



STUDYING THE ACUTE TOXICITY OF FERMENTED TEA FROM APPLE TREE LEAVES

Tayirova Dilobar Bakhtiyarovna

Assistant Tashkent Pharmaceutical Institute

Tashpulatova Nasiba Khudayarkhanovna

Senior Lecturer Tashkent Pharmaceutical Institute

Dodayev Akobir Urinboy o'g'li

Student Tashkent Pharmaceutical Institute

e-mail: dilobartayirova@mail.ru

<https://doi.org/10.5281/zenodo.11178317>

ARTICLE INFO

Received: 04th May 2024

Accepted: 10th May 2024

Online: 11th May 2024

KEYWORDS

Apple leaves, acute toxicity, antimicrobial action.

ABSTRACT

Young apple leaves have a variety of benefits, including supporting immunity and eye health, promoting nervous system and cellular function, strengthening the cardiovascular system, normalizing fluid, electrolyte, and acid balances, and promoting muscle contraction. We obtained fermented tea using a biotechnological method and studied it on 12 white mice, weighing 19-21g. An aqueous infusion was prepared from Tea from apple fruits and leaves and administered intragastrically to mice once in doses of 15 ml/kg and 25 ml/kg, which is 0.3-0.5 ml in volume. The data obtained show that tea from apple fruits and leaves has an antimicrobial effect on the growth of strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Staphylococcus aureus*, and on the growth of yeast-like fungi. A study of the antimicrobial effect of tea from apple fruits and leaves showed that fermented tea has antimicrobial activity.

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЧАЯ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЯБЛОНИ

Тайирова Дилобар Бахтияровна

Ассистент Ташкентский фармацевтический институт

Ташпулатова Насибахон Худоярхановна

Старший преподаватель Ташкентский фармацевтический институт

Додаев Акобир Уринбой угли

Студент Ташкентский фармацевтический институт

e-mail: dilobartayirova@mail.ru

<https://doi.org/10.5281/zenodo.11178317>

ARTICLE INFO

Received: 04th May 2024

Accepted: 10th May 2024

Online: 11th May 2024

KEYWORDS

ABSTRACT

Молодые листья яблони обладают разносторонними полезными свойствами, включая поддержку иммунитета и здоровья глаз, положительное



Листья яблони, острой токсичности, антимикробного действия.

*воздействие на нервную систему и клеточное функционирование, укрепление сердечно-сосудистой системы, нормализацию водного, электролитного и кислотного балансов, а также обеспечение мышечного сокращения. Мы получили ферментированный чай с биотехнологическим методом и изучали на 12 белых мышах, массой тела 19-21г, смешанного пола. Из Чая из плодов и листьев яблони готовили водный настой и вводили мышам однократно внутривентрикулярно в дозах 15 мл/кг и 25 мл/кг, что в объемах составляет 0,3-0,5 мл. Полученные данные показывают, что чай из плодов и листьев яблони оказывает антимикробного действия на рост штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, на рост дрожжеподобных грибов. Изучение антимикробного действия чая из плодов и листьев яблони показало, что Ферментированный чай обладает антимикробной активностью.*

Актуальность. Ферментированный чай - это такой сорт чая, подвергающийся микробиологической ферментации в промежутке начиная от нескольких месяцев до многих лет. Воздействие влажности и кислорода на чайные листья вызывает эндо- (Производное от ферментов самого чайного листа) и экзо- (катализирующийся микробами). Чайные листья и приготовленный из них ликер при окислении становится темным. Поэтому Производимые по всему Китаю ферментированные чаи также называют темным чаем, многие это путают с черным чаем[9].

Изменяется химический состав чайных листьев при их ферментации и это влияет на органолептические свойства чая, приготовленного из них. Ферментация оказывает влияние на запах чая и обычно смягчает его вкус, улучшает вкус и послевкусие во рту, уменьшая терпкость и горечь. Микробы могут вырабатывать метаболиты, полезные для здоровья, а также могут образовывать этилкарбамат (уретан). С возрастом постферментированный чай становится более ценным.

Темный чай часто выдерживают в бамбуковых корзинах, которые обернуты бамбуковыми листьями, или в особой упаковке. Многие разновидности темного чая подвергаются старению в условиях повышенной влажности, чтобы способствовать развитию определенных видов грибов[8].

Листья яблони обычно представляют собой цельные, чередующиеся, с черешком, чаще всего яйцевидные, с краем, обычно зубчатым или пильчатым, и, как правило, покрыты опушением снизу. Цветки, простые или махровые, имеют большие размеры (диаметр 3–4 см) и расположены на коротких цветоносах. Они обоеполые, окрашены от



белого до бледно-малинового оттенка и собраны главным образом в щитковидные соцветия. Яблоко, плод этого растения, имеет круглую форму (диаметр в основном 5–12 см, масса от 5–10 до 300–400 г) и содержит сочную мякоть, которая может быть кислой, кисло-сладкой или сладкой. Яблоня – культура с перекрёстным опылением, поэтому для процесса опыления требуются специфические сорта-опылители[13].

Разнообразие компонентов, содержащихся в плодах яблони, охватывает фруктозу, глюкозу, сахарозу, органические кислоты, витамины, пектин и другие элементы. Анализ биохимического состава плодов, относящихся к специфическим сортам яблонь, произрастающим в России, выявляет следующие характеристики: совокупное содержание сахаров – 10,9%, уровень титруемых кислот – 0,77%, показатели пектиновых веществ на сухой массе – 6,5%, наличие аскорбиновой кислоты – 10 мг/100 г, а также наличие Р-активных веществ – 240 мг/100 г. Питательная ценность сырья оценивается на 36 ккал в 100 г продукта, и в данном количестве присутствует до 3,3 г пищевых волокон. Пропорции белков, жиров и углеводов соответственно составляют 3, 0,8 и 6,3 г. Кроме того, листья яблони содержат около 88 г воды и 2,2 г золы на 100 г[13].

Сырье обладает богатым содержанием разнообразных элементов, таких как ретинол, бета-каротин, витамины группы В (В1, В2, В4, В5, В6, В9), калий, витамины К и РР, лютеин и зеаксантин, кальций, натрий, магний, фосфор, железо, медь, марганец, селен, цинк. Также присутствуют необходимые аминокислоты (валин, аргинин, изолейцин, гистидин, лизин, лейцин, метионин, триптофан, треонин, фенилаланин) и заменимые (серин, пролин, цистеин, тирозин, глутаминовая кислота, глицин, аспарагиновая кислота, аланин). Дополнительно, обнаружены фитостеролы, насыщенные жирные кислоты (миристиновая, стеариновая, пальмитиновая), моновенасыщенные жирные кислоты (олеиновая, также известная как Омега-9, пальмитолеиновая), и полиненасыщенные жирные кислоты (линоленовая, линолевая, Омега-3 и Омега-6). Это многообразие придает сырью уникальные свойства и питательную ценность[6,7].

Молодые листья яблони обладают разносторонними полезными свойствами, включая поддержку иммунитета и здоровья глаз, положительное воздействие на нервную систему и клеточное функционирование, укрепление сердечно-сосудистой системы, нормализацию водного, электролитного и кислотного балансов, а также обеспечение мышечного сокращения. Они также способствуют профилактике остеопороза и предупреждают анемию, а также помогают поддерживать здоровье пищеварительной системы.

Продукты, изготовленные на основе яблоневых листьев, широко используются при лечении гастрита и других заболеваний ЖКТ, заболеваний дыхательной системы, бессонницы, а также патологий почек и мочевого пузыря. Благодаря их противовоспалительному эффекту, они также могут быть эффективными при внешнем применении для борьбы с проблемами кожи, такими как акне. Этот уникальный набор свойств делает яблоневые листья ценным ресурсом для поддержания общего здоровья и лечения различных состояний.



Цель исследования. Технология получения ферментированный чая и изучение острой токсичности ферментативного чая листьев яблони.

Методы и методологии. Мы получили ферментированный чай с биотехнологическим методом. Для того чтобы получить чая с перво собирали 1 кг листьях яблони. Потом промывали и чистали не нужных веществ. После остуживания измельчали руками и обертывали листьях в марлях, оставили 3 часа чтобы ферментация прошло успешно. Потом открыли и сушили на леофилным сушке при температуре 65-70° С.

Острую токсичность - Чай из плодов и листьев яблони изучали на 12 белых мышах, массой тела 19-21г, смешанного пола. Из Чай из плодов и листьев яблони готовили водный настой и вводили мышам однократно внутрижелудочно в дозах 15 мл/кг и 25 мл/кг, что в объемах составляет 0,3-0,5 мл.

Животные находятся под ежечасным наблюдением в течение первого дня эксперимента, при этом в качестве показателей функционального состояния животных используют выживаемость в течение опыта, общее состояние, возможные судороги и гибель. Далее ежедневно, в течение 2-х недель, у животных обеих групп наблюдают за общим состоянием и активностью, учитывают поведенческие реакции, наблюдают за состоянием шерстного и кожного покрова. Все подопытные животные содержатся в одинаковых условиях и на общем рационе питания со свободным доступом к воде и пище [2]. После завершения эксперимента определяются средне- смертельные дозы (ЛД₅₀) [1].

Полученные данные статистически обрабатываются с помощью программы STATISTICA для Windows 21.

Специфическую активность (антимикробную активность) настоя определяют методом диффузии в агар на плотной питательной среде путём сравнения размеров зон угнетения роста тест- микробов, образующихся при испытании растворов [3,4,5].

Для анализа используют стерильные чашки Петри одинакового диаметра с ровным плоским дном. В чашки, установленные на горизонтальном столике наливают по 20 мл питательной среды определённого состава, заражённой 18 -20 часовой культурой тест – штаммов (*Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*). Для исследований используют соответствующие питательные среды.

Приготовление инокулюма: для приготовления инокулюма используют чистые суточные культуры микроорганизмов, выросших на плотных питательных средах. Отбирают несколько однотипных, чётко изолированных колоний. Петлёй переносят небольшое количество материала с вершечек колоний в пробирку со стерильным 0,9% раствором NaCl, доводя плотность инокулюма точно до 0,5 по стандарту Мак-Фарланда. Инокулюм используют в течение 15 мин после приготовления.

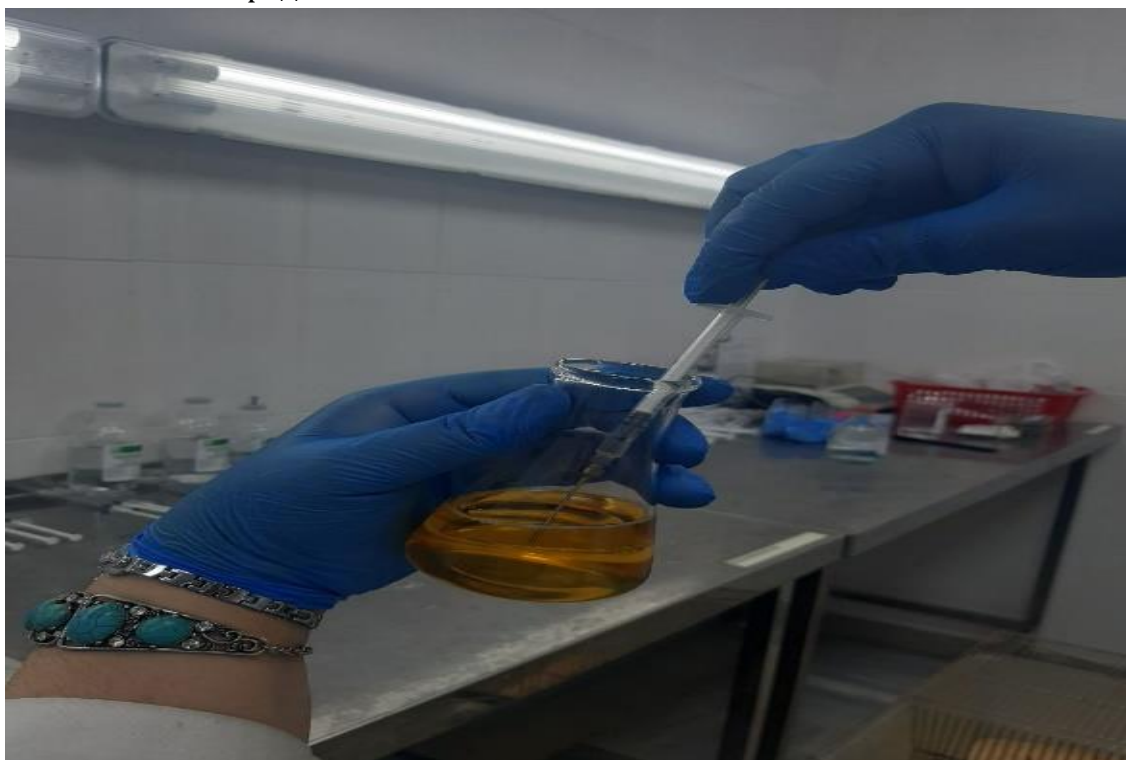
Проведение анализа: Для проведения испытания готовят настой Чай из плодов и листьев яблони на застывшей поверхности агара, в центре стеклянным цилиндром делают лунки. В лунки вносят настой Чай из плодов и листьев яблони в шести чашках Петри.

Инкубация: Чашки помещают в термостат при температуре $(36 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ на 18-24 часов.

После инкубации в термостате измеряют зоны угнетения роста микроорганизмов микробиологической линейкой с точностью до 1 мм. По размерам зон оценивают микробиологическую активность настоек Чая из плодов и листьев яблони.

Полученные данные статистически обрабатываются с помощью программы STATISTICA для Windows 21

Результаты исследования. опыты показали, что после однократного внутрижелудочного введения настоя Чая из плодов и листьев яблони в дозах 15 мл/кг и 25 мл/кг - в поведении и функциональном состоянии животных видимых изменений не наблюдалось. Все мыши активные, реагируют на внешние раздражители, потребление корма и воды было в норме. Шерстный и кожный покров без патологических изменений, диурез, консистенция и количество каловых масс без изменений. Признаков интоксикации не наблюдалось. В данной группе до конца эксперимента гибели среди животных не отмечалось.



А) Рисунок-1.А - приготовления образцов



Б) Рисунок-1.Б- процесс однократного внутрижелудочного введения настоя

LD₅₀ настоя Чая из плодов и листьев яблони составила более 25 мл/кг. Результаты исследования острой токсичности приведены в Таблице 1.

Таблица -1

Определение острой токсичности настоя Чая из плодов и листьев яблони

№ животны х	настой Чая из плодов и листьев яблони				
	вес, г	доза		путь введения	летальный исход
		мл/кг	мл		
1	20	15	0,3	в/ж	Нет
2	21		0,31		Нет
3	20		0,30		Нет
4	21		0,31		Нет
5	20		0,30		Нет
6	21		0,31		Нет



1	19	25	0,48	в/ж	Нет
2	20		0,5		Нет
3	21		0,52		Нет
4	19		0,48		Нет
5	20		0,5		Нет
6	21		0,52		нет
LD ₅₀		>25 мл/кг			

После инкубации в термостате измеряли зоны угнетения роста микроорганизмов, образуемые исследуемым раствором, микробиологической линейкой с точностью до 1 мм. По размерам зон оценивали микробиологическую активность исследуемого раствора.

Полученные данные показывают, что чай из плодов и листьев яблони оказывает антимикробного действия на рост штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, на рост дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*), Результаты эксперимента приведены в Таблице 2.

Таблица 2

Зоны подавления роста микроорганизмов под воздействием ферментный чай из плодов и листьев яблони

Раствор	Зоны подавления роста микроорганизмов, мм					
	Ps. aeruginus a	E. coli	Bac. subtilis	St. epidermidis	St. aureus	Candida albicans
Ферментативны й Чай из плодов и листьев яблони	5	5	10	10	20	15



Рисунок-2- процесс Зоны подавления роста микроорганизмов

Выводы. Из этого можно сделать вывод что, изучение антимикробного действия ферментированного чая из листьев яблони показало, что чай по показателю острая токсичность оказался не токсичным и ЛД₅₀ настоя составила более 25 мл/кг. Изучение антимикробного действия чая из плодов и листьев яблони показало, что Ферментный чай обладает антимикробной активностью.

References:

1. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л Медгиз 1963,-152 с.
2. Методические указания в Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. ХАБРИЕВА. Издание второе, переработанное и дополненное/. М.: - 2005. - М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005.- 830с
3. «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом (методические указания)» № 012-3/0093,Ташкент, 2007.
4. Государственная Фармакопея, XI издание, выпуск 2, Москва «Медицина», 1990. – С.210-215.
5. Государственная Фармакопея РУз, I издание, 2 часть, Ташкент 2021. – С.1451-1453.
6. Fermented Foods and Beverages. Dimitrios A. Anagnostopoulos and Dimitrios Tsaltas. Innovations in Traditional Foods. 2019, Pages 257-291



7. Characteristics and biochemical composition of kombucha – fermented tea.
https://www.researchgate.net/publication/340647677_Characteristics_and_biochemical_composition_of_kombucha_-_fermented_tea
8. Технологические особенности производства ферментированных напитков с использованием чайного гриба. Воробьева В.М., Воробьева И.С., Саркисян В.А., Фролова Ю.В., Кочеткова А.А. Вопросы питания. Том 91, № 4, 2022 115-120
9. Fermented Foods and Beverages. Dimitrios A. Anagnostopoulos and Dimitrios Tsaltas. Innovations in Traditional Foods. 2019, Pages 257-291.
10. Microbiological safety of traditionally processed fermented foods based on raw milk, the case of Mabisi from Zambia. Sijmen Schoustra, Charlotte van der Zon, Anneloes Groenenboom, Himoonga Bernard Moonga, John Shindano, Eddy J. Smid, Wilma Hazeleger. LWT Volume 171, 15 December 2022, 113997
11. Fermentation quality evaluation of tea by estimating total catechins and theanine using near-infrared spectroscopy. Suming Chen, Ching Yin Wang, Chao Yin Tsai, I. Chang Yang, Sheng Jie Luo, Yung Kun Chuang. 115, [103278].
<https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2021.103278>
12. Изучения Антимикробного Действия Стерильный Липосомальный Композиции С Использованием Жидкого Экстракта Juniperus Communis L. Tayirova D.B, Shakirova D.N, Allanazarova M.B. Central Asian Journal of Medical and Natural Science, 2022. P 636-642.
13. Antioxidant Properties of Apple Leaves and Fruits Extracts from Apple Leaves and Fruits as Effective Antioxidants. Dorota Bonarska-Kujawa, Sylwia Cyboran, Jan Oszmiański, and Halina Kleszczyńska Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(11), pp. 2339-2347, 4 June, 2011. <https://www.researchgate.net/publication/266246636>.