fernandes, Â.; Finimundy, T.C.; Pereira, C.; Alves, M.J.; Calhella, R.C.; Canan, C.; Barros, L.; Amaral, J.S.; Ferreira, I.C. Lovage (*Levisticum officinale* WDJ Koch) roots: A source of bioactive compounds towards a circular economy. *Resources* **2020**, *9*, 81. [[CrossRef](#)]
26. Spréa, R.M.; Fernandes, Â.; Calhella, R.C.; Pereira, C.; Pires, T.C.S.P.; Alves, M.J.; Canan, C.; Barros, L.; Amaral, J.S.; Ferreira, I.C.F.R. Chemical and bioactive characterization of the aromatic plant *Levisticum officinale* W.D.J. Koch: A comprehensive study. *Food Funct.* **2020**, *11*, 1292–1303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Zhang, H.; Birch, J.; Pei, J.; Mohamed Ahmed, I.A.; Yang, H.; Dias, G.; Abd El-Aty, A.M.; Bekhit, A.E.-D. Identification of Six Phytochemical Compounds from *Asparagus officinalis* L. Root Cultivars from New Zealand and China Using UAE-SPE-UPLC-MS/MS: Effects of Extracts on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced Oxidative Stress. *Nutrients* **2019**, *11*, 107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Szparaga, A.; Kocira, S.; Findura, P.; Kapusta, I.; Zaguła, G.; Świeca, M. Uncovering the Multi-Level Response of *Glycine max* L. to the Application of Allelopathic Biostimulant from *Levisticum officinale* Koch. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 15360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Wen, C.; Zhang, J.; Zhang, H.; Dzah, C.S.; Zandile, M.; Duan, Y.; Ma, H.; Luo, X. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops—A review. *Ultrason. Sonochem.* **2018**, *48*, 538–549. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Tamreihao, K.; Devi, L.J.; Khunjamayum, R.; Mukherjee, S.; Ashem, R.S.; Ningthoujam, D.S. Biofertilizing potential of feather hydrolysate produced by indigenous keratinolytic *Amycolatopsis* sp. MBRL 40 for rice cultivation under field conditions. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2017**, *10*, 317–320. [[CrossRef](#)]
31. Colla, G.; Hoagland, L.; Ruzzi, M.; Cardarelli, M.; Bonini, P.; Canaguier, R.; Roupheal, Y. Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 2202. [[CrossRef](#)]
32. Kaur, M.; Bhari, R.; Singh, R.S. Chicken feather waste-derived protein hydrolysate as a potential biostimulant for cultivation of mung beans. *Biologia* **2021**, *76*, 1807–1815. [[CrossRef](#)]
33. Mugwagwa, L.R.; Chimphango, A.F.A. Box-Behnken design based multi-objective optimisation of sequential extraction of pectin and anthocyanins from mango peels. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *219*, 29–38. [[CrossRef](#)]
34. Iqbal, S.; Younas, U.; Sirajuddin; Chan, K.W.; Sarfraz, R.A.; Uddin, M.K. Proximate Composition and Antioxidant Potential of Leaves from Three Varieties of Mulberry (*Morus* sp.): A Comparative Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 6651–6664. [[CrossRef](#)]
35. Krivorotova, T.; Sereikaite, J. Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants. *Electron. J. Biotechnol.* **2014**, *17*, 329–333. [[CrossRef](#)]
36. Rocha, M.S.; Rocha, L.C.S.; Feijó, M.B.D.S.; Marotta, P.L.L.D.S.; Mourão, S.C. Multiobjective optimization of the flaxseed mucilage extraction process using normal-boundary intersection approach. *Br. Food J.* **2021**, *123*, 3805–3823. [[CrossRef](#)]
37. Curve Fitting Toolbox for Use with Matlab. The MathWorks Inc., Natick. Available online: [http://cda.psych.uiuc.edu/matlab\\_pdf/curvefit.pdf](http://cda.psych.uiuc.edu/matlab_pdf/curvefit.pdf) (accessed on 14 November 2024).
38. Gómez-Salazar, J.A.; Patlán-González, J.; Sosa-Morales, M.E.; Segovia-Hernandez, J.G.; Sánchez-Ramírez, E.; Ramírez-Márquez, C. Multi-objective optimization of sustainable red prickly pear (*Opuntia streptacantha*) peel drying and biocompounds extraction using a hybrid stochastic algorithm. *Food Bioprod. Process.* **2022**, *132*, 155–166. [[CrossRef](#)]
39. Infantes, M.; Naranjo-Pérez, J.; Sáez, A.; Jiménez-Alonso, J.F. Determining the best Pareto-solution in a multi-objective approach for model updating. In Proceedings of the IABSE Symposium, Towards a Resilient Built Environment–Risk and Asset Management, Guimarães, Portugal, 27–29 March 2019; pp. 523–530.
40. Das, I. A preference ordering among various Pareto optimal alternatives. *Struct. Optim.* **1999**, *18*, 30–35. [[CrossRef](#)]

41. Foroughi, A.H.; Razavi, M.J. Multi-objective shape optimization of bone scaffolds: Enhancement of mechanical properties and permeability. *Acta Biomater.* **2022**, *146*, 317–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Ahmed, T.; Rana, M.R.; Maisha, M.R.; Sayem, A.S.M.; Rahman, M.; Ara, R. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. kurz) pulp by response surface methodology. *Heliyon* **2022**, *8*, e11109. [[CrossRef](#)]
43. Bouloumpasi, E.; Skendi, A.; Christaki, S.; Biliaderis, C.C.; Irakli, M. Optimizing conditions for the recovery of lignans from sesame cake using three green extraction methods: Microwave-, ultrasound-and accelerated-assisted solvent extraction. *Ind. Crops Prod.* **2024**, *207*, 117770. [[CrossRef](#)]
44. Nikolić, V.G.; Troter, D.Z.; Savić, I.M.; Gajić, I.M.S.; Zvezdanović, J.B.; Konstantinović, I.B.; Konstantinović, S.S. Design and optimization of “greener” and sustainable ultrasound-assisted extraction of valuable bioactive compounds from common centaury (*Centaureum erythraea* Rafn) aerial parts: A comparative study using aqueous propylene glycol and ethanol. *Ind. Crops Prod.* **2023**, *192*, 116070. [[CrossRef](#)]
45. Brahmi, F.; Blando, F.; Sellami, R.; Mehdi, S.; De Bellis, L.; Negro, C.; Haddadi-Guemghar, H.; Madani, K.; Makhlof-Boulekbatche, L. Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures. *Ind. Crops Prod.* **2022**, *184*, 114977. [[CrossRef](#)]
46. Medina-Torres, N.; Ayora-Talavera, T.; Espinosa-Andrews, H.; Sánchez-Contreras, A.; Pacheco, N. Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy* **2017**, *7*, 47. [[CrossRef](#)]
47. Kutlu, N.; Kamiloglu, A.; Elbir, T. Optimization of Ultrasound Extraction of Phenolic Compounds from Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Using Box–Behnken Design. *Biomass Convers. Biorefin.* **2022**, *12*, 5397–5408. [[CrossRef](#)]
48. Garcia-Mendoza, M.D.P.; Espinosa-Pardo, F.A.; Savoie, R.; Etchegoyen, C.; Harscoat-Schiavo, C.; Subra-Paternault, P. Recovery and antioxidant activity of phenolic compounds extracted from walnut press-cake using various methods and conditions. *Ind. Crops Prod.* **2021**, *167*, 113546. [[CrossRef](#)]
49. Assefa, A.D.; Saini, R.K.; Keum, Y.S. Extraction of antioxidants and flavonoids from yuzu (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) peels: A response surface methodology study. *J. Food Meas. Charact.* **2017**, *11*, 364–379. [[CrossRef](#)]
50. Babotă, M.; Frumuzachi, O.; Găvan, A.; Iacoviță, C.; Pinela, J.; Barros, L.; Ferreira, I.C.; Zhang, L.; Lucini, L.; Rocchetti, G.; et al. Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Thymus comosus* Heuff. ex Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential. *Ultrason. Sonochem.* **2022**, *84*, 105954. [[CrossRef](#)]
51. Dawidowicz, A.; Wianowska, D.; Olszowy, M. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chem.* **2002**, *131*, 1037–1043. [[CrossRef](#)]
52. Pekal, A.; Pyrzyńska, K. Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2015**, *66*, 58–62. [[CrossRef](#)]
53. Dawidowicz, A.L.; Olszowy, M. Mechanism change in estimating of antioxidant activity of phenolic compounds. *Talanta* **2012**, *97*, 312–317. [[CrossRef](#)]
54. Bolling, B.W.; Chen, Y.-Y.; Kamil, A.G.; Chen, C.Y.O. Assay dilution factors confound measures of total antioxidant capacity in polyphenol-rich juices. *J. Food Sci.* **2012**, *77*, H69–H75. [[CrossRef](#)]
55. Ferri, M.; Gianotti, A.; Tassoni, A. Optimisation of assay conditions for the determination of antioxidant capacity and polyphenols in cereal food components. *J. Food Compos. Anal.* **2013**, *30*, 94–101. [[CrossRef](#)]
56. Mondal, S.C.; Lee, W.H.; Eun, J.B. Ultrasonic extraction of reducing sugar and polyphenols from burdock (*Arctium lappa* L.) root waste and evaluation of antioxidants and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity. *Biomass Convers. Biorefin.* **2023**, *1*, 1–18. [[CrossRef](#)]
57. AlYammahi, J.; Hai, A.; Krishnamoorthy, R.; Arumugham, T.; Hasan, S.W.; Banat, F. Ultrasound-assisted extraction of highly nutritious date sugar from date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit powder: Parametric optimization and kinetic modeling. *Ultrason. Sonochem.* **2022**, *88*, 106107. [[CrossRef](#)]
58. Nuerxiati, R.; Abuduwaili, A.; Mutailifu, P.; Wubulikasimu, A.; Rustamova, N.; Jingxue, C.; Aisa, H.A.; Yili, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction, characterization and biological activities of polysaccharides from *Orchis chusua* D. Don (Salep). *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *141*, 431–443. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. da Silva Donadone, D.B.; Giombelli, C.; Silva, D.L.G.; Stevanato, N.; da Silva, C.; Bolanho Barros, B.C. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds and soluble sugars from the stem portion of peach palm. *J. Food Process. Preserv.* **2020**, *44*, e14636. [[CrossRef](#)]
60. Hu, H.; Zhao, Q.; Pang, Z.; Xie, J.; Lin, L.; Yao, Q. Optimization extraction, characterization and anticancer activities of polysaccharides from mango pomace. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *117*, 1314–1325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Wong, S.P.; Lai, P.L.; Jen, H.W.K. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem.* **2006**, *99*, 775–783. [[CrossRef](#)]
62. Othman, A.; Mukhtar, N.J.; Ismail, N.S.; Chang, S.K. Phenolics, flavonoids content and antioxidant activities of 4 Malaysian herbal plants. *Int. Food Res. J.* **2014**, *21*, 759–766.
63. Paixao, N.; Perestrelo, R.; Marques, J.; Camara, J. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chem.* **2007**, *105*, 204–214. [[CrossRef](#)]
64. Thoo, Y.Y.; Ho, S.K.; Liang, J.Y.; Ho, C.W.; Tan, C.P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Food Chem.* **2010**, *120*, 290–295. [[CrossRef](#)]

65. Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R.; Van Beek, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* **2004**, *85*, 231–237. [[CrossRef](#)]
66. Muflihah, Y.M.; Gollavelli, G.; Ling, Y.-C. Correlation Study of Antioxidant Activity with Phenolic and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1530. [[CrossRef](#)]
67. Woinaroschy, A.; Damşa, F. Multiobjective Optimization of Total Monomeric Anthocyanins and Total Flavonoids Contents in Ultrasound-Assisted Extraction from Purple Potato Tubers. *J. Food Process Eng.* **2017**, *40*, e12422. [[CrossRef](#)]
68. Rangaiah, G.P. *Multi-Objective Optimization: Techniques and Applications in Chemical Engineering*; World Scientific: Singapore, 2009.
69. Kao, G.K.; Jacobson, S.H. Finding preferred subsets of Pareto optimal solutions. *Comput. Optim. Appl.* **2008**, *40*, 73–95. [[CrossRef](#)]
70. Kasprzak, E.M.; Lewis, K.E. An approach to facilitate decision tradeoffs in Pareto solution sets. *J. Eng. Valuat. Cost Anal.* **2000**, *3*, 173–187.
71. Mattson, C.A.; Mullur, A.A.; Messac, A. Smart Pareto filter: Obtaining a minimal representation of multiobjective design space. *Eng. Optim.* **2004**, *36*, 721–740. [[CrossRef](#)]
72. Kasprzak, E.M.; Lewis, K.E. Pareto analysis in multiobjective optimization using the collinearity theorem and scaling method. *Struct. Multidiscip. Optim.* **2001**, *22*, 208–218. [[CrossRef](#)]
73. Messac, A.; Ismail-Yahaya, A.; Mattson, C.A. The normalized normal constraint method for generating the Pareto frontier. *Struct. Multidiscip. Optim.* **2003**, *25*, 86–98. [[CrossRef](#)]
74. Messac, A.; Mattson, C.A. Normal constraint method with guarantee of even representation of complete Pareto frontier. *AIAA J.* **2004**, *42*, 2101–2111. [[CrossRef](#)]
75. Gebreel, A.Y. The Best Compromise Solution for Multi-objective Programming Problems. *Int. J. Glob. Oper. Res.* **2023**, *4*, 189–204. [[CrossRef](#)]
76. Gebreel, A.Y. Solving the multi-objective convex programming problems to get the best compromise solution. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* **2021**, *15*, 17–29.
77. Hancock, B.J.; Mattson, C.A. The smart normal constraint method for directly generating a smart Pareto set. *Struct. Multidiscip. Optim.* **2013**, *48*, 763–775. [[CrossRef](#)]
78. Machuca, E.; Mandow, L.; Galand, L. An evaluation of best compromise search in graphs. In *Conference of the Spanish Association for Artificial Intelligence, Proceedings of the 15th Conference of the Spanish Association for Artificial Intelligence, CAEPIA 2013, Madrid, Spain, 17–20 September 2013*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2013; pp. 1–11. [[CrossRef](#)]
79. Wang, H.; Olhofer, M.; Jin, Y. A mini-review on preference modeling and articulation in multi-objective optimization: Current status and challenges. *Complex Intell. Syst.* **2017**, *3*, 233–245. [[CrossRef](#)]
80. Reynoso-Meza, G.; Sanchis, J.; Blasco, X.; Garcia-Nieto, S. Physical programming for preference driven evolutionary multi-objective optimization. *Appl. Soft Comput.* **2014**, *24*, 341–362. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

**Oświadczenia doktoranta oraz współautorów dotyczących ich wkładu w przygotowanie opublikowanych prac naukowych**

## Załącznik nr 7 – Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Michał Pławgo



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

### Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Pławgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Objective Optimization of the Green Extraction Conditions of Bio-Active Compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: Pareto Optimality and Compromise Solutions for Process Management. *Agricultural Engineering*, 28(1) 137-165 mój udział (70%) polegał na koncepcji, opracowaniu metod, zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań naukowych, redakcji manuskryptu, wykorzystaniu oprogramowania, walidacji, analiza danych i wizualizacji.

 Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Michał Pławgo



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Pławgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. Processes, 12(5) mój udział (70%) polegał na koncepcji, opracowaniu metod, zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań naukowych, redakcji manuskryptu, wykorzystaniu oprogramowania, walidacji, analiza danych i wizualizacji.

 Podpis

## Załącznik nr 7 - Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Michał Pławgo



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

### Oświadczenie o współautorstwie

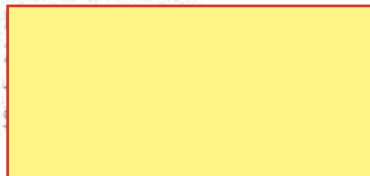
Niniejszym oświadczam, że w pracy Pławgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. Processes, 12(2), 275 mój udział (70%) polegał na koncepcji, opracowaniu metod, zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań naukowych, redakcji manuskryptu, wykorzystaniu oprogramowania, walidacji, analiza danych i wizualizacji.

 Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Sławomir Kocira



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Objective Optimization of the Green Extraction Conditions of Bio-Active Compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: Pareto Optimality and Compromise Solutions for Process Management. Agricultural Engineering, 28(1) 137-165 mój udział (20%) polegał na koncepcji, redakcji manuskryptu, walidacji, wizualizacji, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

 Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Sławomir Kocira



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. *Processes*, 12(2), 275 mój udział (20%) polegał na koncepcji, redakcji manuskryptu, walidacji, wizualizacji, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

  
..... Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Lublin, 10.06.2024 r.

Sławomir Kocira



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. Processes, 12(5), 1026 mój udział (20%) polegał na koncepcji, redakcji manuskryptu, walidacji, wizualizacji, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

  
..... Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Czeskie Budziejowice, 12.06.2024 r.

Andrea Bohata



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Objective Optimization of the Green Extraction Conditions of Bio-Active Compounds from a *Levisticum officinale* WDJ Koch: Pareto Optimality and Compromise Solutions for Process Management. Agricultural Engineering, 28(1) 137-165 mój udział (10%) polegał na poprawie manuskryptu, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

  
..... Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Czeskie Budziejowice, 12.06.2024 r.

Andrea Bohata



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Optimizing Microwave-Assisted Extraction from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Pareto Optimal Solutions. Processes, 12(5), 1026. mój udział (10%) polegał na poprawie manuskryptu, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

  
..... Podpis

## Oświadczenie o współautorstwie

Czeskie Budziejowice, 12.06.2024 r.

Andrea Bohata



Rada Dyscypliny Inżynieria Mechaniczna  
Uniwersytetu Przyrodniczego Lublinie

## Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Plawgo, M., Kocira, S., Bohata, A. (2024). Multi-Criteria Optimization Conditions for the Recovery of Bioactive Compounds from *Levisticum officinale* WDJ Koch Roots Using Green and Sustainable Ultrasound-Assisted Extraction. Processes, 12(2), 275 mój udział (10%) polegał na poprawie manuskryptu, nadzorze nad badaniami oraz administrowaniu.

  
..... Podpis