

Šungiidi antibakteriaalne toime

Silver Türk¹, Peeter Laurson², Ana Rebane¹, Tarmo Tamm³, Uno Mäeorg²

1- TÜ Bio- ja siirdemeditsiini Instituut
2- TÜ Keemia osakond
3- TÜ Tehnoloogiainstituut

Taust

Šungiidid on fossiilset, kambriumi-eelset süsinikku sisaldavad mineraalid

- Mõnedes šungiitides on fullereene (1)
- Mõnedes šungiitides on oksügrafeeni (2)
- Mõnede šungiitide vesiekstraktid ei vasta joogivee standarditele (Al^{3+} , Cd^{2+} , rohkesti Fe^{3+}), looduslikud šungiidiveed vastavad joogivee standardile (3)

Rakendusuuringud peamiselt NSVL ja Venemaa

- Kasutamine veefiltrites: adsorbeerib raskemetalle, toksine, *E. coli* (4)
- Ainult üks loomkatse: in vivo antioksidant (5)
- Patenteeritud kutaansed ravimid (Vene Föderatsioon)

Vee uuringud on asjassepuutuvad

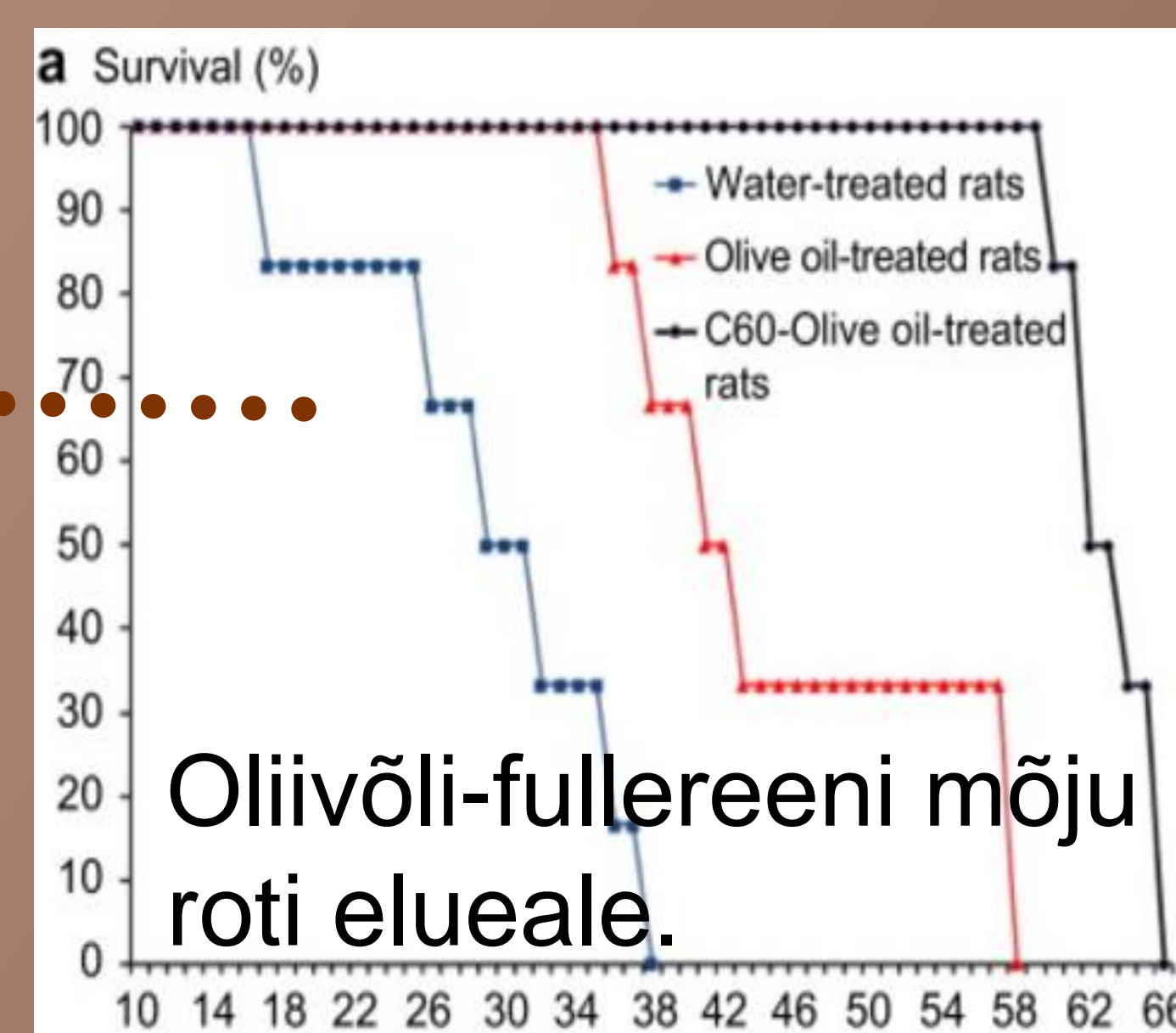
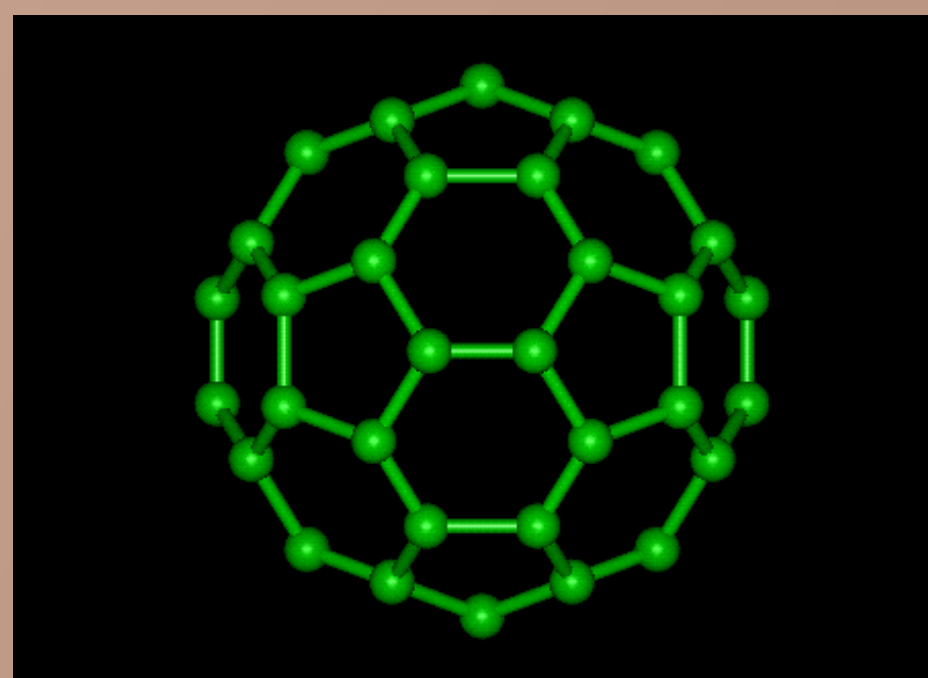
- Kõrge mineralisatsioon on antibakteriaalne (6)

Fullereenide biokeemia ja bioloogia

- Elektrofiil, antioksidant, vees ei lahustu
- Fullereen oliivõlis pikendab rottide keskmist ja maksimaalset eluiga (7)

Oksügrafeeni biokeemia ja bioloogia

- Elektrofiil, antioksidant, lahustub vees
- Oksüdeeritud grafeen on samuti antibakteriaalne – toimib rakumembraanile ja on oksüdeerija (8)



Täname:

OÜ Gyllenhaal
www.tervisekivi.ee

Eesmärgid

- Saada ülevaade šungiidi teadaolevatest biotoimetest
- Mõõta šungiidivee antimikroobne toime, eriti antibakteriaalne toime
 - Paralleelselt hinnata toksilisust inimese rakkude suhtes
- Võrrelda erinevatel viisidel valmistatud šungiidivete biotoimet *E. coli* näitel

▣ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus uberis*, *Candida albicans*

Meetodid

- Kirjanduse ülevaade
- Erinevate leotiste (24h vs 72h, 1:10 vs 3:7, kuumutamine, soolsus, peenestusaste) võrdlus
- Šungiidi keemiline koostis (FTIR, EDX, pH-meetria, Fe-ioonid, jodomeetria)
- Mikroobide säilivus šungiidivees ja šungiidi mõju söötmes
- 10% Šungiidivee mõju inimese keratinotsüütide koekultuurile
- Mikroobide säilivus dest.vees vs šungiidivees 24h (kõik mikroobid) ja erinevatel aegadel (*E. coli*, *P. aeruginosa* time-kill curve)
- 3:7 vesiekstrakti MIC ja MBC

Viited

- G. Parthasarathy and M. Vairamani. 2003. Testing for fullerenes in geologic materials: Oklo carbonaceous substances, Karelian shungites, Sudbury Black Tuff: Comment and Reply. *Geology*, 31(1): e32-e33
- Rozhkova NN, Sheka EF Shungite as loosely packed fractal nets of graphene-based quantum dots. 2016. *Carbon Nanomaterials Sourcebook*, pp.153-176
- Charykova, M.V., Boryakova, I.I., Polekhovskii, Y.S. et al. *Russ J Appl Chem* (2006) 79: 29.
- Mosin O, Ignatov I. The structure and composition of natural carbonaceous fullerene containing mineral shungite. *IJASR* 2013. 3:6(9-21).
- Tyutyunnik, N.N. et al. Influence of shungite carbon nanoparticles on The physiological condition of dark brown Mink. 2009; Central Scientific Agricultural Library, Russian Academy of Agricultural Sciences. *Scientificur* 33(3):88.
- Serrano C, Romero M, Alou L, Sevillano D, Corvillo I, Armijo F, Maraver F. Survival of human pathogenic bacteria in different types of natural mineral water. *J Water Health*. 2012 Sep;10(3):400-5.
- The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of [60]fullerene. Baati T1, Bourasset F, Gharbi N, Njim L, Abderrabba M, Kerkeni A, Szwarc H, Moussa F. *Biomaterials*. 2012 Jun;33(19):4936-46.
- Liu S, Zeng TH, Hofmann M, Burcombe E, Wei J, Jiang R, Kong J, Chen Y. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. *ACS Nano*. 2011 Sep 27;5(9):6971-80.

Tulemus: šungiidivesi on tugevalt antibakteriaalne, aga mitte toitainete juuresolekul

- Mikrobitsiidne toime:
 - Escherichia coli*
 - sh 370000 PMÜ/ml
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Streptococcus uberis*
- Toime puudub:
 - Staphylococcus aureus*
 - Candida albicans*
 - Inimese keratinotsüüdid[▣]
- Toime mehhanism
 - Sulfit - ei
 - H⁺ - ei
- MIC
 - >50%#

Kolooniaid moodustavad ühikud / ml destilleeritud vee (Dest.) versus 3:7 šungiidi vesiekstrakti (Šunga) võrdluses pärast 24h inkubatsiooni						
	<i>Pseudomonas</i>		<i>Streptococcus</i>		<i>Escherichia</i>	
	Dest.	Šunga	Dest.	Šunga	Dest.	Šunga
	188000	0	29000	0	76000	0
	20000	0	78000	0	370000	0
	63000	0	102000	0	189000	0
	6900	0	57000	0	63000	0
	9200	0	11000	0	500000	0
	2800	0	44000	0	500000	0
	30000	0	58000	0	404000	0
mediaan	20000		57000		370000	
min	2800		11000		63000	
TTEST p	0.1167		0.0032 *		0.0057 *	

ŠUNGIIDIVEE toime kõrge inoculumi ja lühiajalise inkubatsiooni korral 1:10 ekstrakt

Valmistati šungiidileotis 100 g / l (lastud keema ja leotatud 72 h)
Valmistati *E. coli* ja *P. aeruginosa* hõõrutatud suspensioonid, 100 µl suspensiooniga inokuleeriti 900 µl vett ja š-leotist inkubeeritud lahustest valmistati seerialahjendused 1:10, 1:100, 1:1000 ja 1:10000[▣]
Seerialahjendustest tehti väljakulvid
E. coli vees: 110 miljonit CFU/ml
E. coli 90% š-leotises: 37 miljonit CFU/ml
P. aeruginosa vees: 120 miljonit CFU/ml
P. aeruginosa š-leotises: 52 miljonit CFU/ml

▣ - 10%
3:7ekstrakti

Ekstraktide erinevused

Toimet *E. coli* suhtes tugevdasid

- Kuumutamine
- Pikem (72h) leotamine
- Suurem peenestusaste

Kuivjäägi kogus ekstraheerimisel:

- 25% NH₃-vesi >> vesi >> etüülatsetaat, >99% äädikhape, petrooleeter
- pH_{3:7ekstr} = 3.1

