

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĢEOGRĀFIJAS UN ZEMES ZINĀTŅU FAKULTĀTE
VIDES ZINĀTNES NODAĻA

PARAZĪTISKAS SĒNES-ČAGAS (*INONOTUS OBLIQUUS*)
EKSTRAKTVIELAS UN TO IZMANTOŠANAS POTENCIĀLS
BIOEKONOMIKĀ

BAKALaura DARBS

Autors: Kamila Morozova
Stud. apl. km14054
Darba vadītājs: Māris Kļaviņš,
prof., Dr. habil. chem.

RĪGA 2021

ANOTĀCIJA

Augu izmantošanai ārstnieciskos nolūkos ir liela nozīme cilvēka dzīvē. Augi tiek lietoti dažādu slimību ārstēšanas gadījumos un profilaksei.

Inonotus obliquus, kas pazīstams arī kā čaga, ir parazitiska sēne, kas aug uz bērziem un ko tradicionālajā medicīnā izmanto dažādu veselības problēmu ārstēšanai. Pēc daudziem klīniskajiem pētījumiem, kurus veica pagājušā gadsimta vidū, šo sēņu vērtīgās īpašības tika pierādītas un līdz ar to tās atzīst arī mūsdienu medicīnā.

Darbā tiks apskatītas parazitiskās sēnes – čagas (*Inonotus obliquus*) ekstraktvielas, kas pozitīvi ietekmē organismu. Sēnei piemīt antibakteriālas, pretsāpju, pretiekaisuma īpašības, kā arī tā spēj spēcīnāt imunitāti. Bakalaura darba mērķis ir pētīt čagas ekstraktvielas, to iegūšanas iespējas un to iespējamās izmantošanas jomas bioekonomikā.

Darba teorētiskajā daļā tika apkopota zinātniskā literatūra par parazitiskas sēnes-čagas (*Inonotus obliquus*) ekstraktvielām, to izmantošanas iespējām, kā arī potenciālo izmantošanu bioekonomikas attīstībai. Pētījuma ietvaros tika pētītas iespējas iegūt čagas ūdens / etanola ekstraktus, mainot ekstrakcijas procesa galvenos parametrus (ekstrakcijas temperatūru, laiku un čagas iesvara daudzumu) un nosakot kopējo ekstraktvielu, polifenolu un melanoīdu iznākumu.

Lai noteiktu ekstraktvielu daudzumu, pētījumā tika izmantota Folina-Šikoltē (Folin-Ciocalteu) un ultraskaņas metode, kā arī ultraskaņas metodei tika veikta ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM - atbildes (reakcijas) virsmas metodi, kas ļauj vienlaicīgi pētīt vairāku faktoru iedarbību uz ekstrakciju.

Atslēgas vārdi: čaga, ārstnieciskā sēne, ekstrakcija, polifenoli, melanoīdi, veselība.

ANNOTATION

The use of plants for medical purposes takes great importance in human life. Plants are used in many treatments, as well as to prevent various diseases.

Inonotus obliquus, also known as chaga, is a parasitic mushroom that grows on birch trees and is used in traditional medicine to treat various health problems. After numerous clinical studies carried out in the middle of the last century, the valuable properties of these mushrooms were proven. Therefore they are also recognised in a modern medicine.

In this work, the extractives of the parasitic mushroom, chaga (*Inonotus obliquus*), which have a positive effect on the body, will be discussed. The mushroom possesses antibacterial, pain-relieving, anti-inflammatory properties and is also able to boost immune system. The aim of the bachelor thesis is to study the extractives of chaga, possibilities of obtaining them and their potential applications in the bioeconomy.

In the theoretical part of the thesis, the scientific literature on extractives of the parasitic mushroom chaga (*Inonotus obliquus*), their uses and potential applications for the development of the bioeconomy was summarised. The study investigated the possibility of obtaining water and ethanol extracts of chaga by varying the main parameters of the extraction temperature, time and chaga weight, and determining the total content of extractive substances, polyphenols and melanoids yield.

The Folin-Ciocalteu and ultrasonic extraction methodology were used to determine the amount of extractives, and the ultrasonic method was optimised for extraction conditions using the Response Surface Methodology (RSM), which allows the simultaneous study of the effects of several factors on extraction.

Key words: chaga, medicinal mushroom, extraction, polyphenols, melanoids, health.

SATURS

IEVADS	5
1. LITERATŪRAS APSKATS	7
1.1. Čaga un tās izmantošana etnomedicīnā	7
1.1.1. Sēņu kultivēšana un izmantošana.....	7
1.1.2. Čagas (<i>Inonotus obliquus</i>) raksturojums.....	8
1.1.3. Čagas sastāvs.....	9
1.1.4. Čagas izmantošana	11
1.2. Čagas izmantošanas potenciāls bioekonomikā	17
1.2.1. Bioekonomikas aktualitāte pasaulē	17
1.2.2. Bioekonomikas attīstība Latvijā.....	18
1.2.3. Biomasa no mežiem	19
1.2.4. Konkurējošie biomasas izmantošanas veidi.....	19
1.3. Ekstrakcijas un ekstraktu izpētes metodes.....	21
1.3.1. Polifenoli	22
1.3.2. Melanoīdi	23
2. MATERIĀLI UN METODEDES.....	24
2.1. Čagas parauga raksturojums	24
2.2. Izmantotie reaģenti	25
2.3. Izmantotie trauki un aparatūra	25
2.4. Čagas paraugu sagatavošana.....	25
2.5. Kopējo polifenolu koncentrācijas noteikšana	26
2.6. Melanoīdu koncentrācijas iegūšana	27
2.7. Ultraskaņas ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM	28
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA	30
3.1. Čagas ekstraktvielu iznākuma atkarība mainot vienu faktoru	30
3.2. Polifenolu iznākuma atkarība mainot vienu ekstrakcijas faktoru	33
3.3. Melanoīdu iznākuma atkarība mainot vienu faktoru	35
3.4. Ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM	37
3.5. Čagas ekstraktvielu izmantošanas potenciāls	40
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	43

IEVADS

Mūsdienās arvien vairāk pieaug pieprasījums un interese par produktiem, kas tiek ražoti no dabiskām izejvielām, turklāt tautas medicīnā izmantojamās metodes ir kvalitatīvas, lētas un efektīvas.

Parazītiska sēne čaga (*Inonotus obliquus*) ir plaši izplatīta visā Eiropā, Āzijā un Ziemeļamerikā. Tradicionāli tā tika izmantota, lai ārstētu kuņģa un zarnu trakta vēzi, sirds un asinsvadu slimības un diabētu jau kopš 12. gadsimta. Melnā bērza čagas sēne ir viena no daudzpusīgākajām tradicionālajām zālēm, ko lieto pret dažādām slimībām. Pirms tās lietošanas ir svarīgi noteikt labvēlīgās īpašības, kas raksturīgas šai sēnei.

Čaga ir pazīstama ar savu sastāvu. Tā satur vielas, kas labvēlīgi ietekmē cilvēka ķermeni slimību ārstēšanā un profilaktiskos nolūkos. Organiskās skābes, kuras satur čaga veicina ātru un efektīvu toksīnu izvadīšanu no organisma. Tie uzlabo cilvēka vispārējo stāvokli. Augļu ķermenī esošie fenoli novērš audzēju attīstību onkoloģijā.

Čaga ir bagāta ar mikroelementiem, kas pozitīvi ietekmē organismu. Sēnei piemīt antibakteriālas, pretsāpju, pretiekaisuma īpašības, kā arī tā spēj spēcīnāt imunitāti. Čagas preparātiem ir spēja palīdzēt vēža audzēja šūnām nebūt tik agresīvām, mazināt metastāžu veidošanos. Hronisku slimību gadījumā tā lietošana palīdz uzlabot vispārējo labsajūtu.

Čaga jau sen ir pazīstama ar savām ārstnieciskajām īpašībām pret infekcijas un iekaisuma slimībām, dermatoloģijas patoloģijām un neiralģiju. Šis produkts ir universāls un efektīvs, ko apstiprina paši pacienti, kas cieš no kuņģa-zarnu trakta, sirds, aknu u.c. slimībām.

Dažādās interneta vietnēs un žurnālos ir pieejamas publikācijas par čagas izmantošanu veselības stiprināšanai un uzlabošanai. Tiek publicēti ieteikumi par čagas ievākšanu, žāvēšanu un uzglabāšanu, sniegtas receptes tēju, novārījumu un uzlējumu pagatavošanai, kā arī to iedarbību uz cilvēka organismu.

Tautas medicīna ir balstīta uz pieredzi, kas tika nodota no paaudzes paaudzē, taču mūsdienās tā kļūva par pamatu zinātniskai medicīnai un bioekonomikas ilgtspējīgai attīstībai, kuras pamatā ir maksimāla izejmateriālu izmantošana, atbilstošas inovācijas un veiksmīga publiskā sadarbība un izpratne.

Bakalaura darbs sastāv no 47 lappusēm un satur 22 attēlus un 1 tabulu.

Bakalaura darba mērķis ir pētīt čagas ekstraktvielas, to iegūšanas iespējas un to iespējamās izmantošanas jomas bioekonomikā.

Bakalaura darba uzdevumi:

- Apkopot informāciju par čagas izmantošanu etnomedicīnā;
- Pētīt čagas ekstraktvielu iegūšanas iespējas;
- Raksturot čagas ekstraktvielas;
- Izvērtēt čagas ekstraktvielu izmantošanas iespējas.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Čaga un tās izmantošana etnomedicīnā

1.1.1. Sēņu kultivēšana un izmantošana

Ir zināmas 14 000 sēņu sugas, no kurām 3000 ir drošas lietošanai pārtikā. Sēnes ir bagātīgs uzturvielu avots, īpaši olbaltumvielu, uztura šķiedru, minerālvielu (Na, K un P), kā arī vitamīnu (B, C un D) avots.

Agrīnā sēņu kultivēšana notika Āzijā, t.i., Ķīnā - 600. gadā. Eiropā pirmās kultivētās sēnes tika ieviestas Francijā 17. gadsimtā. 1900. gadā sēne pirmo reizi tika audzēta Amerikas Savienotajās Valstīs (El Sheikha et al. 2018).

Ir novērots, ka pasaulē kultivēto, ēdamo sēņu un trifeļu ražošana pasaulē pēdējo 20 gadu laikā ir palielinājusies vairāk nekā trīs reizes, 2019. gadā sasniedzot 11,8 miljonus tonnu. No šīs summas vislielākais īpatsvars ir Āzijai, aptuveni 73,9%, bet Eiropai - aptuveni 18,2%. Nozīmīgākie ražotāji ir Ķīna, Japāna, Amerikas Savienotās Valstis, Nīderlande, Itālija un Polija (FAOSTAT 2021).

Ir zināmas apmēram 2000 sēnes, kurām piemīt ārstnieciskās īpašības. Mūsdienās sēnes kļūst arvien pieprasītākas to iespējamās labvēlīgās ietekmes uz cilvēku veselību dēļ. No medicīniskā viedokļa sēnes ir vērtīgi produkti, jo tajās ietilpst bioaktīvi savienojumi ar augstu medicīnisko vērtību, piemēram, lektīni, polisaharīdi, fenoli un polifenoli, terpenoīdi, ergosterīni un gaistošie organiskie savienojumi. Šo biomolekulu pozitīvā ietekme uz veselību ietver dažādas īpašības, piemēram, pretmikrobu, hepatoprotektīvos, antioksidantus, radikāļu attīrīšanas, pretdiabēta, antihiperholesterinēmijas, pretaudzēju un imūnmodulējošo aktivitāti. Arī vairāki pētījumi ir atklājuši, ka dažādas sēņu sugas ir noderīgas daudzu hronisku slimību, piemēram, sirds un asinsvadu, vēža, cukura diabēta un neirodeģeneratīvo slimību, ārstēšanai un profilaksei (El Sheikha et al. 2018).

Latvijā ir sastopamas vairāk nekā 4000 sēņu sugu, taču lielāko daļu no tām var saskatīt tikai ar mikroskopa palīdzību (Latvijas Valsts Meži 2013).

Attīstoties tehnoloģijām, tirgū ir tiek piedāvāti daudz sēņu produktu. Produktu skaits, kuri nodrošina daudzfunkcionālu iedarbību, nepārtraukti paplašinās, tāpēc ēdamajām sēnēm ir milzīga priekšrocība un tirgus potenciāls (El Sheikha et al. 2018).

Pateicoties iepriekšminētajai sēņu nozīmei cilvēku dzīvē, ir pieaudzis pieprasījums pēc to izcelsmes izsekošanas un pētījumiem (Мурох, Стекольников 1990; El Sheikha et al. 2018).

1.1.2. Čagas (*Inonotus obliquus*) raksturojums

Čaga ir parazitiska sēne (1.1. *attēls*), kas attīstās uz bērziem, kā arī retāk uz citu koku stumbriem, piemēram, baltalkšņiem, apsēm, kļavām, pīlādžiem (Rubine, Eniņa 2004; Ladiniece 1996; Latvijas Valsts Meži 2015).

Bieži vien čaga tiek saukta par melno bērza piepi, taču būtībā tā nav piepe, bet gan šīs parazitiskās sēnes izraisīts izaugums. Sēnes vairošanās notiek tikai pēc koka bojāejas. Tad čaga pretējā stumbra pusē zem mizas sāk veidot augļķermeni (Rubine, Eniņa 2004; Latvijas Valsts Meži 2015). Sēne vairojas ar sporu palīdzību, kuras nokļūst pa gaisu uz citiem kokiem un nostiprinās vietās, kur kokam ir mizas bojājumi. Tur izveido micēliju un palēnām iurbjas kokā radot puvi. Pēc 3-4 gadiem tajā vietā izaug jauna bērza čaga (Griķīts 2014; Ladiniece 1996). Kad tā izaug, pārplīstot koka mizai, atsedzas himenofors ar sporām, kas nobriest un ir gatavas izplatīties nākamo saimniekkoku mizas ievainojumos un plaisās (Rubine, Eniņa 2004; Latvijas Valsts Meži 2015).

Čaga aug lēni, iesūcot un koncentrējot sevī gatavos organiskos savienojumus no koka, noārdot dzīvu koksni (Melnā spulgpiepe- čaga bez dat.; Latvijas Valsts Meži 2015). 10- 20 gadu laikā čagas veidojuma svars ir aptuveni 3 kilogrami (Latvijas Valsts Meži 2015).



1.1. *attēls*. Čaga (ZS "Doktus" S. a.)

Sēnes izraisītais veidojums uz koka izskatās kā liels izaugums ar neregulāru formu un grumbuļainu virsmu (0,5- 1,5 m garumā un 10- 15 cm biezumā), stumbra ārpusē tā ir saplaisājusi,

melna vai tumši brūna, bet iekšpusē tā ir dzeltenbrūna, līdzīga koksnei, taču ir mīkstāka un nedaudz gaišāka (Rubine, Eniņa 2004; Gründemann et al. 2020; Latvijas Valsts Meži 2015). Nozāgējot čagas veidojumu no koka, var novērot ka tai ir trīs slāņi (1.2. *attēls*). Ārējais slānis ir vistumšākais, kā arī tas ir ciets. Vidējais slānis ir brūns un porains, tādēļ ir visapjomīgākais. Iekšējais slānis ir irdens un rūsgans, tas iesniedzas koka stumbrā. Čagas veidojumi ir unikāli, tie var izaugt ar dažāda izmēra un to virspusē var būt dažādu formu plaisas (Ančevska 2020; Latvijas Valsts Meži 2015).



1.2. *attēls*. Čagas slāņi (Latvijas valsts meži 2021)

Latvijā čaga ir sastopama diezgan bieži, tā ir atrodama ne tikai uz veciem kokiem, bet arī uz jauniem. Bērza čagas uzaugumi ir neauglīgi (veģetatīvais ķermenis), augļķermenis atrodas zem bērza mizas. Ticis cauri mizai tas izplata sporas lielos daudzumos. Vēlāk šīs daļas izkalst un saplaisā, beigās atkrīt (Griķīts 2014; Ladziniece 1996).

Čaga tiek vākta visu gadu galvenokārt no nocirstiem kokiem, kas auguši sausās vietās. To nozāgē vai nocērt ar cirvi pie pamata. Noņemot koksnes paliekas, čagas irdeno daļu sacērt 3- 10 cm lielos gabalos un žāvē. Vasarā čagu žāvē parastos apstākļos, bet ziemā 60°C temperatūrā nodrošinot labu ventilāciju (Rubine, Eniņa 2004).

Bērza čagu var uzglabāt līdz 2 gadiem un tad tā pakāpeniski zaudēs savu efektivitāti (Griķīts 2014).

1.1.3. Čagas sastāvs

Čagas sastāvā esošās vielas būtiski atšķiras no citu sēņu sastāvā esošām vielām (Shashkina et al. 2006). Čaga satur fenolaldehīdu, polifenolus, oksifenolkarbonskābi un tās hinonu, kā arī

humīnvielām radniecīgus savienojumus - čagas skābi (60%), polisaharīdus (līdz 8%), triterpēnskābes, brīvus fenolus, līdz 7,35% minerālvielu, īpaši mikroelementus, tādus kā mangānu, cinku, boru, varu, alumīniju, selēnu un citus (Rubine, Eniņa 2004).

Čagai ir raksturīgs lielāks pelnu saturs, tas svārstās no 12 līdz 15 %, kas ir 2-3 reizes lielāks nekā tai līdzīgām sēnēm. Dominējošās pelnu komponentes ir kālija oksīds (50%), nātrija oksīds (9-13%) un mangāna oksīds (1,2%) (Shashkina et al. 2006).

Čagā dominē skābekli saturoši savienojumi, kuri sastāda aptuveni no 40 līdz 45% no ekstraktvielu daudzuma. Čagas sastāvā ietilpst 0,4% slāpekļa, kas ietilpst olbaltumvielu sastāvā. 40% šo olbaltumvielu veido tādas aminoskābes, kā glutamīnskābe, glicīns, asparagīnskābe un citas. Čagas ekstraktos tika identificēti lektīni, kas spēj saistīt ogļhidrātus, kā arī piedalīties to transportēšanā. Tādā gadījumā cukura līmenis asinīs tiek samazināts (Shashkina et al. 2006; Кузнецова 2016).

Čagai ir raksturīgs augsts ekstrahējamo vielu saturs ūdenī, no kuriem vairāk nekā puse (50-60% no sausā ekstrakta atlikuma vai 25% no sausā materiāla sākotnējā svāra) ietilpst ekstraktvielu krāsu veidojošā kompleksā (Vuolo et al. 2019).

Bērza čagā ir apmēram 20% ūdenī šķīstoši pigmenti, kuri veido hromogēnu polifenolkarbonātu kompleksu, pterīni (pamats pteridīniem); polisaharīdi (6-8%), agaricīna un humīnveidīga čagas skābe (līdz 60%); organiskās skābes 0,5-1,3%; skābeņskābe, etiķskābe, skudrskābe, vaniļskābe, ceriņskābe, n-hidroksibenzoskābe; triterpīna skābes no tetracikliskajiem triterpēniem; lipīdiem (di- un triglicerīdi); steroīdu vielas (sterīni- ergosterols, un tetracikliskie triterpēni- lanasterols un inotodiols); lignīns, celuloze, brīvie fenoli, flavonoīdi, gumijviela peucedīns, sveķi, nezināmu alkoloīdu pēdas; sārmi (12,3%), kuri bagāti ar mangānu; citi mikroelementi (Griķīts 2014; Shashkina et al. 2006).

Čagas sastāvā ietilpst tādi bioloģiski aktīvie savienojumi kā fenoli. Fenola savienojumi ir visizplatītākie antioksidanti cilvēka uzturā. To strukturālo daudzveidību, raksturo atšķirīgi izvietotas fenola hidroksilgrupas. Pēc fenola strukturālajiem elementiem, savienojumi tiek grupēti un klasificēti kā vienkāršie fenoli, fenolskābes, flavonoīdi, ksantoni, stilbēni un lignāni. Katrai grupai ir atšķirīgi darbības mehānismi, kas piešķir savienojumiem antioksidanta īpašības (Vuolo et al. 2019).

Parazītiskās sēnes sastāvā ietilpst lignīni, kas ir galvenie šūnu sienīņu komponenti, tie ir polimēri, kas sastāv no daudzām oglekļa un ēteru saitēm. Daži polisaharīdi augu šūnu sienīņās var

saistīties ar lignīnu, veidojot lignīna – ogļhidrātu kompleksus. Šiem kompleksiem piemīt pret HIV, pretvīrusu un pretiekaisuma aktivitāte (Niu et al. 2016).

1.1.4. Čagas izmantošana

Čaga galvenokārt sastopama 45°N- 50°N platuma grādos. Kopš 12. gadsimta tā tradicionāli tiek izmantota Krievijā, Polijā un lielākajā daļā Baltijas valstu kuņģa-zarnu trakta traucējumu (piemēram, gastrīta, čūlu, kuņģa vēža), sirds un asinsvadu slimību, tuberkulozes, diabēta un ādas problēmu ārstēšanai. To dzēra kā tēju vai lokāli lietoja kā “ziepjūdeni”, kurā sākumā sēni ievietoja tieši ugunī un pēc tam iemaisīja karstā ūdenī. Iegūtais melnais ūdens tika izmantots ziepju vietā. Uzskatīja, ka tam piemīt spēcīga dezinficējoša īpašība. Saskaņā ar leģendu, šis čagas uzlējums izārstēja krievu hercogu Vladimīru Monomahu no lūpu vēža (Cui et al. 2005; Shikov et al. 2014).

Čaga dažādās kombinācijās ar citiem ārstniecības augiem ir izmantota kuņģa un divpadsmitpirkstu zarnas čūlu ārstēšanai un dažādām gastrīta formām. Čagas tēja palielina vispārējo izturību, mazina sāpes un tiek izmantota sirds, kuņģa un aknu slimību ārstēšanai (Shikov et al. 2014). Reģionos, kur plaši lietoja čagas tēju, vēža sastopamība bija mazāka nekā blakus esošajos reģionos. Dzēriens bija īpaši populārs mednieku un mežsaimnieku vidū, kuri uzskatīja, ka tas nomierina izsalkumu, samazina nogurumu un palielina darba spējas (Мурох, Стекольников 1990; Cui et al. 2005).

Klīniskie dati uzrāda, ka, lietojot čagu ilglaicīgā periodā, tā sniedz labvēlīgu ietekmi pacientiem ar vēža III - IV stadiju neatkarīgi no audzēja atrašanās vietas. Lielākajai daļai pacientu čagas regulāra lietošana 3 līdz 4 nedēļu laikā veicināja sāpju samazināšanos (Shikov et al. 2014; Shashkina et al. 2006).

Čaga joprojām ir ļoti populāra Krievijā. To parasti lieto kā tēju vai kā etanola ekstraktu, kas Krievijā ir pieejams kā bezrecepšu produkta “Befungin” sastāvdaļa (Cui et al. 2005). Befungin satur etanola (10%) čagas ekstraktu (Shikov et al. 2014).

Čagas sēnes iedarbību apliecina *in vivo* un šūnu kultūrā balstītu pētījumu bāze, īpaši attiecībā uz tās pretvēža iedarbību. Melanīni, kas izgulsnējās čagas ūdens ekstraktos, uzrāda antioksidantu aktivitāti. Polisaharīdi ir iesaistīti gan tiešā, gan netiešā veidā pretvēža aktivitātes veidošanā, galvenokārt stimulējot imūnsistēmu. Pētījumi ir parādījuši, ka čagā esošie polisaharīdi kavē migrāciju un invāziju audzēja šūnās (Shikov et al. 2014; Cui et al. 2005).

Citā pētījumā atklāja, ka papildus pretvēža aktivitātēm, iekšķīgi ievadīts čagas ūdens ekstrakts atvieglo akūtu iekaisumu, kā arī čagas ekstraktiem var būt antialerģiska iedarbība (Cui et al. 2005).

Pēdējo 40 gadu laikā ir sistemātiski palielinājies *in vivo* un *in vitro* pētījumu skaits par dažādu sēņu ārstnieciskajām īpašībām. Līdz šim daudzos pētījumos ir aprakstīts čagas veselību veicinošas īpašības, piemēram, dezoksiribonukleīnskābes (DNS) bojājumu aizsardzība pret oksidatīvo stresu, pretiekaisuma, pretnociceptīvās un pretaudzēju aktivitātes.

Līdz šim ir publicēts liels skaits zinātnisku rakstu, kuros, izmantojot 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilhidrāta (DPPH) metodi, tiek pētītas ekstraktu brīvo skābekļa radikāļu jeb reactive oxygen species (ROS) attīrīšanas īpašības. Tomēr šie raksti parasti koncentrējās uz ekstraktu ķīmiskajām īpašībām, nenorādot ne *in vitro*, ne *in vivo* pētījumus ar organismiem. Tikai dažos pētījumos tika novērtētas antioksidantu īpašības un antioksidantu enzīmu aktivitāte vai ekspresija pēc čagas stimulēšanas šūnu kultūras modelī (Szychowski et al. 2018; Shikov et al. 2014).

“Smagi slimiem pacientiem čagas novārijumi un nostādinājumi īpaši efektīvi noņem sāpju simptomus un uzlabo to stāvokli un pašsajūtu. Ārstēšanās kursu ilgums ir 3-5 mēnešu garumā, taču starp tiem ir nepieciešams pārtraukums, kā minimums 7-10 dienas. Ir ļoti svarīgi saprast, ka bērzu čaga nav zāles pret onkoloģiju, čagai ir spēcīgas antioksidanta īpašības un tā var palīdzēt profilaksei, lai onkoloģijas nerastos, kā arī, lai uzlabotu vēža slimnieku veselības stāvokli.

Čagu pielieto, kā simptomātisku līdzekli onkoloģisku saslimšanu gadījumos, tā uzlabo onkoloģiski slimo cilvēku kopējo stāvokli, tāpat to pielieto kuņģa –zarnu trakta slimību ārstēšanai. Čagas preparātus lieto arī bezmiega gadījumā, lai nomierinātu nervu sistēmu, sakārtotu vielmaiņu, vai palielinātu ķermeņa noturību pret infekciju saslimšanām.

Preparātus, kurus satur bērzu čaga, izraksta cilvēkiem, kuriem ir konstatēta ekzēma, atopiskais dermatīts, eroderija. Brūču, traumu, apdegumu, apsaldējumu, ādas iekaisumu, pubertātes pūtīšu, herpes vīrusa (ādas un gļotādu), papilomas vīrusa, kandidomas, leukoplākijas, varikozes gadījumā (Griķīts 2014).”.

Bērza čagas saturošiem preparātiem ir plašs farmokoloģiskās aktivitātes spektrs un tiek izmantots, kā aktīvais biogēnais stimulātors. Lietojot šos preparātus iekšķīgi vai konkrētā vietā, tie palielina organisma pretošanos spēju pret dažādām infekcijām, lieliski noder iekaisumu ārstēšanā, uzlabo vielmaiņu, aktivizē vielmaiņu smadzeņu audos, atjauno bremsētu fermentu sistēmu darbību, paaugstina novājināto orgānu un ķermeņa daļu funkcionalās īpašības (Griķīts 2014; Shashkina, et al. 2006).

Hromogēnais polifenolkarbonu komplekss arī samazina onkoloģisko aktivitāti. Fenolu savienojumi regulē citoplazmisko un mitohondriālo aktivitāti. Onkoloģiskās šūnas ir tieši atkarīgas no glikolīzes, tad ietekmējot glikolīzes procesus, tie negatīvi ietekmē vēža šūnu attīstību (Shikov et al. 2014).

“Čagu lieto arī, lai ārstētu radiācijas leukopēniju, kā arī tā tiek pielietota staru terapijas laikā, lai mazinātu sekas. Tā palīdz atjaunot asins sastāvu un uzlabot asinsriti.

Čagas preparātiem ir arī spazmolītiska, urīndzenoša, antimikrobu, reparatīva iedarbība. Tā uzlabo kuņģa un zarnu trakta darbību, palīdz ārstēt kuņģa un 12-pirkstu zarnu čūlu un ir izteikti efektīvs gastrīta gadījumos. Sēnes novārījums samazina arteriālo un venozo asins spiedienu, samazina pulsa biežumu, regulē sirds asinsvadu un elpošanas sistēmas darbību, stimulē asins rādītājus (paaugstina leukocītu līmeni).

Bērza čagas iekšējās daļas novārījumam piemīt hipoglikēmiskas īpašības, taču der atcerēties, ka sēnes ārējai daļai šādu īpašību nav. Maksimālais glikozes līmeņa samazinājums asinīs ir vērojams pēc 1,5-3h, pēc novārījuma lietošanas. Cukura līmenis asinīs samazinās par 15,8-29,9% (Griķīts 2014).”.

Ārēji lietojot bērza čagu, tai ir pretiekaisuma, dziedējošas un atsāpinošas īpašības. Tā aizsargā ādu no ārējās vides ietekmes, tai skaitā no vīrusu un sēnīšu infekcijām, noņem tūsku un veicina ādas atjaunošanos (Griķīts 2014; Seljutina 2016).

Čagas klīniskās iedarbības novērojumus veica uz IV stadijas vēža slimniekiem, kuriem nevar veikt radikālas ķirurģiskas iejaukšanās un staru terapiju, tamdēļ ka vēzis, iespējami, ir ieaudzis blakus orgānos un radījis metastāzes. Lietojot bērzu čagu, slimniekiem uzlabojās kopējais veselības stāvoklis un pašsajūta, palielinājās apetīte, nostabilizējās kuņģa- zarnu trakts, mazinājās nogurums, pazuda problēmas ar ādas termoregulāciju un sviedru izdali, paaugstinājās hormonālā estrogēnu aktivitāte (Cui et al. 2005).

“Ilglaicīgi lietojot bērzu čagu 50% no slimniekiem uzlabojās perifēriskās asins rādītāji (paaugstinājās hemoglobīns, eritrocīti, samazinājās eritrocītu grimšanas ātrums un leukocītu skaits, leukocitozes gadījumā). Pacienti uzlabojās sirds asinsvadu sistēmas funkcija, fermenti bija tuvu normai, samazinājās sāpju simptomi, atgriezās darba spējas. Tika novērots, ka audzējs sāka augt lēnāk un samazinājās metastāzes attīstības ātrums. Pēc konkrētā pētījuma uz pacientiem, tie kuri lietoja čagu, to dzīves ilgums paildzinājās.

Balstoties uz šiem pētījumiem, onkologi no N. N. Blohina vārdā nosauktā Nacionālās izpētes institūta (Maskava), izstrādāja medicīniskus preparātus uz čagas bāzes, kurus veiksmīgi izmanto vēl šodien un ne tikai onkologi tos pielieto uz saviem pacientiem.

Kā palīglīdzekļi čagu izmanto arī otorinolaringologi, rīkles vēža ārstēšanai (izmanto inhalāciju veidā), jo ar tā palīdzību atjaunojas rīšanas funkcija, samazinās balss aizsmakums, uzlabojas elpošana, samazinās iekaisuma procesi (Griķīts 2014; Rubine, Eniņa 2004).”.

Čagai salīdzinājumā ar ķīmijas terapijām ir viegla panesamība un toksiskuma neesamība. Bērza čagas preparāti ir ievērojami arī kā aktīvi biostimulatori, tie pastiprina organisma aizsargfunkcijas, stimulē centrālo nervu sistēmu un uzlabo vielmaiņu. Bērza čaga stimulē arī vielmaiņu procesus smadzeņu audos, kas izpaužas, kā bioelektrisko procesu aktivizācija smadzeņu garozā. Atjauno organisma fermentu aktivitāti, uzlabo sirds darbību un elpceļu procesus. Ir novērota arī pozitīva ietekme uz psoriāzes ārstēšanu (Griķīts 2014; Shashkina, et al. 2006).

Čaga ietilpst sekojošu preparātu sastāvā:

- **“Befungin (1.3. attēls):** tiek ražots koncentrēta šķīduma veidā ar čagas ekstraktu. To lieto kuņģa-zarnu trakta un onkoloģijas slimībām. Tas palīdz uzlabot ķermeņa vispārējo stāvokli. Tam pievieno kobalta sāļus.



1.3. attēls. Befungin (InternetAptieka.lv 2021)

- **Chagalyux:** BAA, polifenolu avots un papildu B vitamīnu un askorbīnskābes avots. To lieto kā vispārēju toniku. Stimulē imūnsistēmu, palīdz ar kuņģa-zarnu trakta un aknu darbības traucējumiem.

- **"Chaga-balzams"**: līdzekļi ārējai lietošanai. Pretiekaisuma, ārstnieciska ietekme. To lieto ādas bojājumu ārstēšanai.
- **"Chaga" (krēms-balzams)** (1.4. attēls): līdzeklis ārīgai lietošanai ar radikulītu, podagru, osteohondrozi utt. Gēls-balzams uzlabo vielmaiņu, locītavu apasiņošanu, veicina toksīnu un sāļu nogulšņu izvadīšanu no tām. Sastāvā esošais hondroitīns veicina locītavu skrimšļu atjaunošanos, samazina deģeneratīvās izmaiņas locītavās, stimulē skrimšļaudu atjaunošanos (InternetAptieka.lv 2021).



1.4. attēls. Čagas gēls-balzams locītavām (InternetAptieka.lv 2021)

- **Čagovita**: Uztura bagātinātājs vispārējai stiprināšanai (Seljutina 2016).”.

Pasaules mēroga medicīnas žurnālos ir publicēta informācija, ka bērza čagas preparāti spēj:

- “Iedarboties atsāpinoši un mazināt jutību pret sāpēm;
- Pretiekaisuma iedarbību;
- Antioksidanta iedarbību;
- Peroksidatīvu iedarbību (aizsargā taukus no oksidācijas vai elektronu zaudēšanas);
- Antimutagēnu iedarbību;
- Kancerostatisku iedarbību;
- Iedarboties antibakteriāli (mikrobaktērijas, francisella tularēmija u.c.);
- Iedarboties, kā pretvīrusa līdzeklis (gripa, herpes, HIV, hepatīts, bakas, kaķu retrovīrus u.c.)
- Iedarboties antiparazītiski (palīdz atbrīvoties no dažādiem tārpiem);
- Prettuberkulozes antiagregatīvo efektu (kļiedēt eritrocītu sastrēgumus), prettrombozes efekts (kļiedē trombocītus);
- Pretsēnīšu iedarbību;
- Pretalerģisku iedarbību;
- Apoptozi (vēža šūnu bojāeju);

- Antihiperlikēmisku iedarbību;
- Cukura līmeņa līdzsvarošanu asinīs;
- Asins attīrīšanu;
- Asins rites uzlabojošu iedarbību;
- Kardioprotekciju;
- Aknas attīrīšanu un detoksikāciju;
- Ātrāku atlabšanu no bronhīta;
- Ādas pārklājuma un matu spējāku atjaunošanos;
- Pretstresa iedarbību (adaptogēna);
- Neirotropu iedarbību (Griķīts 2014; Vuolo et al. 2019).”.

Pētījumu rezultāti un publikācijas pasaules medicīnas žurnālos ir oficiāli. Vislielākos pētījumus attiecībā uz šo sēni veic Ziemeļkoreja. Tieši viņu sēņu produkti pasaulē ir paši kvalitatīvākie, efektīvākie un precīzākie (Griķīts 2014).

Ir noteikts, ka šī sēne:

- “Palielina organisma aizsargspējas un stimulē imunitāti;
- Iedarbojas antioksidanti;
- Bremzē dažu tipu audzēju attīstību;
- Labvēlīgi iedarbojas uz aknu un plaušu vēža gadījumā;
- Stimulē vielmaiņu smadzeņu audos;
- Mazina gan iekšējos, gan ārējos iekaisuma procesus;
- Regulē sirds ritmu;
- Mazina cukura līmeni asinīs;
- Mazina arteriālo un venozo asinsspiedienu;
- Normalizē nervu sistēmas darbību;
- Normalizē gremošanas trakta darbību (Griķīts 2014; Seljutina 2016).”.

Ķīnas terapieti čagu iesaka lietot: pretaudzēju terapijā; HIV/AIDS; brīvo radikāļu radītās pataloģijas (antioksidanta un imūnstimulējoša iedarbības) gadījumā; cukura diabēta; trombocītu agregācijas gadījumos. Japānā bērza čagu iesaka lietot: diarejas; kuņģa čūlas; hepatīta gadījumā; sāļu nogulsnešanās kaulu audos; asins attīrīšanai; apetītes uzlabošanai; sāpju remdēšanai; vēža profilaksei (Griķīts 2014; Vuolo et al. 2019).

1.2. Čugas izmantošanas potenciāls bioekonomikā

1.2.1. Bioekonomikas aktualitāte pasaulē

Tiek prognozēta pasaules iedzīvotāju skaita palielināšanās 2050. gadā līdz 9,5 miljardiem. Dabas resursu noplicināšana, augošā slodze uz vidi un klimata pārmaiņas ir veicinājušas apziņu par nepieciešamību mainīt Eiropā līdz šim pastāvošās metodes bioloģisko resursu ražošanā, patēriņā, pārstrādē, uzglabāšanā, atkārtotā izmantošanā un utilizācijā (LEAF S. a.; Urmetzer et al., 2020).

Eiropas Savienības izaugsmes stratēģija "Eiropa 2020" norāda uz bioekonomiku kā atslēgas elementu gudrai un zaļai izaugsmei Eiropā. 2012. gadā Eiropas Komisija pieņēma stratēģiju "Inovācijas ilgtspējīgai izaugsmei: Eiropas bioekonomika", kā galvenos mērķus definējot sabiedrības problēmu risināšanu (pārtikas drošība, ilgtspējīga dabas resursu apsaimniekošana, atkarības mazināšana no neatjaunojamajiem resursiem, klimata pārmaiņu samazināšana un adaptācija tām, darbavietu izveidošana un Eiropas konkurētspējas saglabāšana) un saskaņotas bioekonomikas attīstību (saskaņota ekonomikā darbība, investīcijas zināšanu, inovāciju un prasmju attīstībā, līdzdalība pārvaldībā un sociālais dialogs, jauna infrastruktūra). Zināšanu ietilpīga bioekonomika iekļauta 2013. gadā pieņemtajā Latvijas Viedās specializācijas stratēģijā, kas paredz augstākas pievienotās vērtības radīšanu un jaunu materiālu un tehnoloģiju radīšanu tradicionālajās tautsaimniecības nozarēs (European Commission 2012).

Bioekonomika ietver atjaunojamo bioloģisko resursu ražošanu un to pārveidošanu pārtikā, lopbarībā, bioloģiskas izcelsmes produktos un bioenerģijā. Lauksaimniecība, mežsaimniecība, zvejniecība, pārtikas, celulozes un papīra ražošana, kā arī daļēji ķīmiskā, biotehnoloģiju un enerģētikas nozares ir bioekonomikas sastāvdaļas. Šīm nozarēm piemīt spēcīgs inovāciju potenciāls, jo tās plaši izmanto zinātnes sasniegumus (dzīvības zinātnes, agronomija, ekoloģija, pārtikas zinātne un sociālās zinātnes), pamattehnoloģijas un rūpnieciskās tehnoloģijas (biotehnoloģija, nanotehnoloģija, informācijas un komunikācijas tehnoloģija, inženierzinātnes) un vietējās zināšanas (LEAF S. a.; European Commission 2012).

Bioekonomika balstās uz trīs ilgtspējīgas attīstības pamatprincipiem – daba, ekonomika un sabiedrība, un apzīmē pāreju uz pilnīgu, noslēgtā cikla ekonomiku, kurā viena procesa atkritumprodukts ir otra procesa izejmateriāls. Bioekonomika paver iespējas Latvijas ekonomikas attīstībai, balstoties uz tās spēcīgākajām nozarēm – lauksaimniecību un mežsaimniecību. Koksnes un citiem bioloģiskas izcelsmes produktiem piemīt augsts potenciāls, palielinot produktu

pievienoto vērtību, aizstājot fosilos kurināmos enerģijas ražošanā, izstrādājot nākotnes bioloģiskas izcelsmes produktus un samazinot siltumnīcefekta gāzu emisijas (Silava 2017/2019).

Bioekonomikas veiksmīgas attīstības pamatā ir:

- “maksimāla izejmateriālu izmantošana, enerģijas iegūšanas posmu atstājot kā pašu pēdējo;
- pakāpeniskas un reģionam atbilstošas inovācijas;
- veiksmīga publiskā-privātā sadarbība;
- visu nozaru iesaiste un sadarbība;
- vietējo pārvaldes institūciju loma un katra reģiona stiprās puses un vajadzības;
- cieša sadarbība Baltijas valstīs un Baltijas jūras reģionā (LEAF Bez.dat.).”

1.2.2. Bioekonomikas attīstība Latvijā

Bioekonomika Latvijā ietver sevī vairākas nozares. Tradicionālajās nozarēs ietilpst bioresursu primārā ražošana, kuru veido lauksaimniecība, zivsaimniecība un mežsaimniecība, kā arī bioresursu pārstrādes nozare, kuras darbība ir atkarīga no bioresursiem un tā ietver sevī pārtikas pārstrādi, ādas izstrādājumu ražošanu, koksnes un papīra izstrādājumu ražošanu. Bioresursu pārstrādes nozare, kurā bioresursi tiek izmantoti kā alternatīva citām izejvielām, ir pamatā apģērbu ražošanā, ķīmiskajā rūpniecībā, farmaceitisko preparātu ražošanā un enerģētikā. Bioresursi tiek izmantoti arī pakalpojumu sniegšanai, piemēram, būvniecībā un ēdināšanas jomā (Latvijas Bioekonomikas stratēģija 2016; Silava 2017/2019).

„Latvijā bioekonomikas attīstībai ir liels potenciāls, jo Baltijas valstu reģioni ir bagāti ar atjaunojamajiem bioloģiskajiem resursiem, šeit ir spēcīgs zinātniskais potenciāls, ir uzņēmēji, kuri vēlas ražot inovatīvus produktus un pakalpojumus, un ir radoša sabiedrība, kas prot novērtēt jaunievedumus. Šajos procesos nozīmīga loma ir valsts stratēģiskajam redzējumam, tāpēc ir nepieciešams izstrādāt bioekonomikas attīstības stratēģiju, kas būs platforma bioekonomikas ideju attīstībai un īstenošanai (Latvijas Bioekonomikas stratēģija, 2016, 11.lpp).” Pateicoties tai resursu izmantošana kļūs ilgtspējīgāka un efektīvāka, attīstīsies valsts ekonomika, radot jaunas labi apmaksātas darba vietas. Bioekonomika veicinās lauku teritoriju attīstību, jo tā ir saistīta ar zemes izmantošanu bioresursu ražošanai (LEAF S. a.; Latvijas Bioekonomikas stratēģija 2016).

„Bioekonomikas attīstība galvenokārt ir saistīta ar bioresursu ražošanu un efektīvu pārstrādi. Tādēļ tieši lauku teritorijām un reģioniem ir lielas attīstības iespējas. Bioekonomikas attīstība veicinās Latvijas lauku teritoriju un reģionu attīstību (Latvijas Bioekonomikas stratēģija, 2016, 12.lpp).”

1.2.3. Biomasa no mežiem

Meži aizņem 45% no ES zemes platībām. ES mežu platību pēdējā desmitgadē ir palielinājusies par 2%, un paredzams, ka tā turpinās palielināties. Vairāk nekā 75% no Somijas un Zviedrijas zemes platībām aizņem meži. Mežu biomasa veido apmēram pusi no Eiropas atjaunojamās enerģijas patēriņa. Dažās valstīs, piemēram, Somijā un Polijā, mežu biomasa veido vairāk nekā 80% no atjaunojamās enerģijas pieprasījuma (LEAF S. a.).

Mežu biomasas enerģijas izmantošana ES ir cieši saistīta ar mežsaimniecības un kokapstrādes industrijām. Tā lielā mērā ir balstīta uz mežizstrādes un cirsmu tīrīšanas atlieku pārstrādi, kas papildina koksnes un šķiedru materiālu produktus (Latvijas Bioekonomikas stratēģija 2016; Silava 2017/2019).

Kokapstrādes procesā var rasties rūpnieciskās atliekas, piemēram, skaidas, mizas un šķeldas, vai arī tās var rasties tiešā veidā no meža retināšanas (maza diametra kokiem) un novākšanas atliekām (zariem, galotnēm un celmiem). Stumbra koksnes izmantošanai bioenerģijas vajadzībām ir svarīga loma (Silava 2017/2019).

Šobrīd 60-70% no ES ikgadējā mežu pieauguma tiek izcirsti. Potenciāli mežu izciršanas likmi ir iespējams paaugstināt, kas attiecīgi palielinātu meža atlieku daudzumu, ko izmantot bioenerģijas ražošanā (LEAF S. a.).

1.2.4. Konkurējošie biomasas izmantošanas veidi

Savas daudzveidības dēļ, biomasa ir iekārots izejmateriāls. Enerģētikas nozare sacenšas par biomasas resursiem gan lokālā, gan globālā mērogā ar kokapstrādes un celtniecības nozarēm, celulozes un papīra rūpniecību, un aizvien vairāk ar bioķīmijas, farmācijas un tekstilrūpniecību (LEAF S. a.).

Nesen sākušās debates par biomasas izmantošanas daudzpakāpju principiem. Saskaņā ar tiem, vienu un to pašu biomasu var izmantot vairāk nekā vienu reizi, sākot ar materiāla izmantošanu. Enerģijas pārveidei vajadzētu būt šīs hierarhijas pēdējam posmam. Tomēr daudzos tirgos enerģijas pārveide var būt vienīgais ekonomiski dzīvotspējīgais vai praktiski iespējamais biomasas izmantošanas veids. Šajā gadījumā vajadzētu izvērtēt resursu izmantošanas efektivitāti. Dažādiem biomasas resursiem ir nepieciešama vienāda un godīga konkurence (LEAF S. a.; Silava 2017/2019).

Biomasa tirgiem būtu jābūt atvērtiem un progresīvi integrētiem visā ES teritorijā. Starp biomasas izmantošanu enerģētikā un rūpniecībā, pretrunas nepastāv, jo vairums risinājumu sniedz labumu abām nozarēm (LEAF S. a.).

“Viens no perspektīviem meža nekoksnes produktiem ir koku miza – priedes (priedes mizas mulča), bērza (dažādu farmakoloģijas produktu ražošanai), alkšņu miza (farmakoloģijas produktiem), kārklu mizas izmantošana (piemēram, SIA Aggregare). Tautsaimniecībā plaši izmanto bērza koksni, bet tās atlikumu – bērza mizu – pārsvarā lieto kā kurināmo. Tomēr pēdējā laikā attīstās šo atlikumu pārstrāde, ražojot jaunus tautsaimniecībai nepieciešamus produktus. Medicīnā izmanto arī melno bērza piepi – “čagu”, ko ievāc no augošiem kokiem un lieto ļaundabīgu audzēju ārstēšanā (Silava 2017/2019).”.

1.3. Ekstrakcijas un ekstraktu izpētes metodes

Ekstrakcija ir viena vai vairāku komponentu izdalīšana no parauga, izmantojot selektīvu šķīdinātāju – ekstrahentu. Šķīduma ekstrakcijas procesus plaši izmanto ķīmiskajā, farmaceitiskajā un pārtikas rūpniecībā. Ekstrakciju var izmantot termiski nestabilu šķidru maisījumu sadalīšanai, gadījumos, kad nav pieļaujama to karsēšana, līdz viršanas temperatūrai (Ozoliņš et al. 2021). Vislielākie polifenolu ekstrakcijas rezultāti no augu biomasas tiek iegūti ar etanolu vai metanolu un šo spirtu maisījumiem ar ūdeni (Lauberts 2018).

Lai noteiktu kopējo polifenolu daudzumu, pētījumā tika izmantota Folina-Šikoltē (Folin-Ciocalteu) metode. Metode ir balstīta uz elektronu pārnesei sārmainā vidē no fenola savienojumiem uz fosfomolibdēnskābes kompleksiem, kurus nosaka ar spektrofotometra palīdzību (Ainsworth, Gillespie 2007). Augu ekstraktos esošie polifenoli reaģē ar specifisko Folina-Šikoltē reaģentu, veidojot zilu kompleksu, kuru var kvantitatīvi noteikt ar redzamās gaismas spektrofotometriju (Blainski et.al. 2013).

Folina-Šikoltē reaģenta un fenola savienojumu maisījums ir stabils skābē, bet nestabils sārmainā šķīdumā. Tādēļ reakcijai ir nepieciešams nātrijs karbonāts, ko izmanto sārmainas vides nodrošināšanai. Folina-Šikolto metode ir ērta un vienkārša (Chen et. al. 2015).

Pētījumā ekstrakcijai tika izmantota ultraskaņas metode, kas ir ērti izmantojama un efektīva. Ultraskaņa ir īpašs skaņas viļņu veids no 20 kHz līdz 100 MHz. Ultraskaņas izmantošana var izjaukt augu šūnu sienas, palielinot šķīdinātāja iespiešanos, kas palīdz iegūt lielāku ekstrakcijas iznākumu (Routray, Orsat 2011). Ultraskaņas metodei ir vairākas priekšrocības: ekstrakcijas iznākuma palielināšanās; ūdens ekstrakcijas procesu uzlabošana, ierobežojot organisko šķīdinātāju izmantošanu dažos gadījumos; iespēja izmantot alternatīvus un videi draudzīgus šķīdinātājus, uzlabojot to ekstrakcijas veiktspēju. Ultraskaņa ir pierādīta metode efektīvai un drošai aktīvu savienojumu, eļļu, olbaltumvielu un bioaktīvo vielu (piemēram, polifenolu, antocianīna) iegūšanai no augiem, ziediem un sēklām (Azmir et.al. 2013; Chen et al. 2010; Zwingelstein et al. 2020).

Ultraskaņas metodei tika veikta ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM - atbildes (reakcijas) virsmas metodi. Reakcijas virsmas metode, ļauj novērtēt dažādu faktoru ietekmi uz vienu vai vairākiem reakcijas mainīgajiem lielumiem, kuri vienlaikus tiek modificēti (Dorta et al. 2013). RSM tika izmantota, lai izpētītu neatkarīgo mainīgo ietekmi uz reakciju izmeklēšanas diapazonā, kas ir statistikas metožu apkopojums eksperimentu projektēšanai, modeļu veidošanai, faktoru ietekmes novērtēšanai un faktoru optimālo apstākļu meklēšanai vēlamās atbildes. RSM ekstrakcijas optimizācijai ir vairākas priekšrocības: vienlaicīgi tiek pētīta vairāku

faktoru iedarbība uz ekstrakciju, šī metode ļauj ietaupīt laiku samazinot eksperimentu skaitu (Chen et al. 2010; Dorta et al. 2013).

Ekstraktu izpētes metodes tika pielietotas, lai iegūtu kopējo polifenolu un melanoīdu iznākumu ekstrakcijā.

1.3.1. Polifenoli

Polifenoli ir daudzveidīga molekulu grupa, kuras satur fenolu struktūras. Tie ir nepieciešami, lai atvieglotu bioķīmiskos pamatprocesus, kā arī precīzi noregulētu šūnas un aizsargātu pret stresu, daudzos veidos palīdzot uzlabot ilgtermiņa veselību (Williamson 2017; Manach et al. 2004).

Apmēram 800 dažādu polifenolu ir identificēti plašā augļu un dārzeņu klāstā, ieskaitot ogas, pilngraudu graudaugus un kakao, dzērienus, piemēram, kafiju, tēju un vīnu (Tresserra-Rimbau et al. 2018). Polifenoli ir atrodami augu valsts pārtikas produktos un dzērienos, īpaši ābolos, ogās, citrusaugļos, plūmēs, brokoļos, kakao, tējā, kafijā un daudzos citos. Pētījumu rezultātā ir iegūti pierādījumi, ka diēta ar augstu polifenolu saturošu augļu, dārzeņu, kakao un dzērienu saturu pasargā no sirds, asinsvadu slimību un 2. tipa cukura diabēta attīstības. Šiem savienojumiem piemīt nozīmīga loma zarnu mikrobiotas darbībai (Williamson 2017).

Uzturā bieži sastopamie polifenoli dalās klasēs, piemēram, flavanolus satur kakao, tēja, āboli, pupiņas, flavanoni ir sastopami citrusaugļos, hidroksikanēļskābes sastopamas kafijā, augļos, flavonoli sastopami ābolos, tēja un antociānīni- ogās. Daudzos pētījumos tiek uzsvērtā polifenolu lomu hronisku slimību ārstēšanā. Piemēram, flavanoli samazina endotēlija disfunkciju, pazemina asinsspiedienu un holesterīnu, kā arī modulē enerģijas metabolismu. Gan kafija, gan tēja samazina 2. tipa diabēta attīstības risku, iedarbojoties uz to sastāvā esošajiem polifenoliem. Neskatoties uz plašu pētījumu veikšanu, precīzie polifenolu darbības mehānismi cilvēka ķermenī nav izšķiroši pierādīti, taču ir pārliecinoši pierādījumi, ka daži mērķi, piemēram, slāpekļa oksīda vielmaiņa, ogļhidrātu gremošana un oksidatīvie fermenti, ir svarīgi ieguvumiem veselības jomā (Tresserra-Rimbau et al. 2018).

Augļu un dārzeņu atkritumus vai sulu spiedes atlikumus, kas bagāti ar polifenoliem, varētu izmantot, lai uzlabotu pārtikas stabilitāti, aizstātu sintētiskos antioksidantus, kas pašlaik tiek izmantoti, un tiem ir papildu bonuss, nodrošinot lielāku polifenola saturu un pārtikas šķiedrvielas (Manach et al. 2004; Tresserra-Rimbau et al. 2018).

Lielākajai daļai mikroelementu, piemēram, vitamīniem un minerālvielām, ir oficiāli apstiprināta ieteicamā dienas devas vērtība. Atšķirības starp polifenoliem un vitamīniem liecina par to, ka polifenolu ieteicamās devas noteikšanai ir nepieciešama atšķirīga pieeja. Lai panāktu labvēlīgu efektu ir regulāri jāuzņem polifenolus, lai to aktīvās sastāvdaļas saglabātos organismā ilglaicīgi. Pozitīvā efekta novērošanai ir nepieciešams laiks, kas var aizņemt nedēļas, mēnešus vai pat gadus (Williamson 2017).

1.3.2. Melanoīdi

Melanoīdīni ir savienojumi, kas rodas Mailarda reakcijas vēlīnā stadijā, reducējot cukurus un olbaltumvielas vai aminoskābes pārtikas termiskās apstrādes laikā. Melanoīdīni veicina krāsas, aromāta un garšas veidošanos (Wang et al. 2011). Tādējādi šie savienojumi ir atrodami kafijā un maizes izstrādājumos, vārītos kartupeļos, kakao, grauzdētos miežos vai saldajā vīnā (Langner, Rzeski 2013).

Mailarda reakcija ir ķīmiska reakcija starp aminoskābēm un ogļhidrātiem. Reakcijas galaproduktu sastāvs un reakcijas ātrums ir atkarīgs no reakcijas apstākļiem: karsēšanas laika un temperatūras, pH, ūdens saturs, un reaģentu aktivitātes un aminoskābes vai cukura veida (Wang et al. 2011).

Melanoīdi veic veselībai labvēlīgas darbības, darbojoties kā antioksidanti, pretmikrobu, antialerģiski un prebiotiski līdzekļi. Tie var darboties kā antioksidanti. Melanoīdiem piemīt arī pretmikrobu aktivitāte, jo tie var aizturēt katjonus, kas ir būtiski patogēno baktēriju augšanai un izdzīvošanai (Langner, Rzeski 2013).

Melanoīdi aizsargā pret radikālo resnās zarnas stresu un izturas kā uztura šķiedras, veicinot zarnu bifidobaktēriju augšanu. Turklāt ir ziņots par melanoīdu inhibējošo iedarbību uz matricas metāloproteāzēm, kas ir saistīta ar audzēja augšanu un attīstību. Tiem ir arī antibakteriāla aktivitāte pret *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* un *Salmonella enterica*, un tie var kavēt zobu kariesa attīstību (Villaño et al.2016).

Visi šie pozitīvie bioloģiskie efekti liek melanoīdus izmantot kā funkcionālu sastāvdaļu gan tehnoloģiski, gan kā veselības uzlabotāju jaunu veselīgu pārtikas izstrādē. Melanoīdus var ražot, izmantojot modeļu sistēmas, un tos var iegūt no pārtikas produktiem. Tomēr šos savienojumus var iegūt arī no kafijas augļu un pupiņu pārstrādes blakusproduktiem, kas ļauj pārvērtēt šos atlikumus un samazināt vides piesārņojuma problēmu (Mesías, Delgado-Andrade 2017).

2. MATERIĀLI UN METODES

2.1. Čagas parauga raksturojums

Pētījumā tika izmantoti Latvijā, Kreiļos iegūtie bērza čagas paraugi. Pirms eksperimentu veikšanas čaga tika samalta un izsijāta (2.1.1. attēls).



2.1.1. attēls. Čagas sēne (*Inonotus obliquus*). A – vesela dabiska čaga B – sasmalcināta čaga (Autora attēli).

Pēc ekstrakcijas iegūtie ekstrakti tika sagatavoti liofilizēšanai (sīkāk tas tiks aprakstīts 2.4. nodaļā), kā rezultātā tika iegūts smalks žāvēts pulveris (2.1.2. attēls).



2.1.2. attēls. Liofilizēts čagas ekstrakta paraugs (Autora attēls).

2.2. Izmantotie reaģenti

- Folina-Šikoltē (*Folin- Ciocolteu*) reaģents
- Dejonizēts ūdens;
- Nātrija karbonāts;
- Etanols 96%.

2.3. Izmantotie trauki un aparatūra

- KERN ALJ 220-4 analītiskie svāri, maksimālais svārs 220 g, precizitāte $\pm 0,1$ mg;
- Biosan OS-10 kratītājs;
- Ultraskaņas vanna (Cole-Parmer);
- Liofilizators BenchTop Pro;
- UV-VIS spektrofotometrs (Shimadzu UV-1800);
- 200 mL koniskā kolba;
- 100 mL mērkolba;
- 100 mL vārglāze;
- Automātiskās pipetes (p200, p10, p100);
- stikla mērcilindrs 100 mL, A klase, $\pm 0,5$ mL;
- stikla kivete;
- 100 mL stikla burciņas;
- Stikla piltuves;
- Filtrpapīrs.

2.4. Čagas paraugu sagatavošana

Tika izmantoti samalti čagas paraugi. Pirms kopējo polifenolu koncentrācijas noteikšanas un melanoīdu koncentrācijas noteikšanas paraugi tika sagatavoti liofilizēšanai. Stikla burciņās tika iesvērti čagas paraugi un karsēti pielejot tiem klāt destilēto ūdeni. Tika mainīta destilētā ūdens un čagas iesvara daudzuma attiecība, kā arī temperatūra. Pēc paraugu karsēšanas tie tika filtrēti un liofilizēti (2.4.1. *attēls*).



2.4.1. *attēls*. Čagas paraugu sagatavošana. A – titrēšana, B – liofilizēšana (Autora attēli).

Liofilizācija ir saudzīgākais žāvēšanas process dažāda veida ātri bojājamo produktu apstrādei. Liofilizācijas principa pamatā ir vielas tieša pāreja no cietas vielas uz gāzveida stāvokli, ko sauc par sublimāciju. Procesa iesākumā produkts tiek sasaldēts un pēc tam to žāvē ar sublimācijas metodi pazemināta spiediena vidē, iegūstot sausu, pulverveida polifenolu koncentrātu (Ošis 2021).

Iegūtie paraugi turpmāk tika izmantoti kopējo polifenolu noteikšanai, kā arī melanoīdu noteikšanai atšķaidot tos ar destilēto ūdeni.

2.5. Kopējo polifenolu koncentrācijas noteikšana

Lai noteiktu kopējo polifenolu daudzumu tika izmatota Folina-Šikoltē metode (Blainski et al. 2013). Tika sagatavots 10% Folina-Šikoltē (turpmāk FC) reaģenta šķīdums atšķaidot 10 mL FC reaģenta ar 100 mL ūdens. Uz analītiskajiem svariem ar precizitāti $\pm 0,0001\text{g}$ tika nosvērti 7,5 g nātrija karbonāta un izšķīdināti 92,5 mL ūdens.

Nātrija karbonāta šķīdums tika iegūts izšķīdinot 7,5 g nātrija karbonāta 100 ml destilēta ūdens.

Uz analītiskajiem svariem ar precizitāti $\pm 0,0001\text{g}$ tika nosvērti 30 mg parauga, kas tika pārnesti 100 mL mērkolbā un izšķīdināti ar 60 mL destilēta ūdens. Iegūtais šķīdums tika sakratīts.

$$Y_{\text{paraugam}} = 0,3 \text{ mL}$$

1 mL ar destilēto ūdeni atšķaidītā parauga tika sajaukts ar 5 mL 10 % FC reaģentu un inkubēts 5 minūtes. Pēc 5 minūtēm tika pievienoti 4 mL 7,5% nātrija karbonāta šķīduma. Pēc FC

reaģenta un nātrija karbonāta šķīdumu pievienošanas paraugi tika samaisīti un inkubēti 10 minūtes tumsā. Pēc inkubācijas procesa paraugi tieka mērīti UV-VIS spektrofotometrā pie 715 nm pret destilētu ūdeni stikla kivetē.

$$\gamma = \frac{\left(\frac{A-b}{a}\right) * 100 * D * V}{m}, \text{ kur}$$

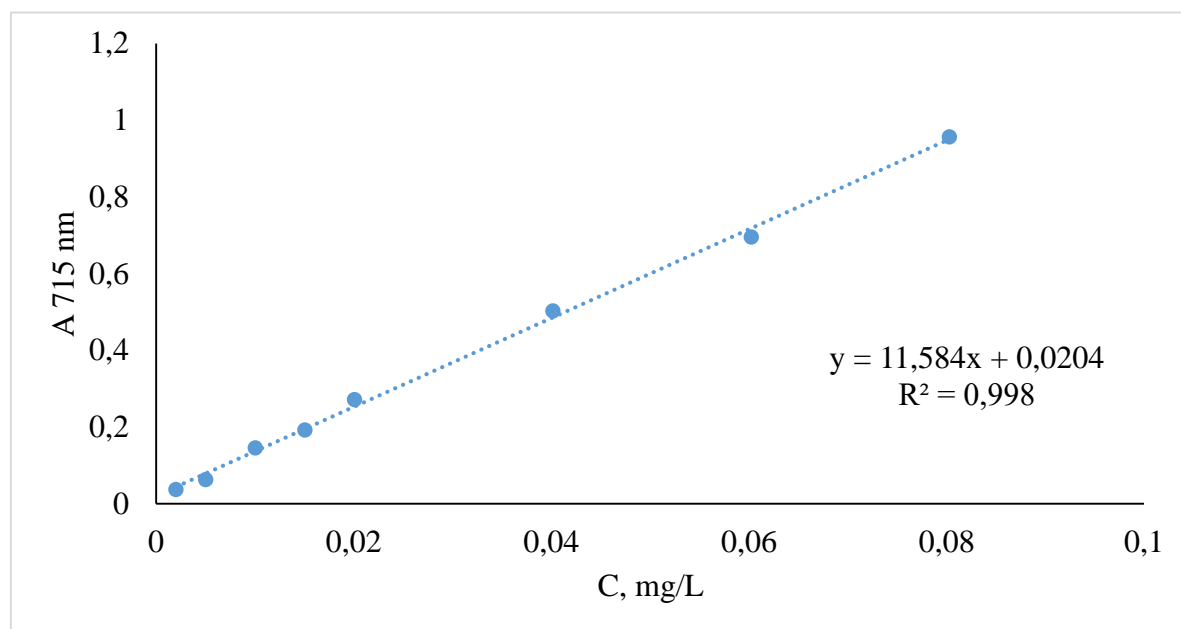
$\frac{A-b}{k}$ – lineārās līknes vienādojums;

D – atšķaidījums;

V – mērkolbas tilpums, ml;

m – parauga svars, g.

Standartšķīduma sagatavošanai tika nosvērti 10 mg gallusskābes un ievietoti 100 mL mērkolbā, papildot to ar 96% etanola (1 mg/mL). Kalibrēšanas grafiks (2.5.1. attēls) tika iegūts izmantojot 7 standartšķīdumus ar koncentrāciju no 0,002 līdz 0,1 mg/mL.



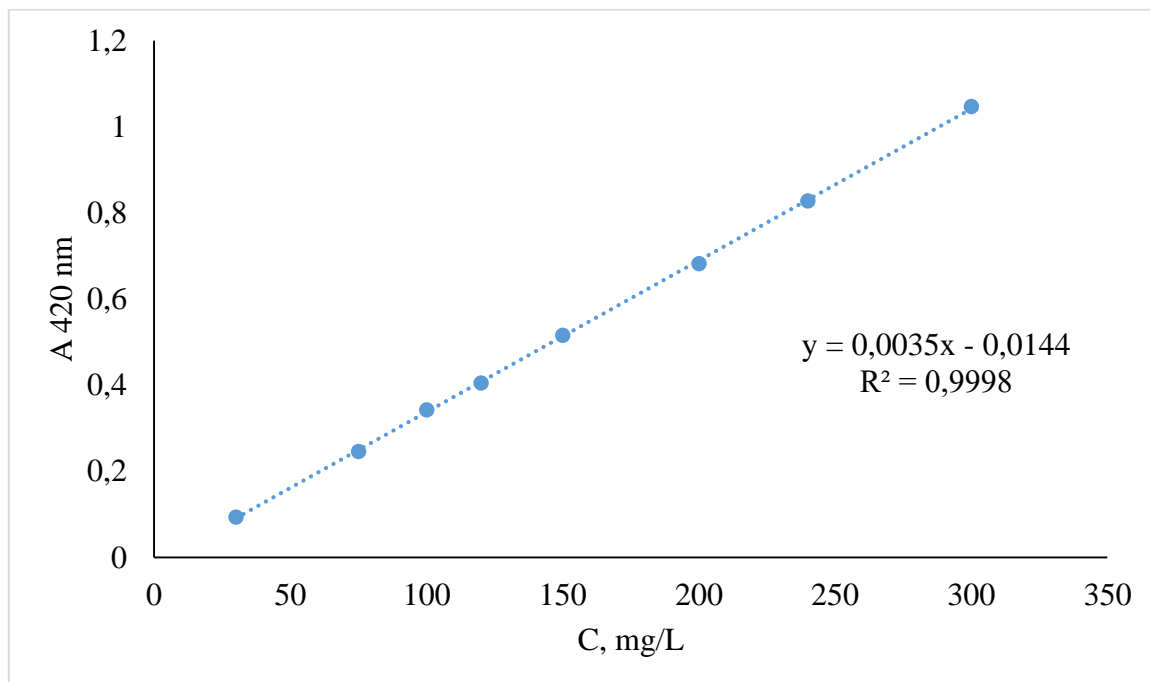
2.5.1. attēls. Kalibrēšanas grafiks polifenoliem.

2.6. Melanoīdu koncentrācijas iegūšana

Lai noteiktu kopējo melanoīdu daudzumu tika izmantoti iepriekš sagatavoti šķīdumi, kur uz analītiskajiem svāriem ar precizitāti $\pm 0,0001$ g tika nosvērti 30 mg parauga, kas tika pārnesti 100 mL mērkolbā un izšķīdināti ar 60 mL destilēta ūdens. Iegūtais šķīdums tika sakratīts.

Iegūtie paraugi tika mērīti UV-VIS spektrofotometrā pie 420 nm pret destilētu ūdeni stikla kivetē.

Standartšķīduma sagatavošanai tika nosvērti 10 mg gallusskābes un ievietoti 100 mL mērkolbā, piepildot to ar 96% etanola (1 mg/mL). Kalibrēšanas grafiks (2.6.1. attēls) tika iegūts izmantojot 7 standartšķīdumus ar koncentrāciju no 30 līdz 300 mg/L.



2.6.1. attēls. Kalibrēšanas grafiks melanoīdiem.

2.7. Ultraskaņas ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM

Ultraskaņas ekstrakcijas optimizēšanai tika veiktas 10 eksperimentu sērijas, kurās izmantoja 3 dažādu etanola un ūdens maisījumus (96% un 48%). Lai noskaidrotu optimālos ekstrakcijas apstākļus, tika mainīti divi faktori trīs līmeņos, kas ļāva noteikt neatkarīgo mainīgo kopējo ietekmi uz ekstrakciju (2.7.1. tabula). Ekstrakcijas ar ultraskaņas apstrādi tika veiktas 0, 30 un 60 min. Katrā laika posmā tika nomērīti divi parametri, polifenolu un melanoīdu saturs.

Ekstrakcijas apstākļu optimizācijā izmantotie neatkarīgie mainīgie un to līmeņi
izmantotajā atbildes virsmas metodes modelī

Neatkarīgie mainīgie	Simbols	Līmeņi		
Ultraskaņas ilgums, min	X_1	0	30	60
Etanola koncentrācija, %	X_2	0	48	96

Ultraskaņas ekstrakcijas optimizēšanai tika iesvērts 1 g samaltas čagas un apliets ar 50 mL sagatavoto šķīdinātāju: 96% etanolu, 48% etanolu, destilēto ūdeni. Ultraskaņas vannā tika nodrošināta konstanta temperatūra 60°C. Iegūtie čagas un etanola šķīdumi tika filtrēti un tiem tika izmērīts polifenolu un melanoīdu iznākums izmantojot spektrofotometru.

2.8. Datu apstrādes un statistiskās analīzes metodes

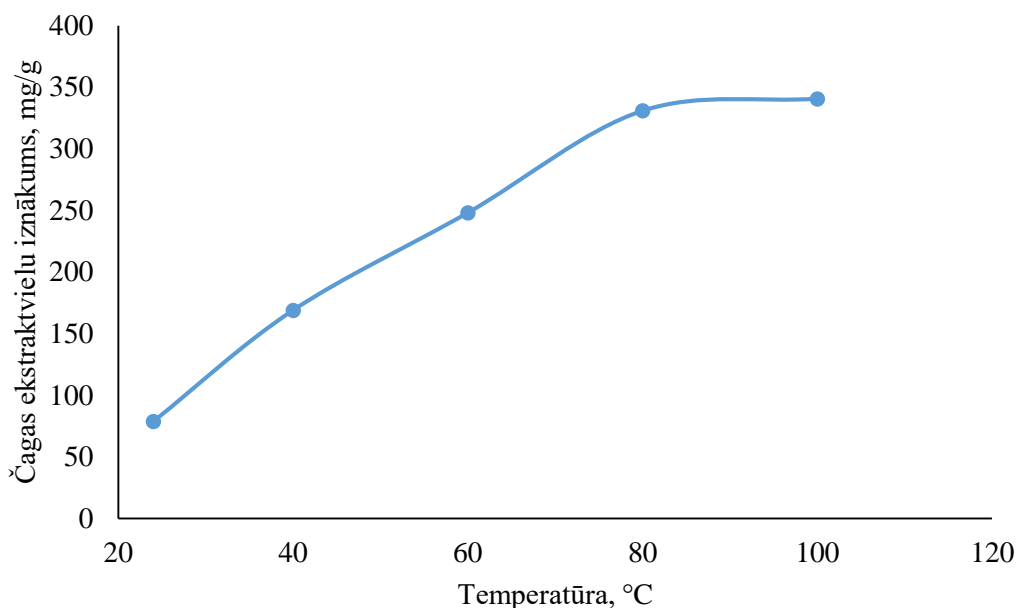
Datu apstrāde tika veikta izmantojot MS Office Excel 2016 programmatūru. Programmā tika veikta datu apstrāde, aprēķini, kā arī tika veidoti grafiki un tabulas.

Atbildes (reakcijas) virsmas metodes (RSM) modelis tika izveidots izmantojot ANOVA.

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

3.1. Čagas ekstraktvielu iznākuma atkarība mainot vienu faktoru

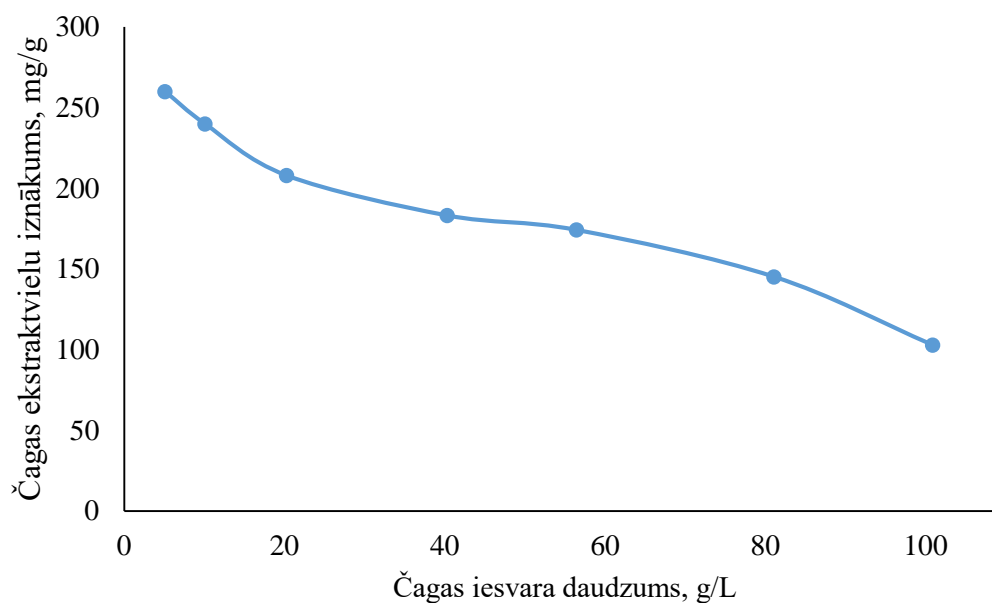
Lai iegūtu optimālo čagas ekstraktvielu, polifenolu un melanoīdu iznākumu svarīgi ir noteikt mainīgos faktorus, kas spēj ietekmēt rezultātus. Bakalaura darba ietvaros tika pētīta čagas ekstraktvielu, polifenolu un melanoīdu iznākuma atkarība no temperatūras, laika, čagas iesvara daudzuma, lai noteiktu kā tie ietekmē ekstrakciju.



3.1.1. attēls. Čagas ekstraktvielu iznākuma atkarība no ekstrakcijas laika.

Temperatūra ir uzskatāma par būtisku faktoru, kas ietekmē čagas ekstraktvielu iznākumu. Augsta temperatūra palielina ekstrakcijas efektivitāti un ātrumu uzlabojot organisko vielu šķīdību. Augstāka temperatūra izraisa pastiprinātu starpmolekulāro mijiedarbību, izraisot lielāku molekulāro kustību, kas palielina šķīdību (Routray, Orsat 2011).

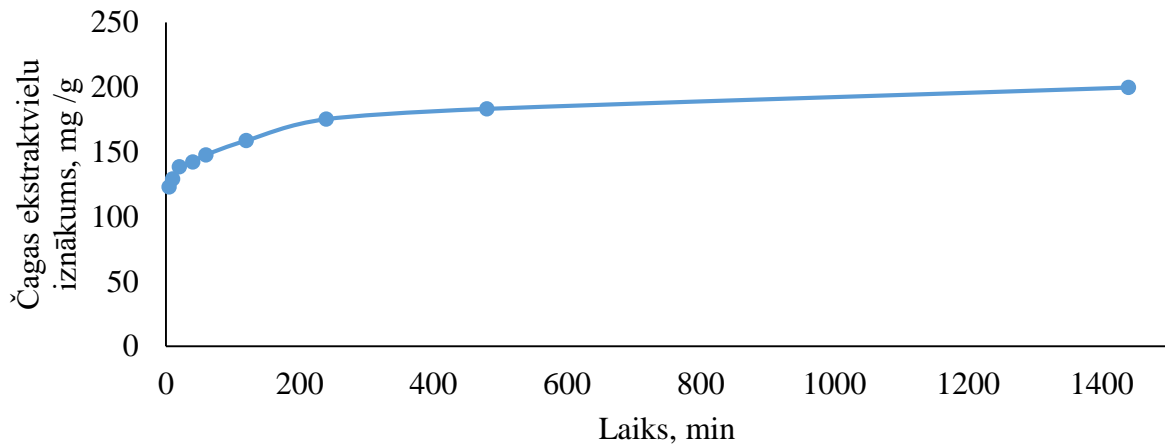
Grafikā (3.1.1. attēls) ir redzama čagas ekstraktvielu koncentrācija atkarībā no temperatūras pie 2,5 g čagas iesvara. Intervālā no 24°C (istabas temperatūra) līdz 80°C, ekstraktvielu iznākums pieaug gandrīz lineāri, paaugstinot temperatūru no 80°C līdz 100°C ir novērojams, ka ekstraktvielu daudzums būtiski nepalielinās.



3.1.2. *attēls*. Izmantotā čagas iesvara daudzuma ietekme uz čagas ekstraktvielu iznākumu pie temperatūras 60°C.

Čaga ir bioloģiskas izcelsmes resurss, kuram piemīt augsts potenciāls un kuru ir jāizlieto racionāli, taupīgi. Ir svarīga maksimāla izejmateriālu izmantošana (Silava 2017/2019).

Palielinot čagas iesvaru, čagas ekstraktvielu iznākums samazinās. Lai čagas resursi tiktu efektīvi izmantoti, ir svarīgi, lai ekstraktvielu koncentrācija būtu pietiekoši augsta un čaga kā resurss lieki netērētos. Grafikā (3.1.2. *attēls*) ir attēlots čagas iesvara daudzuma ietekme uz čagas ekstraktvielu iznākumu pie temperatūras 60°C. Racionālais iznākums ir novērojams grafika lēzenākajā posmā, kur čagas iesvara daudzums ir intervālā no 20 līdz 60 g/L. Optimālais čagas iesvara daudzums varētu būt aptuveni 40 g/L.



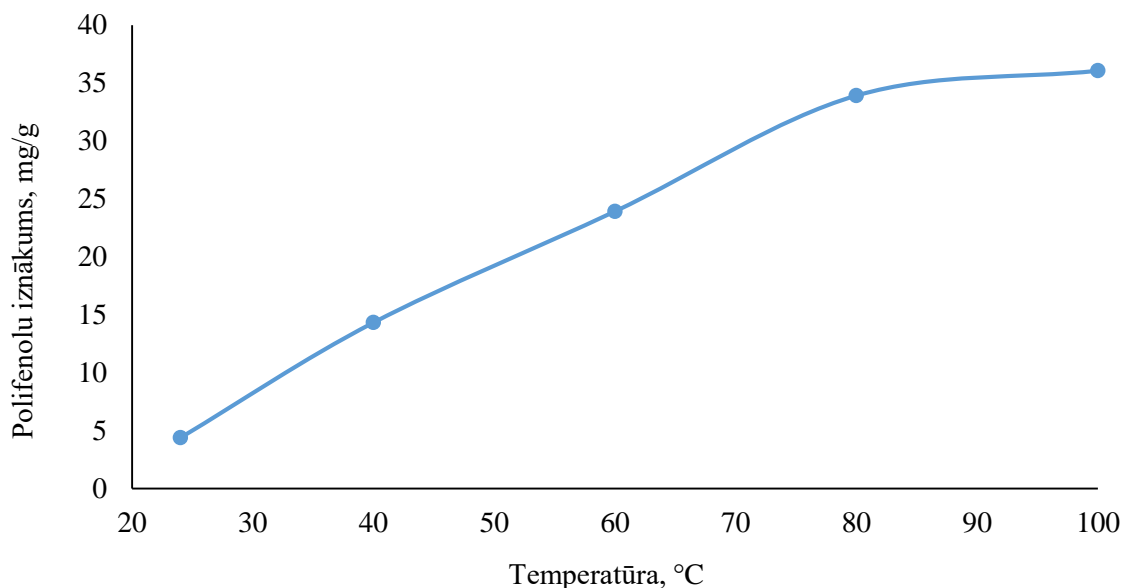
3.1.3. attēls. Čagas ekstraktvielu iznākuma atkarība no ekstrakcijas laika.

Ekstrakcijas laiks ir nozīmīgs ietekmējošs faktors ekstrakcijas procesā (Lauberts 2018). Lai veiktu ekstrakciju ir nepieciešams novērtēt kādas ir ekstraktvielu iznākuma izmaiņas atkarībā no ekstrakcijas laika.

Grafikā (3.1.3. attēls) ir redzams, ka čagas ekstrakcija sākas ļoti ātri, dažu minūšu laikā tiek izekstrahēti 75% no maksimālā daudzuma, kas liecina par to pirmajās 20 minūtēs notiek visefektīvākais ekstrakcijas procesa posms. Līknē ir novērojams eksponenciāls kāpums (3 punkts) 20 minūtēs. Līkne kļūst lēzenāka līdz 240 min, un pēc tam ekstrakta daudzums faktiski nepalielinās.

Ekstrakcijas ātruma augšupejošā tendence laika gaitā, iespējams, bija saistīta ar lēnu šķīdināšanu laika gaitā (Wang 2021).

3.2. Polifenolu iznākuma atkarība mainot vienu ekstrakcijas faktoru



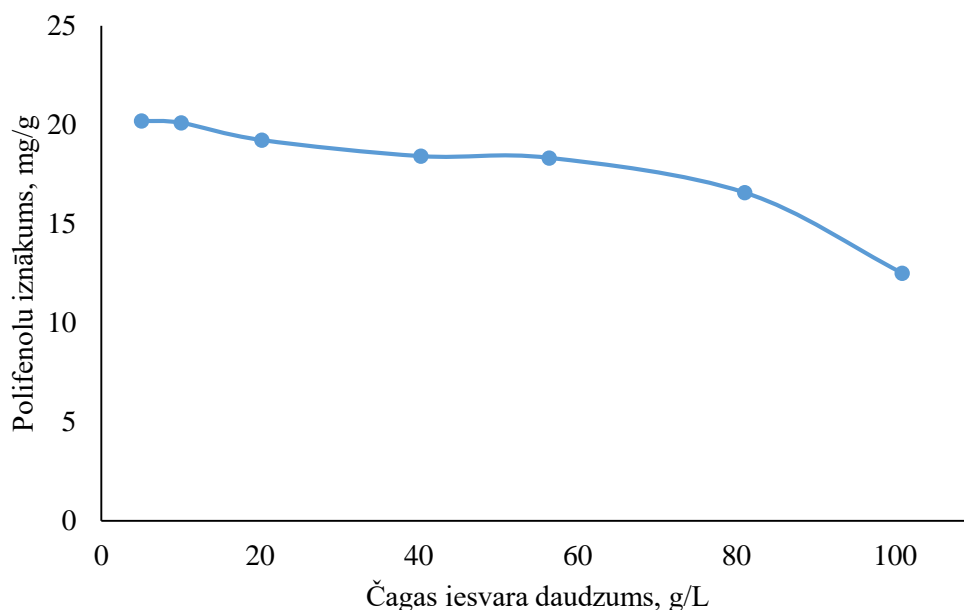
3.2.1. attēls. Polifenolu iznākuma atkarība no ekstrakcijas temperatūras.

Polifenoli ir daudzveidīga molekulu grupa, kas ir nepieciešami, lai atvieglotu bioķīmiskos pamatprocesus, kā arī precīzi noregulētu šūnas un aizsargātu pret stresu, daudzos veidos palīdzot uzlabot ilgtermiņa veselību (Williamson 2017; Manach et al. 2004).

Čagas polifenoli spēj neitralizēt lipīdu brīvos radikāļus un neorganiskos brīvos radikāļus, ģenerēt salīdzinoši stabilus skābekļa brīvos radikāļus, kas satur skābekli, aktivizēt antioksidantus enzīmus un samazināt malondialdehīda saturu. Tāpēc ir svarīgi efektīvi iegūt antioksidantu aktivitāti čagas polifenoliem, lai to turpmāk izmantotu veselības aprūpē, pārtikas konservēšanā un citās jomās (Williamson 2017; Wang 2021).

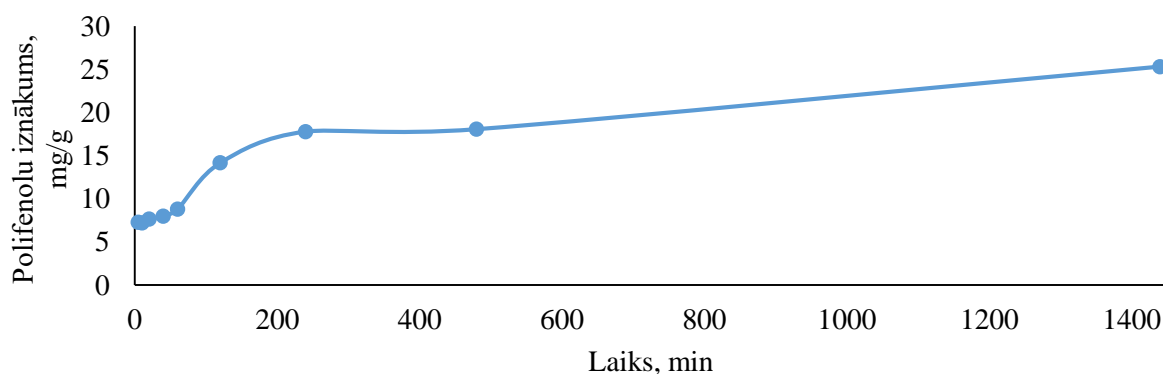
Temperatūra ir viens no izšķirošajiem parametriem, kas ietekmē čagas ekstrakciju. Paaugstināta temperatūra paātrina molekulu kustību un polifenolu šķīšanu. Tomēr pārāk augsta temperatūra var oksidēt polifenolus un iznīcināt molekulārās struktūras, kā rezultātā samazinās ekstrakcijas iznākums (Wang 2021).

Grafikā (3.2.1. attēls) ir redzama polifenolu iznākuma atkarībā no temperatūras pie 0,3 g čagas iesvara. Intervālā no 24°C (istabas temperatūra) līdz 80°C, ekstraktvielu iznākums pieauga gandrīz lineāri, paaugstinot temperatūru no 80°C līdz 100°C ir novērojams, ka polifenolu iznākums būtiski nepalielinās.



3.2.2. *attēls*. Izmantotā čagas iesvara daudzuma ietekme uz polifenolu iznākumu pie temperatūras 60°C.

Palielinot čagas iesvaru, polifenolu iznākums samazinās. Grafikā (3.2.2. *attēls*) ir attēlota čagas iesvara daudzuma ietekme uz polifenolu iznākumu pie temperatūras 60°C. Racionālais iznākums ir novērojams grafika lēzenākajā posmā, intervālā no 20 līdz 60 g/L. Optimālais čagas iesvara daudzums varētu būt aptuveni 40 g/L.



3.2.3. *attēls*. Polifenolu iznākuma atkarība no ekstrakcijas laika.

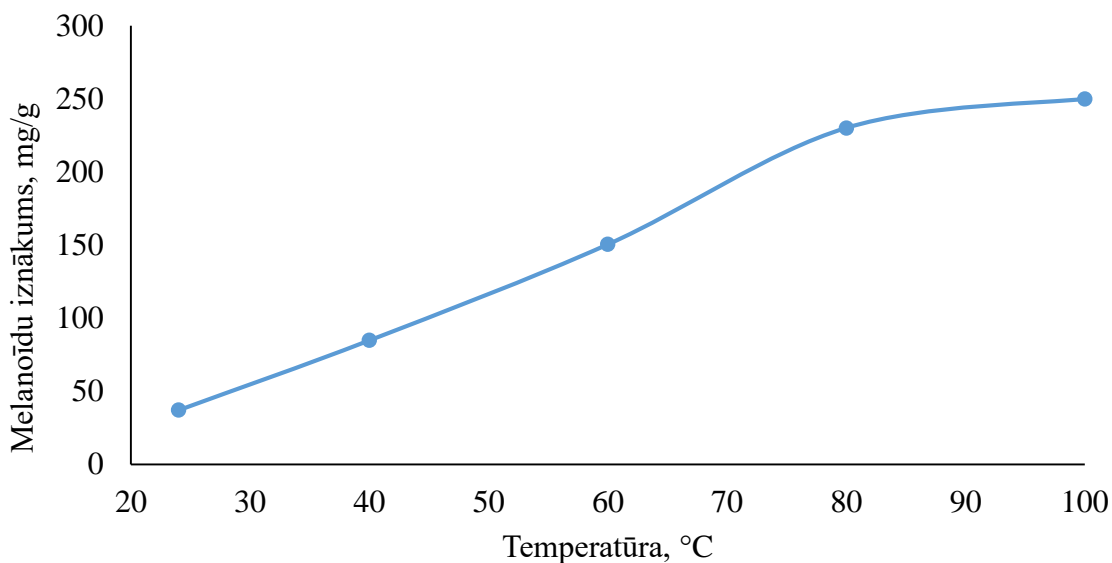
Grafikā (3.2.3. *attēls*) ir redzams, ka līknē ir novērojams eksponenciāls kāpums (6 punkts) 120 minūtēs. Līkne kļūst lēzenāka līdz 480 min, un pēc tam ekstrakta daudzums būtiski nepalielinās. Veiktais pētījums parāda, ka polifenoli ir būtiska ekstraktvielu sastāvdaļa un faktori, kas to iznākumu ietekmē ir tādi pat kā tie, kas ietekmē kopējo ekstraktvielu iznākumu.

3.3. Melanoīdu iznākuma atkarība mainot vienu faktoru

Melanoīdi ir Mailarda reakcijas produkti, kas rodas pārtikas termiskās apstrādes laikā. Tie veidojas daudzpakāpju reakcijā starp reducējošajiem cukuriem un savienojumiem, kuriem piemīt brīvas aminogrupas (Wang et al. 2011).

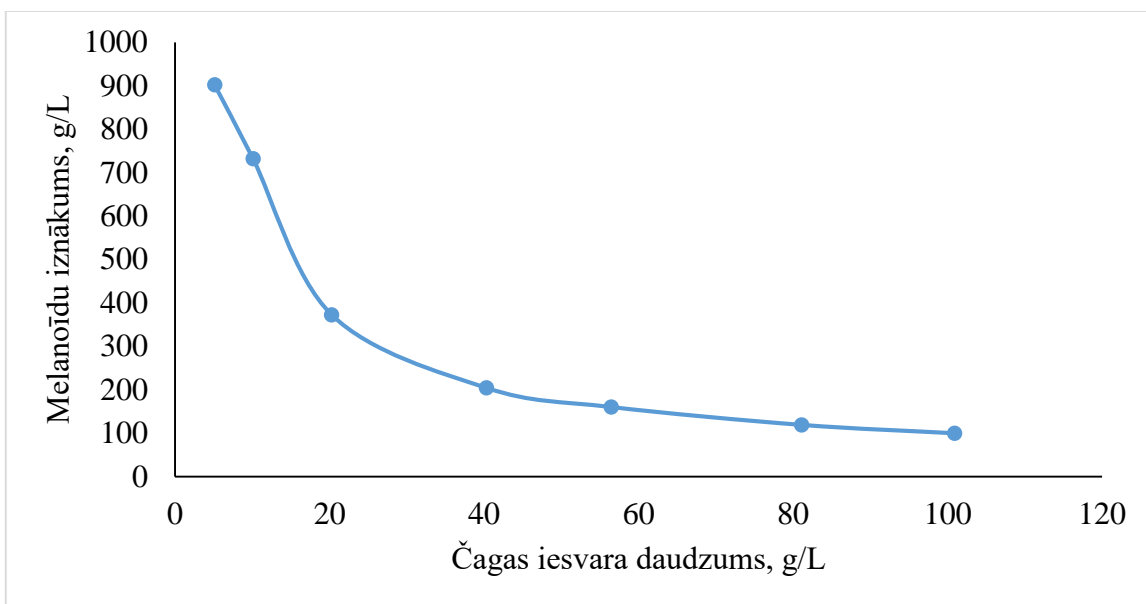
Melanoīdi veic veselībai labvēlīgas darbības, darbojoties kā antioksidanti, pretmikrobu, antialerģiski un prebiotiski līdzekļi. Tie var darboties kā antioksidants pateicoties lielajam funkcionālās grupas reducēšanas saturam. Melanoīdiem piemīt arī pretmikrobu aktivitāte, jo tie var aizturēt katjonus, kas ir būtiski patogēno baktēriju augšanai un izdzīvošanai.

Mūsdienās melanoīdi ir piesaistījuši lielu uzmanību ne tikai kā funkcionāla pārtikas sastāvdaļa, bet arī kā potenciāls veselībai draudzīgs uztura bagātinātājs (Langner, Rzeski 2013).



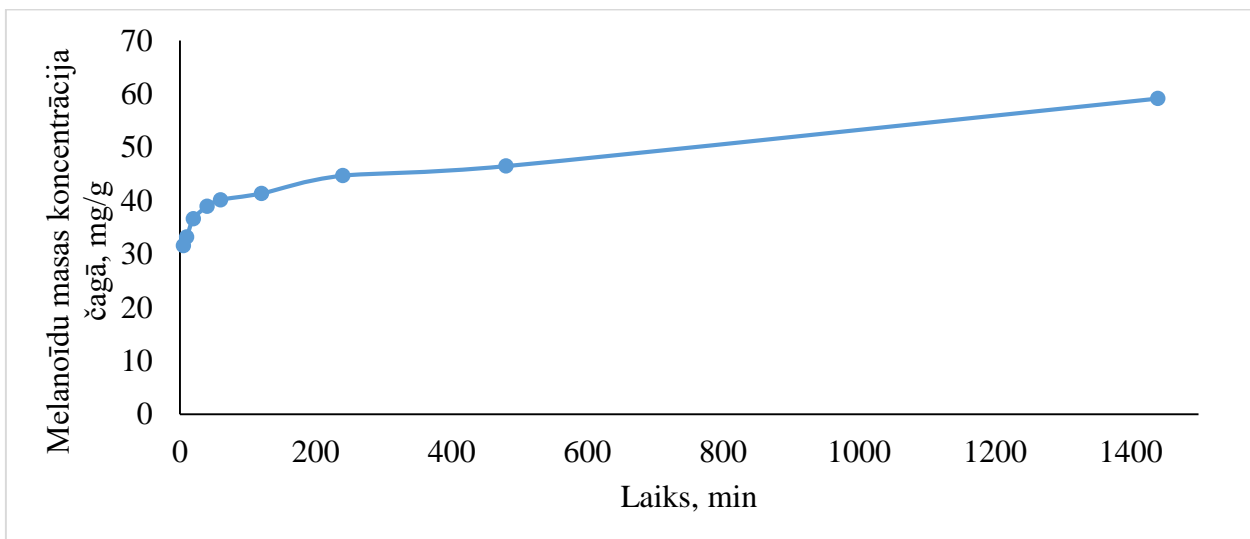
3.3.1. attēls. Melanoīdu iznākuma atkarība no ekstrakcijas temperatūras.

Grafikā (3.3.1. attēls) ir redzama melanoīdu iznākuma atkarība no temperatūras pie 0,3 g čagas iesvara. Intervālā no 24°C (istabas temperatūra) līdz 80°C, ekstraktvielu iznākums pieauga gandrīz lineāri, paaugstinot temperatūru no 80°C līdz 100°C ir novērojams, ka melanoīdu iznākums būtiski nepalielinās.



3.3.2. attēls. Izmantotā čugas iesvara daudzuma ietekme uz melanoīdu iznākumu pie temperatūras 60°C.

Palielinot čugas iesvaru, melanoīdu iznākums samazinās. Grafikā (3.3.2. attēls) ir attēlota čugas iesvara daudzuma ietekme uz melanoīdu iznākumu pie temperatūras 60°C. Ir novērojams, ka 3.3.2. attēlā, atšķirībā no 3.1.2. un 3.2.2. attēliem, melanoīdu iznākums samazinās palielinot čugas iesvara daudzumu. Posmā no 60 līdz 100 g/L, melanoīdu iznākums būtiski nemainās. Racionālais iznākums ir novērojams intervālā no 10 līdz 40 g/L. Optimālais čugas iesvara daudzums varētu būt aptuveni 20 g/L.



3.3.3. attēls. Melanoīdu iznākuma atkarība no ekstrakcijas laika.

Grafikā (3.3.3. *attēls*) ir redzams, ka čagas ekstrakcija sākas ļoti ātri. Līknē ir novērojams eksponenciāls kāpums (3 punkts) 20 minūtēs. Līkne kļūst lēzenāka līdz 240 min, un pēc tam ekstrakta daudzums faktiski nepalielinās.

3.4. Ekstrakcijas apstākļu optimizācija izmantojot RSM

Tradicionāli analītiskās ķīmijas optimizācija ir veikta, uzraugot viena faktora ietekmi uz eksperimentālo reakciju vienlaikus. Lai gan tiek mainīts tikai viens parametrs, citi tiek turēti nemainīgā līmenī. Šo optimizācijas tehniku sauc par vienu mainīgo vienā reizē. Tās galvenais trūkums ir tas, ka rezultātā šī tehnika neatspoguļo parametra pilnīgu ietekmi uz reakciju. Viena faktora optimizācijas trūkums ir pētījumu veikšanai nepieciešamo eksperimentu skaita pieaugums, kas palielina laiku un izdevumus, kā arī palielina reaģentu un materiālu patēriņu skaitu (Chen et al. 2010; Dorta et al. 2013).

Lai pārvarētu šo problēmu, analītisko procedūru optimizācija ir veikta, izmantojot daudzveidīgo statistikas paņēmienus. Starp visatbilstošākajām analītiskajā optimizācijā izmantotajām daudzveidīgo metodēm ir atbildes virsmas metodoloģija (RSM). Atbildes virsmas metode ir matemātisku un statistisku metožu kopums, kas balstīts uz polinoma vienādojuma atbilstību eksperimentālajiem datiem, kam jāapraksta datu kopas uzvedība ar mērķi panākt statistikas pārsvaru. To var labi izmantot, ja atbildi vai interesējošo atbilžu kopumu ietekmē vairāki mainīgie. Mērķis ir vienlaikus optimizēt šo mainīgo līmeņus, lai sasniegtu vislabāko sistēmas veikspēju skaitu (Bezerra et al. 2008; Dorta et al. 2013).

Reakcijas virsmas metodes pielietošana analītisko procedūru optimizācijā mūsdienās ir lielā mērā izklaidēta un konsolidēta, galvenokārt pateicoties tās priekšrocībām klasiskajai viena mainīgā laika optimizācijai, piemēram, liela apjoma informācijas iegūšanai no neliela eksperimentu skaita un iespēja novērtēt mainīgo mijiedarbības ietekmi uz reakciju (Bezerra et al. 2008).

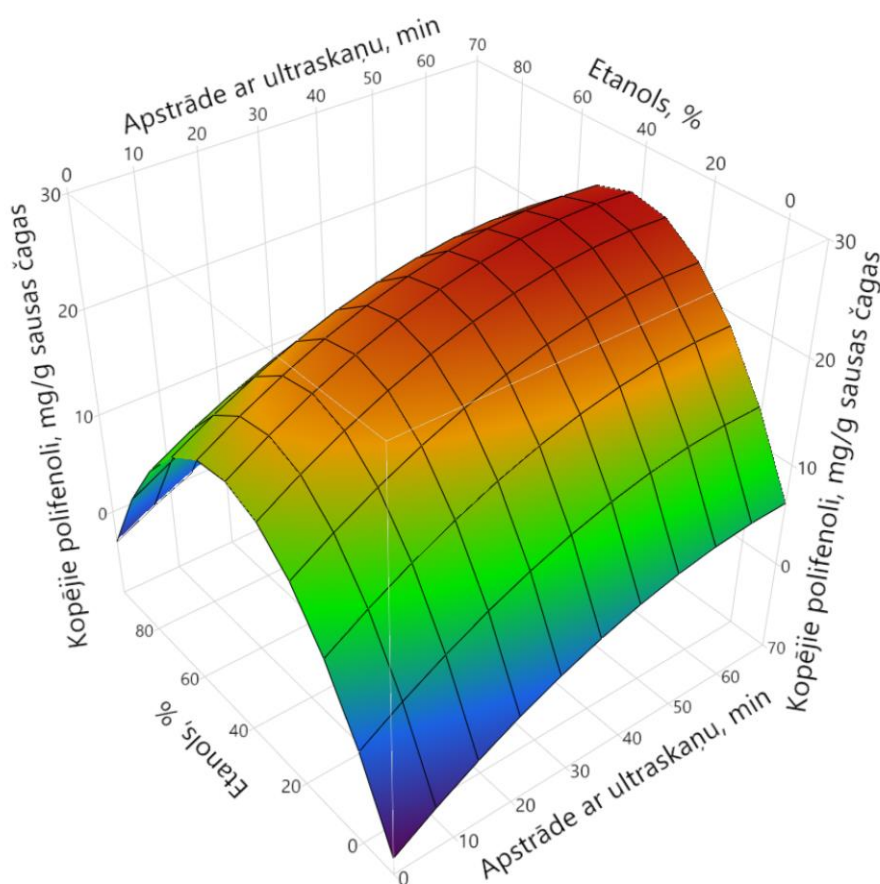
Polifenolus var izšķīdināt spirtos, ēteros un ketonos, jo molekulas struktūrā ir vairākas fenola hidroksilgrupas. Etanolu izmanto kā ekstraktantu, jo tas nodrošina vairāku vielu grupu ekstrakciju, nodrošina augstu ekstrakcijas ātrumu un ir maz toksisks cilvēka ķermenim. Parastās viena faktora ekstrakcijas metodes var novest pie nepareizas rezultātu interpretācijas, piemēram, zema ekstrakcijas ātruma (Wang et al. 2021).

Etanols ir viens no visbiežāk izmantotajiem šķīdinātājiem ar ultraskaņas ekstrakciju, pateicoties tā drošībai, tā efektivitātes un tā zemo izmaksu dēļ. Ultraskaņas etanola ekstrakcija pārspēj citus šķīdinātājus un citas ekstrakcijas tehnoloģijas ar izmaksu efektivitāti, lineāro

mērogojamību, vienkāršību un drošību. Etanola kā šķīdinātāja augstākā efektivitāte ir saistīta ar tā ķīmisko sastāvu, ko nosaka ogleņūdeņraža aste un viena hidroksilgrupa. Šis ķīmiskais sastāvs ļauj etanolam izšķīdināt un ekstrahēt ļoti plašu vielu spektru no polifenoliem, flavonoīdiem, terpēniem, kanabinoīdiem un lipīdiem (eļļām) (Lauberts 2018; Wang et al. 2021).

Ekstrakcijas apstākļu optimizācijā tika pētīta divu faktoru – X_1 ultraskaņas ilguma (minūtēs) un X_2 etanola koncentrācijas (%) ietekme uz kopējo polifenolu un melanoīdu iznākumu.

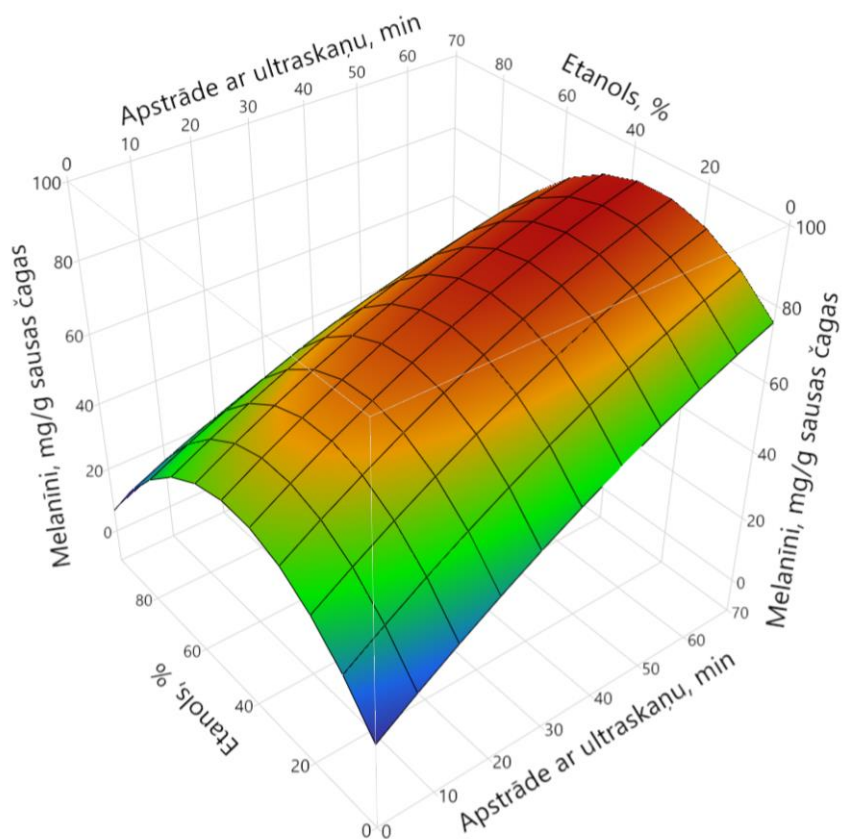
Ultraskaņas ekstrakcijas eksperimentos izmantotais šķīdinātājs ir etanola / ūdens maisījums. Iegūtie rezultāti uzrādīja, ka polifenoliem ir labāka šķīdība etanola ūdens šķīdumā nekā 96% etanolā.



3.4.1. *attēls*. Iegūtā kopējo polifenolu ekstrakcijas reakcijas virsma atkarībā no ultraskaņas ilguma (X_1) un etanola koncentrācijas (X_2).

Iegūtie rezultāti (3.4.1. *attēls*) parāda, ka optimālā etanola koncentrācija ekstrakcijai bija novērojama pie 42%, bet ultraskaņas ilguma optimālais maksimums netika sasniegts pat pie 60 minūtēm apstrādes ultraskaņas vannīnā. Ultraskaņas ekstrakcijas laikā, pie 60 min apstrādes un optimālās etanola koncentrācijas (42%), tika noteikts kopējais polifenolu daudzums – 25,8 mg/g.

Polifenoliem ir labāka šķīdība etanola ūdens šķīdumā nekā bezūdens etanola sistēmai. Ja etanola koncentrācija ir mazāka par 50%, hidrofobo un ūdeņraža saišu mijiedarbības spēki ir ļoti spēcīgi starp polifenoliem, olbaltumvielām, polisaharīdiem un citām vielām. Tāpēc ar tīru ūdeni ekstrakcijas iznākums ir zemāks. Palielinoties etanola koncentrācijai, šīs ūdeņraža saites un hidrofoabā mijiedarbība pakāpeniski vājinājās un čagas ekstrakcijas ātrums palielinājās. Kad etanola koncentrācija pārsniedza 50%, čagas ekstrakcijas iznākumam bija tendence samazināties. Nepiemērota etanola koncentrācija var arī samazināt polifenolu ekstrakcijas ātrumu (Wang et al. 2021).



3.4.2. *attēls*. Iegūtā melanoīdu ekstrakcijas reakcijas virsma atkarībā no ultraskaņas ilguma (X_1) un etanola koncentrācijas (X_2).

Iegūtie rezultāti (3.4.2. *attēls*) parāda, ka optimālā etanola koncentrācija ekstrakcijai bija novērojama pie 35%, bet ultraskaņas ilguma optimālais maksimums netika sasniegts pat pie 60 minūtēm ultraskaņas vannīnā. Ultraskaņas ekstrakcijas laikā, pie 60 min apstrādes un optimālās etanola koncentrācijas (35%), tika noteikts melanoīdu daudzums – 88,2 mg/g.

Kopumā rezultāti parāda, ka optimālā etanola koncentrācija ekstrakcijai bija ap 40%, bet ultraskaņas ilguma optimālais maksimums netika sasniegts. Tika secināts, ka jo ilgāka ir ekstrakcija, jo lielāks ir gan polifenolu, gan melanoīdu saturs ekstraktā.

Polifenolu iznākums, mainot vienu ekstrakcijas faktoru pie 60 min ekstrakcijas, sasniedza 8,8 mg/g, taču izmantojot ultraskaņas ekstrakcijas apstākļu optimizāciju ar RSM, iegūtais polifenolu daudzums bija 25,8 mg/g, kas ir gandrīz trīs reizes lielāks. Melanoīdu iznākums, mainot vienu ekstrakcijas faktoru sasniedza 40,2 mg/g, taču izmantojot RSM, rezultāts sastādīja 88,2 mg/g, kas ir divas reizes lielāks.

Iegūtie rezultāti, apstiprina to, ka atbildes (virsmas) metodei (RSM) ir būtiskas priekšrocības ekstrakcijas eksperimentu veikšanai, jo tā samazina reaģentu un materiālu patēriņu, ļauj samazināt eksperimentu skaitu, kas ietaupa ieguldītā laika apjomu, kā arī ir iespējams novērtēt faktoru mijiedarbības un to ietekmi uz reakciju.

3.5. Čagas ekstraktvielu izmantošanas potenciāls

Čagas produktu komerciālo izmantošanu un lielo medicīnisko interesi par šo sēni, ir izraisījis tas, ka sabiedrībā palielinājās informētība par čagas izmantošanu un pozitīvo ietekmi uz veselību.

Produkti, kuru pamatā ir čaga, tagad ir plaši pieejami, galvenokārt tie ir kaltēti un pulverī saberzti. Ir pieejams plašs produktu klāsts, sākot no kapsulām iekšķīgai lietošanai līdz samaltām vai pulverveida tējām, kas tiek piedāvātas veselības vai uztura uzlabošanai (Thomas et al. 2020).

Pareizi pagatavotai bērza čagas tējai piemīt imūnmodulējoša un onkoprotektīva darbība, tā uzlabo sirds un smadzeņu darbību, mazina aizmāršību, neatlaidīgi lietojot, novērš kuņģa – zarnu trakta iekaisumu, gremošanas traucējumus. Čagas tēja dod spēku un uzlabo noskaņojumu (ZS „Doktus”. S.a.).

Čagā esošos polifenolus, varētu izmantot, lai uzlabotu pārtikas stabilitāti, aizstātu sintētiskos antioksidantus, kas pašlaik tiek izmantoti (Manach et al. 2004; Tresserra-Rimbau et al. 2018). Melanoīdi veic veselībai labvēlīgas darbības, darbojoties kā antioksidanti, pretmikrobu, antialergiski un prebiotiski līdzekļi, pateicoties lielajam funkcionālās grupas reducēšanas saturam (Langner, Rzeski 2013). Tiem ir arī antibakteriāla aktivitāte, kā arī tie var kavēt zobu kariesa attīstību (Villaño et al.2016).

Čagas ekstrakti uzrāda lielu potenciālu ar nozīmīgām īpašībām, piemēram, imunitāti stiprinošas, pretiekaisuma, pretdiabēta un antibakteriālas īpašības. Tomēr pretvēža īpašības ir tās, kas pašlaik izraisa vislielāko interesi (Thomas et al. 2020).

Čagas sēnes izmantošanai ir potenciāls medicīnā, tomēr to loma cilvēka veselībā joprojām ir lielā mērā neizpētīta. Nākotnē būtu jānovērtē tās ekstraktvielu iedarbību būtu svarīgi pētīt, kā arī būtu jāizolē un jāidentificē vairāk bioaktīvo savienojumu. Īpaša uzmanība jāpievērš aktīvo komponentu darbības mehānismiem (Zhang et al. 2016).

Gadsimtiem ilgi cilvēki ir izmantojuši čagas sēni medicīniskiem nolūkiem, tomēr, lai apstiprinātu šīs sēnes priekšrocības un noteiktu tās blakusparādības un optimālo devu, ir nepieciešami pētījumi ar cilvēkiem. Čagai parasti ir labi panesamība, tomēr čaga var radīt risku cilvēkiem, kuri lieto insulīnu, vai tiem, kuriem ir cukura diabēts, jo tas ietekmē cukura līmeni asinīs, tādēļ pirms čagas lietošanas ir nepieciešams konsultēties ar ārstu (Zhong et al. 2009).

Veicot ekstrakciju optimālos apstākļos var iegūt ūdenī šķīstošu čagas ekstraktu, kuru var izmantot kā tēju, turklāt veiktā ekstrakcijas apstākļu izpēte, ļauj iegūt čagas ekstraktus ar augstu aktīvo vielu koncentrāciju.

Pašlaik tirgū pieejami čagas etanola ekstrakti, vai pati čaga un līdz ar to veiktā čagas ekstraktu ieguves izpēte paver iespējas tirgū piedāvāt vai nu šķīdrus vai cietus (vēlams liofilizētus) ekstraktus.

Intensīva interese par čagu un no tās produktu komerciālo izmantošanu var radīt nopietnu ekoloģisku ietekmi, radīt pārmērīgu čagas novākšanu. Viens no iespējamajiem risinājumiem ir čagas audzēšana uz mākslīga substrāta, piemēram, graudiem. Lai novērstu kaitējumu, papildus audzēšanas attīstībai ir vajadzīga daudzpusīga pieeja. Ir vajadzīga izglītojoša programma apgabalos, kur notiek plaša un sistemātiska čagas ražas vākšana. Nepieciešams veikt vairāk pētījumu, lai uzlabotu izpratni par čagas novākšanas ietekmi uz šīs sugas dzīves ciklu un ražas novākšanas izraisītām nelabvēlīgām sekām (Zhong et al. 2009).

SECINĀJUMI

- 1) Parazītiska sēne čaga (*Inonotus obliquus*) satur daudzas bioloģiski aktīvas vielas ar lielu izmantošanas potenciālu un ņemot vērā tradicionālās izmantošanas jomas, čagas ūdens, vai čagas ūdens /etanola ekstraktu izmantošana ir perspektīva.
- 2) Bakalaura darba ietvaros tika pētītas iespējas iegūt čagas ūdens ekstraktus, mainot ekstrakcijas procesa galvenos parametrus (ekstrakcijas temperatūru, laiku un čagas iesvara daudzumu) un nosakot kopējo ekstraktvielu, polifenolu un melanoīdu iznākumu. Pierādīts, ka optimālie apstākļi čagas ūdens ekstrakta iegūšanai ir aptuveni 60°C, optimāls iesvara daudzums ir aptuveni 40 g/L, bet ekstrakcijas laiks – 240 min.
- 3) Izmantojot eksperimenta plānošanas metodi (virsmas reakcijas metode – RSM) čagas ūdens etanola ekstrakta iegūšanai optimālie apstākļi ir: etanola koncentrācija ap 40%, ultraskaņas ilguma optimālais maksimums netika sasniegts, tomēr to varētu sasniegt pie 120 min ultraskaņas vannā. RSM izmantošana padara ekstrakcijas procesa izpēti ievērojami efektīvāku.
- 4) Jāpievērš sabiedrības uzmanība tirgū pieejamajiem čagas ūdens / etanola ekstraktiem un to pozitīvai ietekmei uz cilvēka veselību, lai stiprinātu un popularizētu to izmantošanu, tā kā čagas ekstrakti uzrāda lielu potenciālu ar nozīmīgām īpašībām, kā arī ir plaši pieejami produkti, kuru pamatā ir čaga.
- 5) Ņemot vērā čagas izmantošanas potenciālu, tās ūdens, ūdens / etanola ekstraktu, liofilizētu ekstraktu izmantošanai ir labas iespējas Latvijas bioekonomikas attīstībai, jo šeit ir spēcīgs zinātniskais potenciāls, ir uzņēmēji, kuri vēlas ražot inovatīvus, dabīgus produktus.
- 6) Bakalaura darba ietvaros iegūtie dati var būt noderīgi turpmākos pētījumos par čagu un bioloģiskām īpašībām, ķīmisko sastāvu, farmakoloģisko iedarbību un tās pielietojumu. Kā arī būtu svarīgi veikt ne tikai visaptverošus pētījumus bioķīmijā, farmakoloģijā, imunoloģijā, bet arī par čagas pielietojumu veselības uzlabojošo produktu izstrāde.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

Publicētie avoti

Ainsworth, E. A., Gillespie, K. M. 2007. *Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent*. Nature Protocols, 2(4), 875–877. <https://doi:10.1038/nprot.2007.102>

Ančevska, I. 2020. *Latviešu dziedināšanas tradīcijas*. Rīga, apgāds “Zinātne”.

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. 2013. *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review*. Journal of Food Engineering. Journal of Food Engineering. 117, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., Escalera, L. A. 2008. *Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry*. Talanta, 76(5), 965–977. <https://doi:10.1016/j.talanta.2008.05.019>

Blainski, A., Lopes, G., de Mello, J. 2013. *Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L*. Molecules. 18(6), 6852–6865. <https://doi:10.3390/molecules18066852>

Chen, L.-Y., Cheng, C.-W., Liang, J.-Y. 2015. *Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols*. Food Chemistry, 170, 10–15. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.038>

Chen, Y., Gu, X., Huang, S., Li, J., Wang, X., Tang, J. 2010. *Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from Inonotus obliquus and evaluation of its anti-tumor activities*. International Journal of Biological Macromolecules. 46(4), 429–435. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.02.003>

Cui, Y., Kim, D.-S., Park, K.C. 2005. *Antioxidant effect of Inonotus obliquus*. Journal of Ethnopharmacology, 96(1-2), 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.037>

Dorta, E., Lobo, M.G. González, M. 2013. *Optimization of Factors Affecting Extraction of Antioxidants from Mango Seed*. Food Bioprocess Technology. 6, 1067–1081. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0750-0>

El Sheikha A.F., Hu D.M. 2018. *How to trace the geographic origin of mushrooms?* Trends in Food Science & Technology. 78, 292-303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.008>

Gründemann, C., Reinhardt, K.J., Lindequist, U. 2020. *European medicinal mushrooms: Do they have potential for modern medicine? –An update.* Phytomedicine. 66. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.153131>

Langner, E., Rzeski, W. 2013. *Biological Properties of Melanoidins: A Review.* International Journal of Food Properties. 17(2), 344–353. <https://doi:10.1080/10942912.2011.631253>

Lazdiniece, V. 1996. *Ārstniecības augi.* Dziednieka rokasgrāmata. Rīga: Zvaigzne ABC.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. 2004. *Polyphenols: food sources and bioavailability.* The American Journal of Clinical Nutrition. 79 (5), 727–747, <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

Mesías, M., Delgado-Andrade, C. 2017. *Melanoidins as a potential functional food ingredient.* Current Opinion in Food Science. 14, 37–42. <https://doi:10.1016/j.cofs.2017.01.007>

Niu, H., Song, D., Mu, H., Zhang, W., Sun, F., Duan, J. 2016. *Investigation of three lignin complexes with antioxidant and immunological capacities from Inonotus obliquus.* International Journal of Biological Macromolecules, 86, 587–593. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.111>

Ozoliņš, J., Bušs, A., Kreicbergs, I. 2021. *Ķīmijas tehnoloģijas procesi un aparāti. Mehāniskie, siltuma un masas apmaiņas procesi.* Rīga: RTU Izdevniecība.

Routray, W., Orsat, V. 2011. *Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review.* Food and Bioprocess Technology. 5(2), 409–424. <https://doi:10.1007/s11947-011-0573-z>

Routray, W., Orsat, V. 2011. *Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review.* Food and Bioprocess Technology, 5(2), 409–424. <https://doi:10.1007/s11947-011-0573-z>

Rubine, H., Eniņa, V. 2004. *Ārstniecības augi.* Rīga: Zvaigzne ABC.

Shashkina, M. Y., Shashkin, P. N., Sergeev, A. V. 2006. *Chemical and medicobiological properties of chaga.* Pharmaceutical Chemistry Journal, 40(10), 560-568. <https://doi:10.1007/s11094.006.0194.4>

Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Makarov, V. G., Wagner, H., Verpoorte, R., Heinrich, M. 2014. *Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications*. Journal of Ethnopharmacology, 154, 481–536. <https://doi:10.1016/j.jep.2014.04.007>

Szychowski, K. A., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Tobiasz, J., Yelnytska-Stawasz, V., Pomianek, T., & Gmiński, J. 2018. *Biological and anticancer properties of Inonotus obliquus extracts*. Process Biochemistry. <https://doi:10.1016/j.procbio.2018.07.015>

Thomas, W. P., Elkhateeb, A.W., Daba, M. G. 2020. *Chaga (Inonotus obliquus): a medical marvel but a conservation dilemma?* Sydowia 72: 123–130. <https://doi:10.12905/0380.sydowia72-2020-0123>

Tresserra-Rimbau, A., Lamuela-Raventos, R. M., Moreno, J. J. 2018. *Polyphenols, food and pharma. Current knowledge and directions for future research*. Biochemical Pharmacology. <https://doi:10.1016/j.bcp.2018.07.050>

Urmetzer, S., Lask, J., Vargas-Carpintero, R., Pyka, A. 2020. *Learning to change: Transformative knowledge for building a sustainable bioeconomy*. Ecological Economics, 167, <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2019.106435>

Villaño, D., García-Viguera, C., Mena, P. 2016. *Colors: Health Effects*. Encyclopedia of Food and Health, 265–272. <https://doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00190-2>

Vuolo, M. M., Lima, S. V., Marostica Junior, R. M. 2019. *Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*. Health Benefits and Potential Applications. 33-50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>

Wang, H.-Y., Qian, H., Yao, W.-R. 2011. *Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity*. Food Chemistry. 128(3), 573–584. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.075>

Wang, J., Ouyang, F., Teng, C., Qu, J. 2021. *Optimization for the extraction of polyphenols from Inonotus obliquus and its antioxidation activity*. Preparative Biochemistry & Biotechnology <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1864642>

Williamson, G. 2017. *The role of polyphenols in modern nutrition*. Nutrition Bulletin, 42(3), 226–235. <https://doi.org/10.1111/nbu.12278>

Zhang, J. J., Li, Y., Zhou, T., Xu, D. P., Zhang, P., Li, S., Li, H. B. 2016. *Bioactivities and Health Benefits of Mushrooms Mainly from China*. *Molecules*, 21(7), 938. <https://doi:10.3390/molecules21070938>

Zhong, X., Ren, K., Lu, S., Yang, S., Sun, D. 2009. *Progress of research on Inonotus obliquus*. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 15(2), 156–160. <https://doi:10.1007/s11655-009-0156-2>

Zwingelstein, M., Draye, M., Besombes, J.L., Piot, C., Chatel, G. 2020. *Viticultural wood waste as a source of polyphenols of interest: Opportunities and perspectives through conventional and emerging extraction methods*. *Waste Management*. 102, 782–794. <https://doi:10.1016/j.wasman.2019.11.034>

Кузнецова, О. Ю. 2016. *Обзор современных препаратов с биологически активными композициями березового гриба чага*. Разработка и регистрация лекарственных средств. 1, 128-141.

Мурох, В.И., Стекольников, Л.И. 1990. *Целебные кладовые природы*. Минск: Ураджай.

Elektroniskie materiāli

Ministru kabineta rīkojuma Nr. 275. 2016. *Latvijas Bioekonomikas stratēģija 2030*. Sk. 18.03.2021. Pieejams: <https://www.zm.gov.lv/lauksaimnieciba/statiskas-lapas/bioekonomika/latvijas-bioekonomikas-strategija?nid=2542#jump>

European Commission (EC). 2012. *Innovating for sustainable growth*. A bioeconomy for Europe. Luxembourg: Publications Office of the European Union.

FAOSTAT. 2021. *The State of Food and Agriculture 2021*. Data Crops Visualized Mushrooms and truffles. Sk. 12.04.2021. Pieejams: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>

Griķīts, A. 2014. *Bērza čaga Inonotus Oblicuus*. AGFonds. Sk. 27.04.2021. Pieejams: <https://www.agfonds.lv/senes/arstnieciskas-senes/berza-caga-inonotus-oblicuus/>

Latvijas Valsts mežzinātnes institūts Silava. 2017/2019. *Kas jāzina meža īpašniekam?* Sk. 28.04.2021. Pieejams: https://www.mezsaimnieks.lv/wp-content/uploads/2020/02/2020_ROKASGRAMATA_Kas_jazina_MEZA_IPASNIEKAM.pdf

Latvijas Valsts Meži. 2015. *Dekoratīvā slimība- čaga*. Sk. 23.02.2021. Pieejams: <https://www.lvm.lv/jaunumi/2405-dekorativa-slimiba-caga>

Latvijas Valsts Meži. 2013. *Sēnes- parazīti*. Sk. 23.02.2021. Pieejams: <https://www.lvm.lv/jaunumi/arhivs/2013/2045-senes-paraziti>

ZS „Doktus”. S.a. *Melnā spulgpiepe- čaga*. Sk. 26.03.2021. Pieejams <https://www.fitoterapija.lv/plant/melna-spulgpiepe-caga/>

InternetAptieka.lv 2021. *Befungin*. Sk. 26.04.2021. Pieejams: <https://internetaptieka.lv/lv/sports-un-svara-korekcija/befungin>

LAEF. S.a. *Biomasa*. Sk. 27.04.2021. Pieejams: <https://www.leaf.lv/lv/biomasa/>

Seljutina, I. 2016. *Čagas sēnes ārstnieciskās īpašības*. Sk. 27.04.2021. <https://lv.farm.tomathouse.com/gribyi/poleznye-svoystva-i-protivopokazaniya-chaga.html>

Dzintare, M. S. a. *Radikāļi un antioksidanti*. Sk. 01.05.2021. Pieejams: https://www.lspa.lv/files/research/2020/Radikali_un_antioksidanti.pdf

Ošis, D. 2021. *Liofilizatori*. SIA Doma. Sk. 06.05.2021. Pieejams: <https://www.domagroup.eu/lv/d/vide/liofilizatori>

Nepublicētie materiāli

Lauberts, M. 2018. *Polifenolu izdalīšana no dažādiem augu biomasas pārstrādes atlikumiem ar videi draudzīgām ekstrakcijas metodēm un iegūto produktu vispusīga raksturošana*. Promocijas darbs. Ķīmijas fakultāte, Latvijas Universitāte.