

**UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**

Studijní obor: Zdravotnická technika a informatika



**SLEDOVÁNÍ VLIVU EXPOZICE ELEKTROMAGNETICKÝM POLEM NA KOLONII
KVASINEK**

Monitoring the impact of exposure to electromagnetic fields in yeast colonies

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Ing. Jaroslav Vorlíček

Autor: Bc. Renata Hájková

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze

Souhlasím – Nesouhlasím*

V Praze, 27.5.2011

Renata Hájková

Podpis:

* Nehodící se škrtněte

Poděkování:

Děkuji Ing. Jaroslavu Vorlíčkovi za odborné vedení diplomové práce, členům Laboratoře biologie kvasinkových kolonií Přírodovědecké fakulty za cenné rady a poskytnutý materiál a v neposlední řadě RNDr. Bohuslavě Trnkové za umožnění vypracování diplomové práce v prostorách Ústavu klinické biochemie 1. Lékařské fakultě.

Identifikační záznam:

HÁJKOVÁ, Renata. *Sledování vlivu expozice elektromagnetickým polem na kolonii kvasinek [Monitoring the impact of exposure to electromagnetic fields in yeast colonies]*. Praha, 2011, rok vydání. 74s., 2. příl. Diplomová práce (Mgr.). Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta, Fakulta elektrotechnická, Katedra elektromagnetického pole, ČVUT v Praze. Vedoucí závěrečné práce Vorlíček, Jaroslav, Ing.

Abstrakt:

Současný rozvoj mobilních komunikačních zařízení a jejich rozšíření ve společnosti, obrací pozornost veřejného mínění směrem ke studiu vlivu možného působení elektromagnetického pole na živé organismy. Výsledky této práce přispívají k hlubšímu poznání interakcí elektromagnetického pole s buněčnými strukturami.

V úvodu práce jsou shrnuté morfologické a fyziologické znaky kvasinek, které jsme v této práci použili jako modelový organismus. Další kapitola se věnuje základním faktům o elektromagnetickém záření a bezdrátovému přenosu energie.

Cílem praktické části této diplomové práce je zmapovat účinky působení elektromagnetického pole na kvasinkovou kulturu v průběhu jejich buněčného dělení.

Buňky jsou naředěny do živných roztoků o různé koncentraci a poté je sledován jejich proces dělení v přesně definovaném elektromagnetickém poli. Pro tyto účely byla zkonstruována unikátní expoziční komora s ozařovačem na anténní bázi. Rozvoj kolonie buněk je sledován v čase, kvantifikace změn se provádí za pomoci spektrálního fotometru. Naměřené hodnoty jsou porovnávány s kontrolním vzorkem, který nebyl vystaven záření, a zjištěné rozdíly jsou statisticky interpretovány na bázi T - testu.

Klíčová slova:

Elektromagnetické pole, *Saccharomyces cerevisiae*, vliv elektromagnetického záření na organismus, bezdrátová komunikace, modelový organismus

Abstract:

Current development of mobile telecommunication device increases interest of public to the question of influence of electromagnetic field to the living organisms. Results of this work contribute to better knowledge of interaction between electromagnetic field and cell structures.

Beginning of the thesis is review of morphology and physiology of the yeast cell that was used in this work as a tested organism. Second chapter describe the basic facts about electromagnetic fiend and wireless energy transfer.

Goal of the practical part of this master thesis is describe influence of electromagnetic field on population of yeast during their proliferation.

We constructed special box connected with wireless energy generator that was source of exactly defined electromagnetic field. Cells of *Saccharomyces cerevisiae* were diluted in fluid medium YPD and the proliferation of the culture was controlled in time. Proliferation was quantified by photometric method and the results were statistically interpreted.

Keywords:

electromagnetic field, *Saccharomyces cerevisce*, influence of electromagnetic field to organism, wireless technics

OBSAH

1	Úvod.....	7
1.1	Cíle práce.....	7
2	Kvasinky	8
2.1	Taxonomie	8
2.2	Morfologie kvasinek.....	9
2.3	Cytologie	10
2.4	Chemické složení buňky	13
2.5	Metabolizmus kvasinek.....	14
2.6	Rozmnožování kvasinek.....	14
2.7	Význam a využití.....	18
3	Elektromagnetické pole.....	20
3.1	Spektrum elektromagnetického záření	21
3.2	Elektromagnetický náboj.....	21
3.3	Maxwellovy rovnice a vlnová rovnice	23
3.4	Elektromagnetická vlna	25
3.5	Antény	29
4	Rizika z expozice neionizujícího elektromagnetického záření	32
4.1	Interakce elektromagnetického pole s biologickou tkání	33
4.2	Zjišťování vlivu elektromagnetických polí na živé organismy	40
5	Materiál a metody	43
5.1	Uspořádání pokusu	43
5.2	Expoziční komora.....	43
5.3	Spektrofotometr.....	46
5.4	Vzorky	46
5.5	Metoda vyhodnocování	48
6	Výsledky	49
6.1	Rozložení hodnot.....	49
6.2	Průběh absorbancí	52
6.3	Studentův t-test.....	54
7	Diskuze.....	58
8	Závěr	61
9	Použité zdroje.....	62
9.1	Internetové zdroje.....	66
10	Přílohy	68
10.1	Příloha 1: Obrazová dokumentace	68
10.2	Příloha 2: Grafy	71

1 ÚVOD

V souvislosti s bouřlivým rozvojem informačních bezdrátových technologií jsme svědky nevídaného nárůstu umělých zdrojů elektromagnetického pole. Zatímco přínos těchto technologií pro společnost je nesporný, doposud nebyl spolehlivě prokázán vliv těchto polí na jejich uživatele a další živé organismy.

V roce 1997 vyhlásila Světová zdravotnická organizace (WHO) výzkumný projekt, jehož úkolem bylo získat dostatek poznatků k definitivnímu rozhodnutí, zda kromě dvou zjištěných krátkodobých účinků expozice elektromagnetickému poli ve frekvenčním intervalu 0 Hz – 300 GHz (ohřívání tkáně těla a dráždění nervové soustavy) (*Jelínek 2009*) existují účinky jiné, například dlouhodobé, vyvolávající závažná onemocnění jako je rakovina (*Feychting, 1993, Savitz, 1988*), Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba (*Gabriel 1996*). Studií zabývajících se tímto tématem bylo za posledních 20 let napsáno mnoho, dodnes ovšem nebyly prokázány žádné škodlivé účinky elektromagnetického pole. Téma „elektromagnetické pole a zdraví“ přesto zůstává aktuální otázkou dnešní doby.

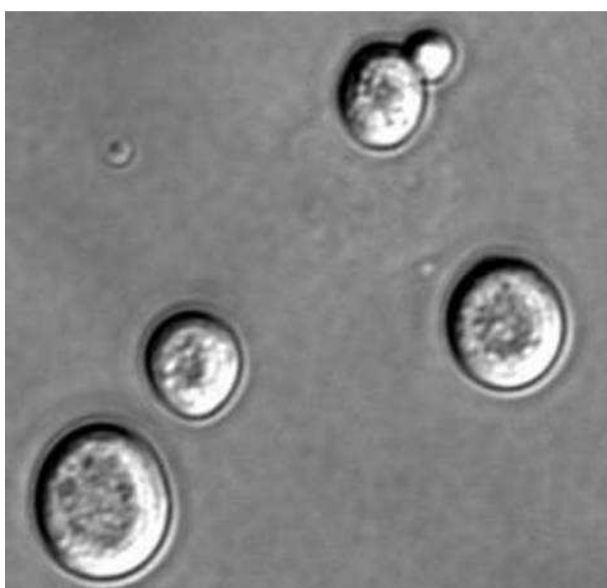
Kromě nesnadného aranžmá je u epidemiologických studií limitující i etický otázka experimentů probíhajících na lidech. I z toho důvodu se shledáváme s pokusy, které využívají jako sledované organismy prokaryotické nebo eukaryotické kultury (*Nawarathna 2006, Hönes 1998, Elez-Martinez 2004*). Oproti epidemiologickým studiím pokus s mikrobiologickým materiálem s sebou nese méně rušivých faktorů a jsou lépe přístupné cílenějšímu experimentování. Úspěšnost těchto studií závisí na dobře definovaných parametrech a pečlivé kontrole průběhu expozice, přípravy biologického materiálu a zpracování výsledků.

1.1 CÍLE PRÁCE

1. Zmapovat účinky působení elektromagnetického pole na kolonii kvasinek v průběhu jejich buněčného dělení.
2. Vytvořit expoziční komoru, kde bude možné zajistit homogenní elektromagnetické pole o požadované frekvenci.

2 KVASINKY

Kvasinky jsou heterotrofní převážně jednobuněčné eukaryotní organismy, pro které je charakteristické zpracovávání zdrojů uhlíku kvašením. Od schopnosti většiny druhů přeměňovat monosacharidy a některé disacharidy, případně i trisacharidy na ethanol a oxid uhličitý je odvozen i jejich český název. Díky sacharolytickým vlastnostem je výskyt kvasinek svázán s materiály obsahujícími cukry (Janderová 1999).



Obr. 1: *Saccharomyces cerevisiae* pod mikroskopem

2.1 TAXONOMIE

Nadříše: *Eucaryota*

Říše: *Fungi*

Oddělení: *Eumycota*

Třída: *Ascomycetes, Basidiomycetes, (Deuteromycetes)*

Kvasinky náleží do říše hub - *Fungi*. Netvoří však žádnou přirozenou taxonomickou skupinu, a proto je není možné jednotně definovat. Jako takové jsou podle způsobu pohlavního rozmnožování řazeny do dvou oddělení hub: *Ascomycota* - vřeckovýtrusné houby, *Basidiomycota* – stopkovýtrusné houby. U některých kvasinek není pohlavní rozmnožování známé, ty patří do pomocné skupiny *Deuteromycota* - imperfektní houby, která náleží k oddělení *Ascomycota* (Janderová 1999, Kalina 2005).

2.2 MORFOLOGIE KVASINEK

2.2.1 Tvar buněk

Podle morfologických znaků, jako je typ pučení, vzhled a tvar buněk, uspořádání asků, tvar askospor či basidií, jsme obvykle schopni určit jednotlivé rody kvasinek.

Morfologie kvasinek souvisí zejména se způsobem jejich vegetativního rozmnožování - pučení nebo dělení - částečně je ovlivněn i vnějšími podmínkami a úzce souvisí s vlastní funkcí buňky (Kalina 2005).

Za základní tvar se považuje rotační elipsoid s možnými odchylkami. Kromě elipsoidní buňky (*Saccharomyces*) se nejčastěji setkáváme s tvarem vejčitým až kulovitým (*Rhodotorula*). Některé rody tvoří dlouze protáhlé buňky, vyskytuje se však i tvar citronovitý, trojúhelníkovitý (*Trigonopsis*) a válcovitý (*Schizosaccharomyces*) (Kocková-Kratochvílová 1990).



Obr. 2: Tvary kvasinkových buněk

a- kulatý; b- oválný; elipsoidní; c- citronovitý; d- ogivální; e- lahvovitý; f- podlouhlý; g - vláknitý

Velikost kvasinek se obvykle pohybuje mezi 3-15 μm . Kromě rodové příslušnosti má na ni vliv i způsob kultivace.

Některé kvasinky tvoří tzv. pseudomycelium, které vzniká tím, že protáhlé buňky kvasinek pučící na pólech zůstávají po pučení spojeny v dlouhá zaškrcovaná vlákna (Vázquez-Tsuji a kol. 2005). Jiné rody kvasinek mohou vytvářet tzv. pravé

mycelium, tj. vlákno vznikající příčným dělením buněk. Tvorba pravého mycelia a pseudomycelia je charakteristická hlavně pro rody se silným aerobním metabolismem (*Kocková-Kratochvílová 1990*).

2.2.2 **Kolonie**

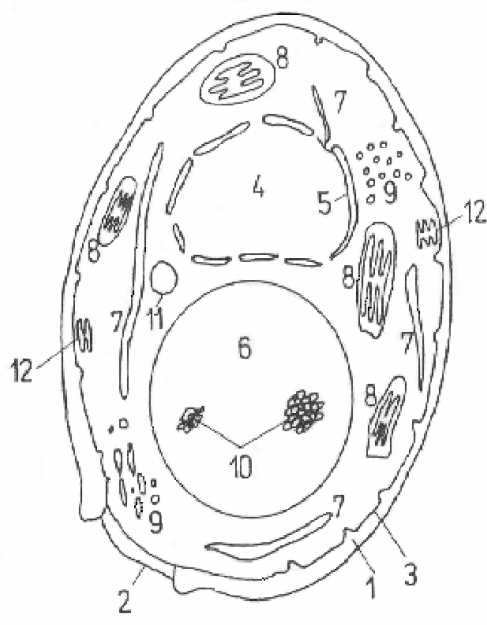
Vzhled kolonií kvasinek je druhově a rodově specifický, ale závisí i na složení živné půdy, kultivačních podmínkách (teplota, vlhkost, vyčerpání živin, vliv metabolitů), tvaru a velikosti buněk, tvorbě spor a na spontánních mutacích (*Janderová 1999*).

Díky genům *rgh1*, *rgh2* a *rgh3* se nejčastěji tvoří kolonie hladké, drsné nebo slizovité. Avšak vzhled laboratorních a čerstvě izolovaných divokých kmenů přirozeného prostředí se velmi liší. Laboratorní kmeny *Saccharomyces cerevisiae* obvykle tvoří hladké kolonie, zatímco čerstvě izolované divoké kmeny vytvářejí kolonie „vločkovitě strukturované“. (*Palková 2004*)

Buňky uvnitř „vločkovitých“ kolonií jsou spojeny mimobuněčnou matrix, která má funkci jakési kostry. Růst ve vločkovitém uspořádání zřejmě přináší kvasinkám výhody za nepříznivých podmínek, protože při růstu na bohatém médiu v podmínkách *in vitro* se tato struktura nevytváří. Navyknutí na laboratorní podmínky je u kvasinek doprovázeno ztrátou této matrix a značně změněnou expresí asi 320 genů (*Palková 2004*).

2.3 **CYTOLOGIE**

Buňka kvasinek je „mnohosložkový“ systém, ve kterém membrány ohraničují reakční prostory – kompartmenty: jádro, mitochondrie, endoplazmatické retikulum, vakuoly, ribozómy, protoplasty a Golgiho aparát (obr. 3). Chemické složení, stavba a funkce buněčných komponent se příliš neliší od jiných eukaryot (*Janderová 1999*).



- 1 – buněčná stěna
- 2 – jizva zrodu
- 3 – cytoplazmatická membrána
- 4 – jádro
- 5 – jaderná membrána
- 6 – vakuola
- 7 – endoplazmatické retikulum
- 8 – mitochondrie
- 9 – glykogen
- 10 – polymetafosfát (volutin)
- 11 – lipidy
- 12 – Golgiho aparát

Obr. 3: Schéma průřezu buňkou kvasinek

2.3.1 **Buněčná stěna**

Buněčná stěna je pevná, odolná a elastická struktura, která dává buňce charakteristický tvar a chrání ji před mechanickými vlivy a osmotickým šokem. Tloušťka stěny se pohybuje v rozmezí 100-400nm. Typická je odlišnost chemického složení stěny kvasinek od buněčné stěny rostlinných a bakteriálních buněk a tvorba jizev, jako trvalých struktur po pučení. Na mateřské buňce zůstává jizva po pučení, na dceřiné jizva zrodu. Obě jizvy jsou bohaté na obsah chitinu. Vzhledem k tomu, že buňky nikdy nepučí ve stejném místě, počet jizev současně určuje i stáří buňky (Kocková-Kratochvílová 1982).

Hlavní složkou buněčné stěny kvasinek jsou polysacharidy, které představují 80% sušiny stěny. Některé kvasinky mohou tvořit i pouzdro. Permeabilita stěny kvasinky závisí na charakteru kvasinkové buňky a má na ni vliv nejen tvorba substrátu a přítomnost iontů draslíku nebo sodíku, ale i oxidačně-redukční procesy (Janderová 1999, Kocková-Kratochvílová 1990).

2.3.2 **Cytoplazmatická membrána**

Cytoplazmatická membrána je složená z lipidů a proteinů a vytváří četné vychlípeniny vybíhající do cytoplazmy. Je elastickým obalem a ochrannou bariérou na povrchu buňky a místem, kde se odehrává biosyntéza některých komponentů buněčné

stěny a vnějších obalů (*Janderová 1999*). Protože je volně propustná pouze pro malé molekuly bez náboje, tvoří osmotické rozhraní mezi buňkou a vnějším prostředím a kontroluje vstup a výstup látek do buňky a z buňky. Na rozdíl od prokaryotických buněk, v cytoplazmatické membráně kvasinkových buněk neprobíhají oxidační reakce (*Kocková-Kratochvílová 1982*).

2.3.3 **Cytoplazma a organely**

Cytoplazma je kapalná výplň buňky koloidního charakteru, která obklopuje všechny organely a vytváří pro ně prostředí nutné pro jejich činnost. Koloidní charakter zapříčiňují rozpustné bílkoviny, glykogen a jiné rozpustné makromolekulární rezervní látky, přítomné zejména při nedostatku živin. U některých rodů kvasinek se jako rezervní látka vyskytuje také tuk.

U mladých buněk je cytoplazma průhledná, homogenní hmota. V pozdějším období života buňky jsou zde suspendovány membránově ohraničená mikrotělíška - mikrozomy, peroxizomy, glyoxozomy a makromolekulární útvary organely (*Janderová 1999*).

Jako jiné eukaryotické buňky obsahují kvasinky organely, které jsou ohraničeny vlastní membránou a plní vlastní specifickou funkci.

Endoplazmatické retikulum je rezervoárem enzymů a jiných látek. Jeho membrána je značně pórovitá a na vnějším povrchu můžou být přichycené ribozomy – drsné endoplazmatické retikulum. Část, neobsahující ribozomy se nazývá hladké endoplazmatické retikulum (*Alberts 2005*).

Ribozomy jsou místem syntézy bílkovin. Kromě formy vázané na endoplazmatické retikulum je část ribozomů v buňce přítomná volně v nevázané formě. Obě organely mají zásadní význam při přepisu DNA do bílkovin (*Janderová 1999*).

Mitochondrie je organela, ve které se odehrává většina metabolických procesů buňky. Ohraničují ji vnější a vnitřní membrány. Vnitřní membrána vysílá do vnitřku mitochondrie záhyby tzv. kristy. Mezi membránami vzniká prostor vyplněný matrixem, který obsahuje enzymy β -oxidace a citrátového cyklu. Mitochondrie jsou sídlem dýchacích enzymů a systému oxidační fosforylace, takže jejich funkce spočívá zejména v aerobních energetických přeměnách. Kromě toho zde probíhá syntéza některých

mitochondriálních bílkovin, proto zde nalézáme také tRNA, mRNA a ribozomy (*Janderová 1999*).

Mitochondrie obsahují vlastní RNA a malé množství DNA, obsahující mimojadernou genetickou informaci buňky. Genetická informace se zmnožuje s jejich dělením (*Špický 1992*).

2.3.4 **Jádro**

Buněčné jádro je kulatá až laločnatá organela nacházející se ve středu buňky nebo uložené excentricky. Je od cytoplazmy odděleno dvojitou jadernou membránou s velkými póry, které regulují výměnu látek mezi jádrem a cytoplazmou. Na rozdíl od většiny eukaryotických buněk, se jaderná membrána kvasinek během mitózy nerozpadá (*Janderová 1999*).

Jádro obsahuje genetickou informaci buňky. Tato informace je zakódována v sekvenci bází molekul DNA, které tvoří určitý počet chromozomů, charakteristický pro každý druh. Nejlépe prostudovaná kvasinka *Saccharomaces cerevisiae* obsahuje 16 chromozomů (*Špický 1992*).

Součástí jádra kvasinek je také jadérko – útvar srpkovitého tvaru, které je uložené těsně pod jadernou membránou a shromažďují se na něm ribozomy.

V jádře *Saccharomyces cerevisiae* se vyskytuje také nízkomolekulární DNA, která má kruhovou strukturu a je obdobou plazmidů bakterií (*Špický 1992*).

2.4 **CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUŇKY**

Chemické složení buňky kvasinek je velmi variabilní v závislosti na druhu a kmeni, fyziologickém stavu buněk, neméně na kultivačních podmínkách, živných půdách a na stáří kultury.

60 - 80% buněčné hmoty tvoří voda. Nejvíce vody obsahuje cytoplazma, šťávy vakuol, jádro, buněčná stěna a spory. Významný podíl sušiny kvasinek tvoří bílkoviny a dále sacharidy (*Janderová 1999*).

U *Saccharomyces cerevisiae* se uvádí složení sušiny následovně: dusíkaté látky 45-60%, cukry 15-37%, lipidy 2-12%, minerální látky 6-12%, dále jsou přítomny růstové látky a biologicky významné sloučeniny (vitamin B a C, provitamin A a D) (*Němec 2002*).

Nukleové kyseliny představují 10 % sušiny. Kromě přítomnosti v jádře a mitochondriích, jsou v buňkách vázány na bílkoviny a tvoří komplexy zvané nukleoproteiny. Lipidy jsou v buňkách obsaženy jako tuky vázané v buněčné stěně nebo jako tuky volné v cytoplazmě ve formě tukových kapének, podstatnou část tvoří i složené tuky. Z iontů kovů je v největším množství v buňce zastoupen draslík, méně pak hořčík, vápník a sodík (*Němec 2002*).

2.5 METABOLIZMUS KVASINEK

Metabolismus je souhrn látkových přeměn. Odehrává se v kvasinkových buňkách a jejich prostředí. Metabolismus můžeme rozdělit na anabolickou a katabolickou aktivitu. Anabolismus vede k syntéze složek buňky za spotřeby energie. Katabolismus představuje degradativní pochody vedoucí k tvorbě energie. Toto je označováno jako energetické spřažení drah (*Janderová 1999*).

Pro mikroorganismy je charakteristická vysoká intenzita metabolismu, která je silně ovlivněna vnějšími podmínkami. Dostatečný přísun živin, vhodná teplota a pH prostředí vede k intenzivnímu metabolismu a rychlé syntéze buněčné hmoty. Ta se za optimálních podmínek u *Saccharomyces cerevisiae* nebo *Candida utilis* zdvojnásobí už zhruba za 2 hodiny (*Vodrážka 2006*). U různých kmenů lze kultivačními podmínkami ovlivnit i poměry metabolických produktů.

Jako zdroj uhlíku a energie kvasinky využívají především mono- a disacharidy, méně pak oligo- i polysacharidy, ale mohou být využity i další látky – glycerol, laktát, etanol, metanol, alkyany atd. U většiny kvasinek probíhá zpracování uhlíku za aerobních podmínek glykolýzou a navazujícím Krebsovým cyklem (*Němec 2002*). U fermentujících kvasinek je energie tvořena kvašením. Produkty metabolismu kvasinek mohou být nejen CO₂, etanol, H⁺, ale i glycerol, acetát, sukcinát atd. (*Vodrážka 2006*).

2.6 ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK

Rozmnožování kvasinek probíhá dvěma způsoby, pohlavně a nepohlavně. Ač některé rody upřednostňují pohlavní rozmnožování, většina rodů se rozmnožuje vegetativně, nepohlavně (*Janderová 1999*).

2.6.1 **Pohlavní rozmnožování**

Pohlavní dělení vzniká sblížením a následným splynutím (konjugací) dvou buněk opačného párovacího typu. Výsledkem pohlavního rozmnožování jsou spory.

Konjugace má dvě fáze. Haploidní jádra obou buněk se dostanou do společné cytoplazmy (plazmogamie) splynutých buněk až dojde ke splynutí obou jader v jedno (karyogamie) a vytvoří se tak jádro obsahující diploidní genetickou informaci. Diploidní jádro se poté dělí meiózou.

Pohlavní rozmnožování je známé u kvasinek řadících se do skupin Askomycetes a Basidiomycetes souhrnně nazývanými jako teleomorfní kvasinky. Většina kvasinek se řadí do první skupiny, které tvoří jako pohlavní spory askospory, což jsou endospory, umístěné v asku. Rody kvasinek řadících se do druhé skupiny tvoří pohlavní exospory vznikající z protáhlé buňky zvané bazidie (*Janderová 1999*).

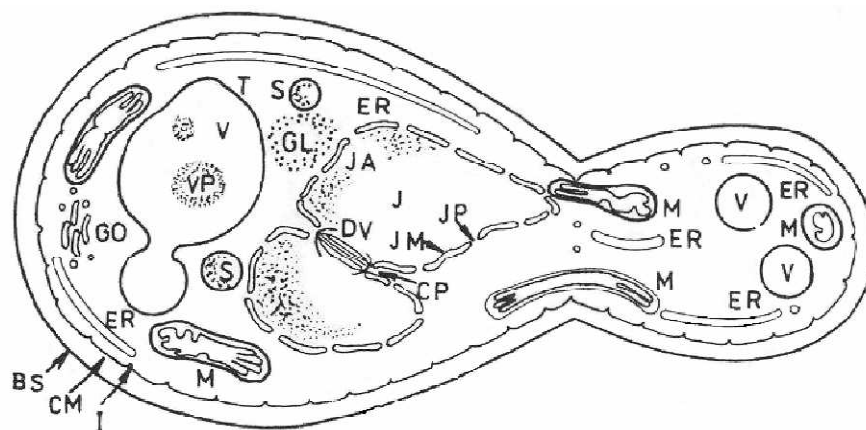
Pohlavní rozmnožování se využívá při křížení kvasinek, s cílem získat nové kmeny s průmyslově vhodnými vlastnostmi (*Palková 2004*).

2.6.2 **Vegetativní rozmnožování**

Při nepohlavním rozmnožování dochází k mitotickému dělení jádra. U většiny rodů probíhá dělení pučením, zřídka se u kvasinek pozoruje příčné dělení (*Janderová 1999*).

Během pučení z mateřské buňky vyrůstá buňka dceřiná, která se po dosažení určité velikosti oddělí. Před zahájením pučení dochází ke splývání blan endoplazmatického retikula a pak k jeho dělení. Následuje opakovanému dělení vakuol a ke změně tvaru mitochondrií v dlouze protáhlé.

Pučením vznikne malá dceřiná buňka - pupen, která je spojena kanálkem s mateřskou buňkou (obr. 4). Společně s částí cytoplazmy a drobnými vakuolami a mitochondriemi do pupenu vstupuje i jádro, které bylo před tím mitoticky rozděleno. Poté se kanálek spojující obě buňky uzavře. Po vytvoření buněčné stěny mezi mateřskou a dceřinou buňkou, vzrůstu velikosti pupenu a spojení drobných vakuol ve vakuolu jedinou je pučení ukončeno (*Janderová 1999*).



Obr. 4: Schématické znázornění struktury pučící buňky

J – jádro, JP – jaderný pór, JM – jaderná membrána, DV – vřeténko, CP – plaky, ER – Endoplazmatické retikulum, V – vakuola, VP – pinocytóza, T – tonoplast, GO – Golgiho aparát, M – mitochondrie, BS – buněčná stěna, GL – globuly, CM – plasmalema, I – invaginace

Podle místa, kde pupen na povrchu buňky vzniká, se rozlišuje pučení monopolární, bipolární a multipolární. Při monopolárním pučení pupen vzniká na jednom, vždy stejném pólu protáhlé buňky. Bipolárně pučící kvasinky vytvářejí pupen střídavě na obou pólech buňky. U multipolárně pučících kvasinek (rod *Saccharomyces*) může pupen vznikat na kterémkoliv místě buňky, nevytváří se však nikdy na stejném místě.

Některé buňky mohou vytvářet jenom jeden pupen (rod *Saccharomyces*), jiné i několik pupenů najednou (pučení multilaterální).

Pokud nedojde během pučení k uzavření přepážky mezi buňkami, zůstávají obě buňky spojené a vytvářejí různé rozvětvené svazky buněk. Např. již zmíněné pseudomycelium nebo pravé mycelium (*Janderová 1999*).

2.6.3 **Buněčný cyklus**

Buněčný cyklus kvasinek nese charakteristiky buněčného cyklu eukaryotní buňky. V průběhu pučení si mateřská buňka zachovává původní velikost, zatímco dceřiná buňka (pupen) se během cyklu zvětšuje. Jednotlivé fáze buněčného cyklu jsou doprovázeny významnými morfologickými změnami viditelnými pod světelným mikroskopem (*Špický 1992*).

Před vznikem malého pupenu začíná cyklus u *Saccharomyces cerevisiae* tvorbou vřeténka. Současně probíhá syntéza DNA v chromozomech, z nichž každý se zdvojuje ve dvě chromatidy spojené centromerou. Po skončení syntézy DNA nastává migrace

jádra a jeho mitotické dělení, chromozómy se rozdělí podél centromery a mikrotubuly vřeténka táhnou sesterské chromatidy k opačným pólům. Po přetržení vřeténka dají polární tělíska vzniknout dvěma samostatným jádrům, z nichž každé má jedno polární tělísko s mikrotubuly a stejný počet chromozómů jako mělo původní jádro (*Špický 1992*).

Mezi tím již pupen doroste téměř do velikosti mateřské buňky a následuje oddělení obou buněk. Tím se celý cyklus uzavře.

Časově cytokinézy přechází až do G1-fáze následujícího buněčného dělení. Z hlediska obsahu genetického materiálu v jádře můžeme celý cyklus buněčného dělení kvasinek rozdělit do čtyř period (*Špický 1992*):

1. G1-fáze, kdy je v haploidní buňce každý gen jenom jednou, chromozóm je tvořen jednotkovou chromatidou.
2. S-fáze, tj. fáze syntézy chromozomální DNA a vytvoření dvou chromatid z jednoho chromozómu. Princip replikace při zdvojení DNA chromozómu je v tom, že se dvojšroubovice DNA rozpojí a v místech, kde se uvolnily vazby mezi bázemi, se připojují komplementární báze tak, že vzniká opět kompletní dvošroubovice (dvě sesterské chromatidy). S-fáze spadá do doby, kdy se vytváří pupen.
3. G2-fáze, kdy je již replikace chromozomální DNA ukončena.
4. M-fáze, kdy probíhá mitóza. Při mitóze se neporušuje integrita jaderné membrány. Časová hranice mezi fázemi G2 a M je určována prvními morfologickými znaky dělení jádra (jádro se protahuje), strukturními změnami chromozómu (jejich kondenzací) a chováním dělicího aparátu (*Janderová 1999*).

Celý cyklus buněčného dělení je u *S. cerevisiae* pod kontrolou zhruba sedmdesáti genů, z nichž některé mají regulační funkci (*Sveiczner 2003*). Tyto geny jsou označovány CDC (z angl. cell division cycle). Z hlediska regulace buněčného cyklu je důležitý tzv. start, který se nachází v druhé polovině G1-fáze. V tomto bodě se rozhoduje, zda buňka nastoupí buněčné dělení.

K zahájení dalšího pučení a replikace DNA je nutné, aby buňka měla určitou velikost po průchodu tzv. startem. Většinou je dceřiná buňka menší než buňka mateřská, dělení je proto označováno jako nerovnocenné. To způsobuje, že další buněčný cyklus dceřiné buňky je delší než buněčný cyklus mateřské buňky, neboť dceřiná buňka musí

nejprve dorůst do velikosti mateřské buňky a má proto obvykle delší G1-fázi (*Janderová 1999*).

Dojde-li k nastoupení buněčného dělení, pak při vhodné teplotě doběhne celý cyklus až do konce. Při nedostatku dusíkatých a uhlíkatých živin začíná u diploidních buněk v tomto bodě funkce genu ovládajících meiózu a sporulaci (proces vedoucí ke tvorbě spory). Tento bod je také výchozím bodem pro konjugaci dvou haploidních buněk opačného párovacího typu (*Špický 1992*).

Morfologické projevy cyklu u *Saccharomyces* byly efektivně využity jako diagnostické znaky, které lze sledovat i optickým mikroskopem (*Goffeau 1996*).

2.7 VÝZNAM A VYUŽITÍ

Kvasinky patří k průmyslovým mikroorganismům. Velice lehce a ekonomicky se pěstují, poskytují tak bohatou biomasu a tím jsou vhodné pro celou řadu výzkumných oborů. Význam kvasinek spočívá především ve využití produktů kvašení, ale mohou také produkovat významné sekundární metabolity jako antibiotika a vitaminy. Jsou široce využívány v řadě oblastí vědy, technologie i medicíny. Některé druhy kvasinek jsou nezastupitelné v potravinářském průmyslu: pro výrobu kynutého pečiva, alkoholických nápojů, potravinářské a krmné biomasy, jiné se významně uplatňují jako biologické modelové systémy pro studium obecných regulací metabolismu eukaryotických buněk (*Janderová 1999*).

Druhová rozmanitost kvasinek je stále významnější při studiu jejich vlastností. Umožňuje lépe charakterizovat metabolismus a požadavky na kultivační prostředí (*Boekhout 2003*). Především kultivační podmínky jsou důležité u biotechnologicky využitelných kmenů (*Nickoloff 1998*). Dosud velmi málo prozkoumaná je i funkce a význam značné části kvasinkových genů (*Goffeau 1996*). S rozvojem genového inženýrství vzrostl počet heterologních bílkovin produkovaných kvasinkami. Geneticky modifikované kvasinky produkují například farmakologické preparáty pro prevenci i léčbu onemocnění (*Goffeau 1996*).

2.7.1 Modelový organismus: *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae a *Schizosaccharomyces pombe* patří mezi významné modelové eukaryotní organizmy.

Od 70 let 20. století je kvasinky *S. cerevisiae* využíváno k výzkumům zejména v oblasti molekulární a buněčné biologie. Jejimi výhodami jsou snadná kultivace, krátká generační doba - 1.25–2 hodiny (Boekhout 2003) - což je znak typický pro prokaryota. Současně se však co by eukaryotní organismus podobá svou buněčnou strukturou rostlinám a živočichům (kap.2.3). Mnoho proteinů (např. proteiny pro buněčný cyklus nebo pro signalizaci) důležitých v biologii člověka bylo poprvé objeveno právě u pивní kvasinky (Goffeau 1996).

Pивní kvasinka stala prvním eukaryotním organismem, který byl osekvenován (Wood 2002) a nadále je v centru pozornosti vědců, zejména z oblasti genetiky a fyziologie. Genom *S. cerevisiae* se skládá z přibližně 13 000 000 párů bází a z 6275 genů, přestože jen okolo 5 800 z nich se považuje za opravdu funkční geny (Nickoloff 1998). S člověkem sdílí *Saccharomyces cerevisiae* přibližně 23% genomu (Kuthan 2003). Z tohoto důvodu začala být využívána i pro produkci cizorodých bílkovin (Reynolds 2001). Již r.1980 se uplatnila při výrobě vakcíny proti hepatitidě B. Následovalo mnoho dalších proteinových produktů, jako jsou prokaryotické proteiny (fragment tetanového toxinu a streptokináza), povrchové antigeny virového původu (HIV, chřipkový virus, poliovirus, polyomavirus, virus Epstein-Barr, onkogenní retroviry) (Main 1988), živočišné produkty (hirudin, porcín, interferon, interleukin a inhibitor trypsinu), lidské hormony (inzulin, paratyroidní hormon, růstový hormon) (Pieper 2009) lidské proteinové faktory (IGF, NGF, EGF, tkáňový faktor, CSF, GM-CSF a INF) (Goffeau 1996), lidské krevní proteiny (hemoglobin, faktor VIII, XIII, α -1-antitrypsin, antitrombin a sérový albumin) (Srisilam 2003, Clark 1991) a další lidské proteiny (CFTR, estrogen-receptor a interferony INF- α a INF- β 1) (Beckerich 1998).

3 ELEKTROMAGNETICKÉ POLE

Tvůrcem teorie elektromagnetického pole je anglický fyzik J. C. Maxwell. Navázal na poznatky M. Faraday, který v roce 1840 zavedl pojem elektrostatiky. Na výsledcích Faradayovy práce vybudoval J. C. Maxwell svou kompletní teorii elektromagnetického pole a popsal ji soustavou diferenciálních rovnic (kap. 3.1.1). Tím teoreticky předpověděl existenci elektromagnetických vln, kterou v roce 1887 experimentálně potvrdil H. Hertz.¹

korpuskulární alfa a beta, kosmické záření - protony, mezony, (radioaktivní rozpad, urychlené ionty a elektrony, rychlé neutrony)			rychlé částice	
diagnostika, terapie, stopování pomocí radioizotopů	záření gama rentgenové záření	ionizující		
slunce; umělé zdroje	ultrafialové záření viditelné záření infračervené (tepelné) záření	neionizující		
radar, mikrovlnné trouby, spoje, družice, přenos dat	milimetrové vlny centimetrové vlny			
televize, mobilní telefony	decimetrové vlny			
VKV (FM) rozhlas	metrové vlny			
krátkovlnný rozhlas, vysokofrekvenční ohřev	desetimetrové až stometrové vlny			
AM rozhlas	střední a dlouhé rozhlasové vlny			
speciální komunikace, geofyzikální průzkum	velmi dlouhé vlny (VDV)			
slaboproudá zařízení, televizní a vakuové počítačové monitory	pole s frekvencemi vyššími než 10 kHz			
indukční pece, lokomotivy	nízkofrekvenční pole (50 Hz - 10 kHz)			
rozvod elektrické energie, domácí spotřebiče	elektrická a magnetická pole s frekvencí energetické sítě		50Hz	elektrické a magnetické pole
tramvaje, metro	velmi pomalu proměnná pole			
geomagnetické pole, atmosférická elektřina, elektrolyza	statické elektrické a magnetické pole	0Hz		

Tab. 1: Elektromagnetické spektrum

¹ http://goro.byl.cz/elmag_cz.html

Jednotlivé druhy elektromagnetického vlnění (tab. 1) se od sebe liší např. vlnovou délkou, schopností pronikat látkami nebo vznikem. Mají však také mnoho společných vlastností. Všechny se ve vakuu šíří stejnou rychlostí jako světlo (tj. $299792458 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$), mají elektrickou i magnetickou složku, které nelze oddělit a všechny druhy také při šíření podléhají ohybu vlnění, interferenci a v neposlední řadě také disperzi.²

3.1 SPEKTRUM ELEKTROMAGNETICKÉHO ZÁŘENÍ

Každý druh elektromagnetického vlnění je charakterizován především frekvencí f [Hz] a vlnovou délkou λ [m], které spolu souvisejí vztahem:

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (3.1)$$

Rozsah vlnových délek EM záření je značný a každé těleso v přírodě je zdrojem elektromagnetické záření na určitých vlnových délkách.

Mezi jednotlivými druhy elektromagnetického vlnění není ostrá hranice, jednotlivé druhy se mohou částečně překrývat. Zařazení do oblasti je ovlivněno i způsobem vzniku. Například elektromagnetické vlny o vlnové délce 1 cm považujeme za infračervené záření, jsou-li vyzářeny teplým tělesem nebo za mikrovlny, když je vygeneroval nějaký vysílač.³

3.2 ELEKTROMAGNETICKÝ NÁBOJ

Mějme ve vakuu ve vzdálenosti d od sebe umístěny dva bodové náboje⁴ Q_1 a Q_2 [C, coulomb], které mají opačnou polaritu a vzájemně jsou v klidu. Tyto dva náboje se budou přitahovat silou o velikosti:

² http://goro.byl.cz/elmag_cz.html

³ http://goro.byl.cz/elmag_cz.html

⁴ Bodový náboj je hypotetické těleso se zanedbatelnou hmotností a zanedbatelnými rozměry. Je nositelem jediné fyzikální veličiny, a to náboje.

$$F = \frac{1Q_1Q_2}{4\pi\epsilon_0d^2} \quad (3.2)$$

kde π je Ludolfovo číslo a ϵ_0 je permitivita vakua ($\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F.m}^{-1}$). Tento vztah se nazývá Coulombův zákon (Raida 2002).

Zatímco hmotné body⁵ na sebe působí silou gravitační, bodové náboje se přitahují elektrickou silou. Zatímco hmotný bod kolem sebe vytváří gravitační silové pole, bodový náboj je zdrojem pole elektrického (Raida 2002).

Jestliže se náboje pohybují, síla, kterou na sebe působí bodové náboje, je nazývána silou magnetickou. Silové pole, jež kolem sebe vytváří náboj v pohybu, je nazýváno polem magnetickým.

Magnetické pole bodového náboje Q_1 , pohybujícího se rychlostí v_1 , je kvantifikováno magnetickou indukcí B [T, tesla].

$$B(r) = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{Q_1 v_1 \times r}{r^3} \quad (3.3)$$

Magnetická indukce udává, jakou silou by působil bodový náboj Q_1 , pohybující se rychlostí v_1 , na jednotkový bodový náboj v bodě r, pohybující se jednotkovou rychlostí. Symbol μ_0 značí ve vztahu permeabilitu vakua ($\mu_0 = 1,26 \cdot 10^{-6} \text{ H.m}^{-1}$) (Raida 2002).

Uvažujeme-li ideální dielektrikum, navenek neutrální atomy jsou tvořeny kladnými a zápornými náboji, které se mohou pohybovat jen uvnitř těchto atomů. Necháme-li na dielektrikum působit vnější časově neproměnné elektrické pole, uchovají si atomy jako celek nadále svou neutralitu, avšak z atomů se stanou elektrické dipóly - atomy budou polarizovány.

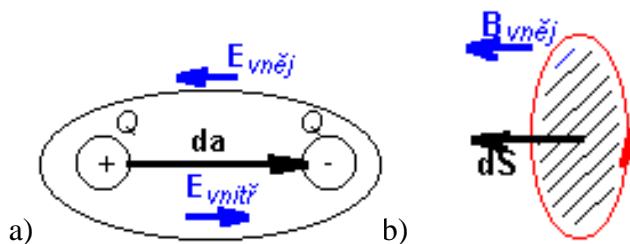
Elektrický dipól je popsán momentem elektrického dipólu p [C.m]:

$$dp = Qda \quad (3.4)$$

⁵ Hmotný bod je opět hypotetické těleso. Jedinou fyzikální veličinou, jíž je nositelem, je hmotnost.

kde da je polohový vektor od záporného ke kladnému pólu atomu a Q je náboj na pólech.

Polarizovaný atom je vnějším polem orientován tak, že se směr momentu elektrického dipólu blíží směru intenzity vnějšího pole. Uvnitř dielektrika tak vzniká vnitřní elektrické pole, jehož intenzita má opačnou orientaci ve srovnání s polem vnějším. Výsledné pole v dielektriku je slabší než pole vnější (*Raida 2002*).



Obr. 5 : a) Elektrický dipól b) Magnetický dipól

Pohyb elektronů po orbitech kolem jádra si můžeme představit jako proudovou smyčku, protékanou proudem I . Jelikož náboje v pohybu vytvářejí magnetické pole, popíšeme v analogii k (3.4) působení elementární proudové smyčky momentem magnetického dipólu m [$A \cdot m^2$]

$$dm = IdS \tag{3.5}$$

kde dS je vektor plochy, ohraničené proudovou smyčkou.

Do této chvíle je o elektrickém o magnetickém poli uvažováno zvlášť. Budeme-li popisovat náboj v pohybu (proud), vznikne v prostoru jako jeden nedělitelný celek pole elektromagnetické (*Raida 2002*).

3.3 MAXWELLOVY ROVNICE A VLNOVÁ ROVNICE

Veličiny elektromagnetického pole popisují Maxwellovy rovnice, které jsou základními rovnicemi makroskopické elektrodynamiky. Soustava čtyř lineárních parciálních diferenciálních rovnic pro čtyři vektory intenzity magnetického a elektrického pole H a E a indukce D a B popisuje elektromagnetické pole v každém bodě prostoru.⁶

⁶ http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm

Tyto jsou popsány následujícími veličinami:

$$\text{Vektor intenzity elektrického pole: } E \text{ [V/m]} \quad E = \frac{m \cdot kg}{s^3 \cdot A} \quad (3.6)$$

$$\text{Vektor elektrické indukce: } D \text{ [C/m]} \quad D = \frac{s \cdot A}{m^2} \quad (3.7)$$

$$\text{Vektor intenzity magnetického pole: } H \text{ [A/m]} \quad H = \frac{A}{m} \quad (3.8)$$

$$\text{Vektor magnetické indukce: } B \text{ [T]} \quad B = \frac{kg}{s^2 \cdot A} \quad (3.9)$$

Vektory H , E , D a B jsou vzájemně svázány materiálovými vztahy:

$$D = \varepsilon E \quad (3.10)$$

Vektor elektrické indukce D přímo úměrný vektoru elektrické intenzity E , přičemž konstantou úměrnosti je permitivita prostředí ε

$$B = \mu H \quad (3.11)$$

Vektor magnetické B indukce přímo úměrný vektoru magnetické intenzity H , přičemž konstantou úměrnosti je permeabilita prostředí μ (Szántó 2003).

3.3.1 První Maxwellův zákon

$$\oint_c H \cdot dl = I + \frac{d\psi}{dt} \quad (3.12)$$

První maxwellův zákon vychází z Ampérova zákona celkového proudu. Uvádí, že součet vodivého proudu I a proudu posuvného $d\psi/dt$, které procházejí v kladném směru plochou ohraničenou uzavřenou křivkou l , je roven cirkulaci vektoru intenzity magnetického pole H po této křivce.

Rovnice tedy říká, že proudy, tedy elektrické projevy pole, jsou zdroji vírové složky magnetického pole (Szántó 2003).

3.3.2 Druhý maxwellův zákon - Zákon elektromagnetické indukce, Faradayův indukční zákon

$$\oint_c E \cdot dl = -\frac{d\Phi}{dt} \quad (3.13)$$

Při časové změně magnetického pole je elektrické pole vírové (siločáry jsou uzavřené) a podél vírů je možno měřit napětí.

Skutečnost, že při změně magnetického pole je možné měřit napětí, pak popisuje Faradayův zákon elektromagnetické indukce. Takže tato rovnice v podstatě popisuje Faradayův zákon (Szántó 2003).

3.3.3 Třetí Maxwellův zákon - Gaussův zákon elektrostatiky

$$\oint_s D \cdot dS = Q \quad (3.14)$$

Říká, že siločáry elektrického pole začínají a končí v tom místě prostoru, kde je soustředěn elektrický náboj; zdrojem elektrického pole je tedy náboj (Szántó 2003).

3.3.4 Čtvrtí Maxwellův zákon - Zákon spojitosti indukčního toku

$$\oint_s B \cdot dS = 0 \quad (3.15)$$

Siločáry magnetického pole nikde nezačínají a nikde nekončí (jsou to křivky uzavřené), tj. neexistují magnetické náboje a magnetické pole je tedy vždy vírové (Szántó 2003).

3.4 ELEKTROMAGNETICKÁ VLNA

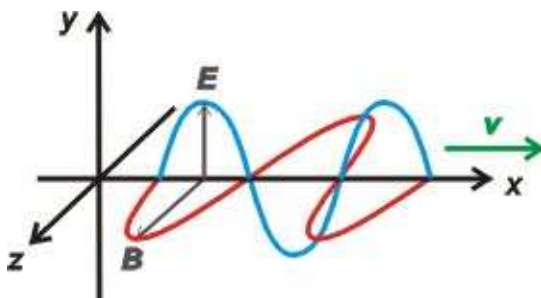
Elektromagnetickou vlnou nazýváme děj, při němž se prostorem šíří vlnění elektrického a magnetického pole.⁷

⁷ http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm

3.4.1 Vlnová rovnice

Z kapitoly (3.2) vyplývá, že každá elektromagnetická vlna má dvě složky: elektrickou složku, kterou představuje vektor intenzity elektrického pole E , a magnetickou složku, kterou tvoří vektor magnetické indukce B .

Obě složky jsou na sebe navzájem kolmé a současně jsou obě kolmé na směr šíření vlnění. To znamená, že každé elektromagnetické vlnění je příčné vlnění.⁸



Obr. 6: Elektromagnetická vlna

Elektromagnetická vlna se šíří v kladném směru osy x , vektor intenzity elektrického pole se promítá do osy y a vektor magnetické indukce do osy z .

Vektor intenzity elektrického pole E je popsán vlnovou rovnicí (pokud intenzita pole této rovnici vyhovuje, elektromagnetické pole se šíří prostorem formou vlny).

$$\nabla^2 E + k^2 E = 0 \quad (3.16)$$

Rovněž vektor intenzity magnetického pole H je popsán vlnovou rovnicí

$$\nabla^2 H + k^2 H = 0 \quad (3.17)$$

Symbol k ve vztazích (3.16) a (3.17) značí vlnové číslo $k^2 = -j\omega\mu(\gamma + j\omega\epsilon)$ (Raida 2002).

Při průchodu ztrátovým prostředím se vlna tlumí a dochází k její absorpci a přeměně v teplo. Pronikání elektromagnetické vlny do ztrátového prostředí posuzujeme podle hloubky vniku δ . Definujeme ji jako vzdálenost, na níž klesne amplituda vlny na e^{-1} násobek původní hodnoty.

Biologická tkáň se chová jako ztrátové prostředí a hloubka vniku elektromagnetické vlny se definuje jako pokles výkonové hustoty na 50% původní

⁸ http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm

hodnoty. Vzájemný přepočít je tedy určen $\delta_{1,2} = 0,346\delta$, kdy δ je pro ztrátové prostředí určeno vztahem⁹:

$$\delta = \frac{2}{\sqrt{2\pi f \mu \sigma}} \quad (3.18)$$

3.4.2 *Druhy vln*

Vyskytujeme-li se v prázdném homogenním prostředí, u něhož se předpokládá linearita a izotropnost, se prostředím šíří jediná vlna, která může být nejvýše tlumena v případě ztrátovosti tohoto prostředí.

Vlny šířící se homogenním prostředím, můžeme rozdělit z hlediska tvaru vlnoplochy. To jsou místa se stejnou fází elektrické nebo magnetické intenzity.

Pokud je zdrojem záření bodový všesměrový vysílač, vlnoplochy jsou soustředné kulové povrchy se středem v bodovém zářiči. Říkáme tedy, že prostorem se šíří **kulová vlna**. Společný střed kulových vlnoploch nazýváme fázovým středem.

Pokud bude zdrojem vlny harmonický proud, protékající nekonečně dlouhým přímým vodičem, budou mít vlnoplochy válcový tvar a hovořit budeme o šíření **válcové vlny**.

Budeme-li kulovou nebo válcovou vlnu pozorovat z místa téměř nekonečně vzdáleného od zdroje, bude zakřivení vlnoploch tak malé, že budeme moci považovat vlnoplochu za rovinnou. Z našeho hlediska se tedy bude prostorem šířit **rovinná vlna**.¹⁰

3.4.3 *Šíření vln*

Zkoumání šíření elektromagnetických vln se výrazně zkomplikuje v případě, kdy se v prostředí objeví nějaká překážka, nehomogenita. Na nehomogenitě může totiž docházet k odrazu vlny, k rozptylu vlny nebo k difrakci.

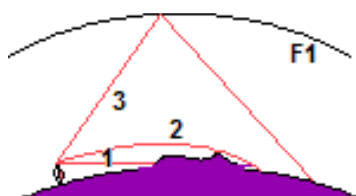
Ve většině praktických aplikací (rádiové komunikace, radiolokace, radionavigace ap.) se vlny šíří podél povrchu Země anebo v jeho blízkosti. Zde je prostředí nestejnorodé a značně složité. V blízkosti Země se vlny šíří podél rozhraní

⁹ http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm, <http://fyzika.jreichl.com/index.php>

¹⁰ <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, *multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno*

dvou prostředí, která mají podstatně rozdílné elektrické parametry. Vzduch se z elektrického hlediska blíží vakuu, povrch Země je částečně vodivé dielektrikum.¹¹

Z geometrického hlediska je rozhraní v makroskopickém pohledu kulovité, místně je různě zvlněné a v detailu je drsné (malé terénní nerovnosti, porost, zástavba). Samotná atmosféra není homogenní a ve větších výškách je ionizována působením slunečního záření. Dochází k ionizaci molekul plynů a vytváření oblaků elektricky vodivých částic. Tato oblaka jsou pro některé kmitočty elektromagnetického záření neprůhledná, chovají se jako elektricky vodivé a dopadající záření odrážejí zpět. Elektricky vodivé vrstvy se vytváří v různých výškách a jsou značně ovlivňovány sluneční činností. Oblast ionizovaných plynů se nazývá ionosféra.



Obr. 7: Mechanismy šíření vln.

1 - přímá vlna, 2 - povrchová vlna, 3 - prostorová vlna, F1- ionosféra

Při šíření radiových vln na zemském povrchu rozeznáváme tři případy: Především je to **vlna přímá**, která se šíří stejně jako světlo jen v dosahu přímé viditelnosti.

Vlna povrchová - zde do šíření signálu zasahují jevy v atmosféře - především změna hustoty vzduchu a tím i indexu lomu s přibývajícím výškou. Tím dochází k postupnému lomu elektromagnetického záření a paprsek se přihýbá k povrchu Země (jev se nazývá refrakce). Díky tomu je dosah vysílačů o něco vyšší než přímá viditelnost (pro potřeby výpočtů dosahu se zavádí tzv. ekvivalentní poloměr Země).

Poslední vlnou je **vlna prostorová**. Ta by se šířila v podstatě do nekonečna, ale záření o vhodné frekvenci je odraženo zpět k zemskému povrchu od ionosféry.¹²

¹¹ <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, *multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno*

¹² <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, *multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno*

3.5 ANTÉNY

Antény se starají o převod elektromagnetického vlnění, šířícího se podél vedení, na vlnění ve volném prostoru a naopak. Parametry antény (jejich směrová charakteristika, impedance a zisk) tak významně ovlivňují výsledné vlastnosti rádiového spojení.

Vysílací anténa se obecně definuje jako transformátor, který převádí vlnění šířící se podél vedení na vlnění ve volném prostoru. Příjímací anténa plní funkci opačnou. Z praktického i z teoretického hlediska můžeme anténu také považovat za účelné uspořádání elementárních zdrojů. Podle této představy lze antény třídit do dvou skupin.

Lineární antény je možné považovat za soubor mnoha různě položených elementárních elektrických dipólů (Kap 3.2). Jsou to různé konfigurace vodičů, takže předem známe v každém místě směr proudu. Lineární antény jsou typické pro nižší kmitočty až do několika gigahertzů.

Plošné antény lze s výhodou považovat za soubor Huygensových zdrojů.

Termínem Huygensův zdroj označujeme nekonečně malou plošku dS , která je z jedné strany ozářena dopadající elektromagnetickou vlnou. Podle Huygensova principu se tato ploška sama stává zdrojem elektromagnetického vlnění. Skutečné plošné zdroje vlnění (trychtýřové antény, štěrbinové antény, ozářený parabolický reflektor) pak můžeme považovat za soubor Huygensových zdrojů.¹³

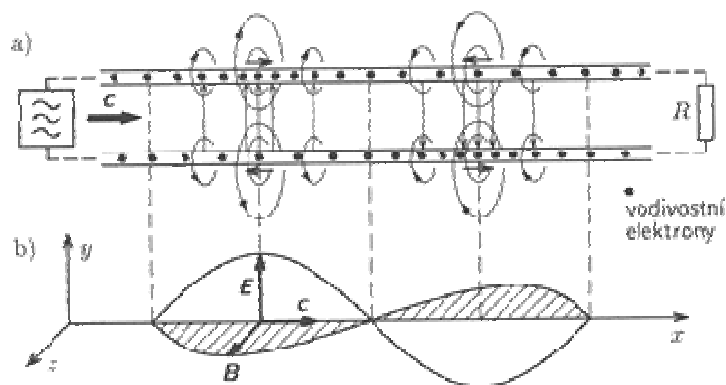
Vyzařujícím útvarem, "anténou", je v teoretickém smyslu jen samotná plocha ústí, tzv. apertura plošné antény. Plošné antény se užívají hlavně na vlnách centimetrových a kratších (včetně optického pásma).¹⁴

3.5.1 Princip telekomunikačního zařízení

Zdrojem elektromagnetického vlnění je často elektromagnetický oscilátor (obr. 8). Jestliže oscilátor kmitá, probíhají v něm periodické změny energie. Elektromagnetické vlnění, které se šíří dvouvodičovým vedením, je s vedením těsně spjato a jeho energie se nepřenáší do okolí oscilátoru, ale je převážně soustředěna mezi vodiči.

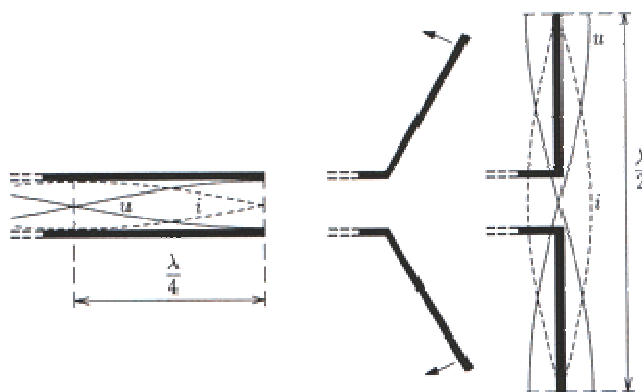
¹³ <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, *multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno*

¹⁴ <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, *multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno*



Obr. 8: Elektromagnetické pole vedení

Ve sdělovací technice je však často třeba, aby vysílač vyzařoval elektromagnetické vlnění do většího prostoru. Tuto funkci plní ve vysílači anténa. Z fyzikálního hlediska ji označíme jako elektromagnetický dipól (obr. 9).

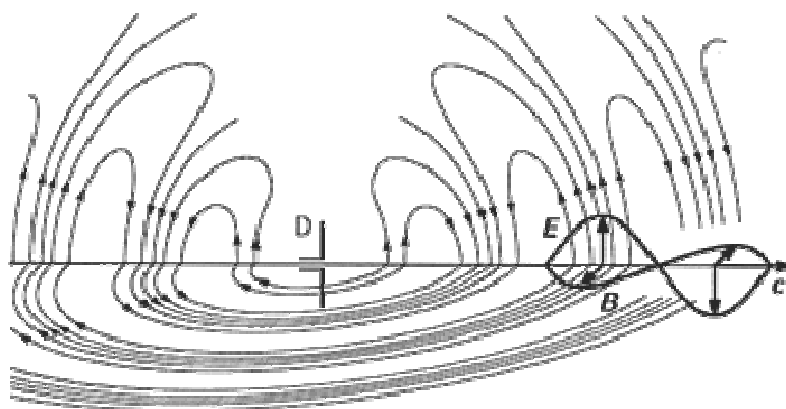


Obr. 9: Vznik elektromagnetického dipólu

Konstrukce elektromagnetického dipólu spočívá v rozevření konce dvou vodičového vedení o délce $\lambda/4$ do směru kolmého k vedení. V odchýlených částech vedení vznikají proudy, které mají v každém okamžiku souhlasný směr. Magnetické pole těchto proudů pak zasahuje do celého prostoru v okolí dipólu.

V okolí dipólu vzniká pole, které má elektrickou a magnetickou složku (obr. 10). Siločáry elektrické složky leží v rovině dipólu a magnetické indukční čáry magnetické složky vytvářejí soustředěné kružnice v rovině kolmé k dipólu. Podobně jako mezi vodiči vedení jsou i v elektromagnetickém poli dipólu vektory E a B navzájem kolmé. Vlnění vyzařované dipólem je polarizováno tak, že v rovině dipólu leží vektor E a v rovině kolmé k d ¹⁵ (Raida 2002.)

¹⁵ <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno, http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm



Obr. 10: Elektromagnetické pole dipólu

4 RIZIKA Z EXPOZICE NEIONIZUJÍCÍHO ELEKTROMAGNETICKÉHO ZÁŘENÍ

Expozice elektromagnetickým polem není nový fenomén, i když v minulosti byly zdroje omezeny pouze na přírodní elektromagnetické záření. Se stoupající poptávkou spotřeby elektřiny a zejména v souvislosti s bouřlivým rozvojem informačních bezdrátových technologií přibyla v průběhu 20. století řada umělých zdrojů elektromagnetického záření. V konečném důsledku je každý vystaven expozici elektromagnetickým polem jak doma, tak i v zaměstnání. Zdrojem je výroba a přenos elektrické energie, používání domácích elektrických přístrojů, telekomunikace, rozhlasové a televizní vysílání.

Veřejnost projevuje značné obavy právě z potenciálních škodlivých účinků elektromagnetického pole. A proto jsou biologické účinky elektromagnetických vln předmětem výzkumů již více než 20 let v mnoha zemích světa včetně ČR.

Existuje řada prací publikovaných v této oblasti, mnoho z nich má ale dosti spekulativní charakter a výsledky některých studií jsou protichůdné. To je dáno tím, že realizace experimentů tohoto druhu není snadná, zabránit rušivým vlivům je často obtížné až nemožné. Ve skutečnosti absorpce a tedy i účinky jsou výrazně závislé na vlastnostech biologických tkání, a to zejména na těchto faktorech:

- dielektrických vlastnostech tkáně
- geometrickém tvaru a rozměrech tkáně
- trojrozměrném nehomogenním prostorovém rozložení tkání
- orientaci a polarizaci EM pole
- kmitočtu EM pole
- zdroji vyzařování EM pole
- podmínkách ozáření
- délce trvání experimentu
- ozáření trvalé nebo dle časového schématu
- intenzitě elektrického resp. magnetického pole

Realizace a vyhodnocení mnohých experimentů pro studium účinků elektromagnetického pole na člověka je komplikováno také tím, že tyto experimenty nemohou být na lidi aplikovány. Proto se experimentuje na zvířatech - ne vždy se však zjištěné účinky dají přímočaře a jednoznačně přenášet do humánní medicíny.

Pro zmírnění všeobecných obav lze uvést, že doposud se neprokázaly konkrétní škodlivé účinky EM pole, naopak mikrovlnná energie je využívána ve světě i u nás pro lékařské účely (tzv. hypertermie pro onkologické účely od r. 1981, diatermie pro fyzioterapii, atp.). Celosvětově bylo léčeno několik set tisíc pacientů, zde v ČR pak kolem 2000, bez zjevných příznaků jakýchkoliv škodlivých účinků EM pole (Vrba 2005).

4.1 INTERAKCE ELEKTROMAGNETICKÉHO POLE S BIOLOGICKOU TKÁNÍ

Biologická tkáň je velmi nehomogenní prostředí, v němž se procházející elektromagnetická vlna odráží a láme podle permitivity a vodivosti jejích složek. Interakce elektromagnetického pole s biologickou tkání je založena na odezvě částic s nábojem (atomů i molekul) obsažených v tkáni na vnější elektromagnetické pole. Působením elektromagnetického pole z okolí dochází k vychýlení těchto nabitých částic z jejich klidové neutrální polohy a vzniku elektrických dipólů. Projevem jsou většinou termální účinky v biologické tkáni, zkoumány jsou však také účinky netepelné jako rezonance buněčných membrán a vznik volných radikálů.

V závislosti na vlnové délce elektromagnetického záření jsou uvažovány tři mechanismy vlivu na tkáň (Vrba 2005).

Při **ovlivnění elektrickou složkou nízkofrekvenčních polí** intenzita elektrického pole indukuje změnu natočení dipólů v organismu, změny povrchového náboje a tok proudů uvnitř organismu. Zmíněné efekty závisí na permitivitě a vodivosti organismu, jeho geometrii a orientaci v elektromagnetickém poli.

Ovlivnění magnetickou složkou nízkofrekvenčních polí nastává tehdy, indukuje-li magnetická složka elektromagnetického pole vířivé proudy v tkáni. Je závislá na vodivosti tkáně v jednotlivých místech, proto je nutné k určení vlivu zahrnout geometrii organismu a vodivosti jednotlivých částí.

Absorpce energie přenášeného elektromagnetického záření se projevuje až při frekvencích nad 100kHz a to z toho důvodu, že nízkofrekvenční elektromagnetická pole nesou ve srovnání s tepelným šumem zanedbatelné množství energie (Vrba 2005).

4.1.1 Základní dělení vzniku dipólů

Elektronová polarizace je způsobena vlivem vnějšího elektromagnetického pole, kdy se posunem elektronů vůči jádru atomu narušuje rovnováha mezi kladným

nábojem jádra a záporným nábojem obalu. Tím vzniká elektrický dipól. Při odstranění vnějšího elektrického pole, pomyslné těžiště obou atomů opět splynou a indukovaný elektrický dipól zmizí.

Atomová polarizace Nastává v molekule, kterou tvoří rozdílné elektricky neutrální atomy. Jejich elektronové obaly se nerozloží kolem jader symetricky, ale hromadí se kolem jader, která vytváří silnější vazbu. To znamená, že molekula je polární i bez působení vnějšího elektrického pole a tvoří tak permanentní elektrický dipól. Tomuto jevu se z pohledu fyzikální chemie říká elektronegativita.

Působení vnějšího elektrického pole se pak projeví silou, která stáčí osu uvažovaného dipólu do směru orientace elektrického pole. Tím na povrchu dielektrického prostředí vzniká polarizační náboj, vyvolaný orientací permanentních dipólů.

Brzděnou rotací dipólů se vytváří **orientovaná polarizace**. Rotace dipólů do směru elektrického pole je narušována tepelným pohybem okolních molekul. Posunutí náboje je větší než u atomové polarizace a vzdálenost posunutí je dána strukturou látky. Je přímo úměrná dipólovému momentu a nepřímo úměrná teplotě.

Maxwell – Vagnerova polarizace je založena na principu náboje nahromaděného na rozhraní mezi různými oblastmi heterogenního prostředí (Vrba 2005).

4.1.2 **Komplexní permitivita**

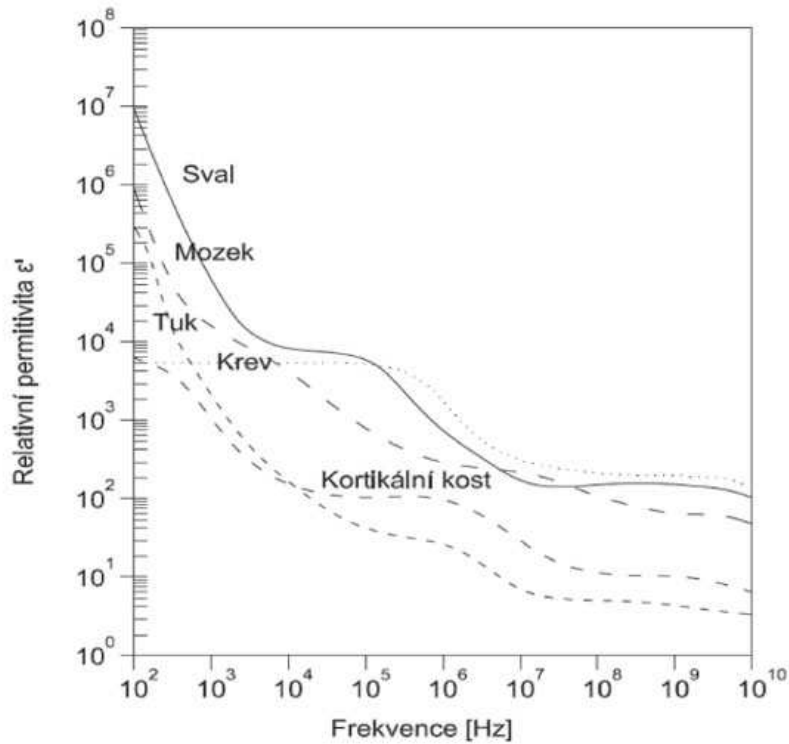
Permitivita je fyzikální veličina popisující vztah mezi vektory intenzity elektrického pole a elektrické indukce v materiálu nebo vakuu.

Permitivitu lze určit ze vztahu:

$$\varepsilon = \frac{D}{E} \quad (4.1)$$

kde D je elektrická indukce a E intenzita elektrického pole (Vrba 2005).

Interakce elektromagnetického pole s biologickou tkání je ovlivněna permitivitou tkáně ε (obr. 11). Komplexní permitivita ztrátového prostředí je obecně závislá především na kmitočtu f a teplotě T . Závislost na tlaku a vektoru intenzity elektrického pole je oproti tomu zanedbatelná.



Obr. 11: Permittivita tkáně v závislosti na frekvenci pole

Vztah pro komplexní permitivitu vyjadřujeme:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 \varepsilon_r = \varepsilon_0 (\varepsilon_r' - j \varepsilon_r'') = \varepsilon_0 \left(\varepsilon_r' - j \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0} \right) \quad (4.2)$$

kdy měrná elektrická vodivost odpovídá.

$$\sigma = 2\pi f \varepsilon_0 \varepsilon_r'' \quad (4.3)$$

Tangentu ztrátového úhlu δ můžeme vyjádřit jako:

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{\varepsilon_r''}{\varepsilon_r'} \quad (4.4)$$

Komplexní permitivitu můžeme rozdělit na reálnou složku, která určuje permitivitu jako takovou a složku imaginární která je příčinou ztrátového proudu (Vrba 2005).

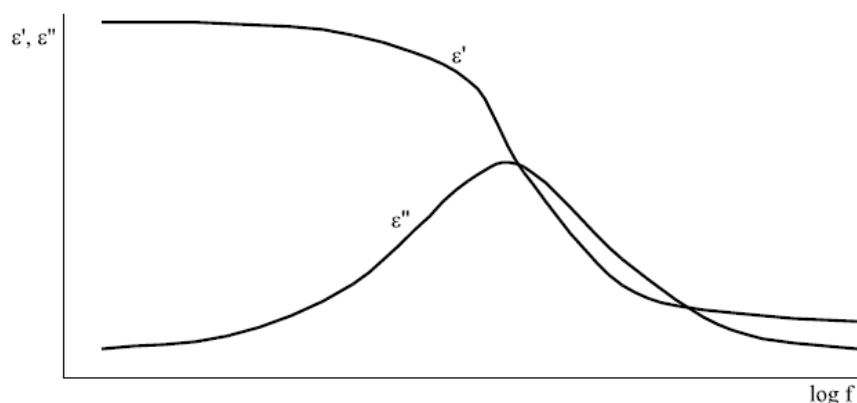
Frekvenční závislost složek komplexní permitivity se dá vyjádřit za pomoci Debyových rovnic:

$$\varepsilon' = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_0 - \varepsilon_{\infty}}{1 + \left(\frac{\omega}{\omega_r}\right)^2} \quad (4.5)$$

$$\varepsilon'' = \frac{\omega}{\omega_r} \frac{\varepsilon_0 - \varepsilon_{\infty}}{1 + \left(\frac{\omega}{\omega_r}\right)^2} \quad (4.6)$$

kdy ω je úhlová frekvence vnějšího elektrického pole, a ω_r je vlastní relaxační úhlová frekvence dipólu. ε_0 je statická permitivita, to je permitivita při nulové frekvenci, kdy mají dipóly dostatek času k ustálení a ε_{∞} je tzv. optická permitivita při nekonečně velkém kmitočtu, kdy již setrvačnost dipólů jim brání kmitat a vyvolávat ztráty (Vrba 2005).

Typickou frekvenční závislost složek komplexní permitivity udává obrázek 12.



Obr. 12: Frekvenční závislost složek komplexní permitivity

4.1.3 Typy vln

Vstupuje-li elektromagnetická vlna do organismu, který je složen z několika vrstev tkání s rozdílnými dielektrickými vlastnostmi, přirozeně dochází k nesteromnému ohřevu v uvažovaném objemu. Takto vznikají tzv. “horká místa” (hot spots) v místech kde se permitivita výrazně liší od okolní tkáně. Můžeme rozlišit tři základní typy vln, které vznikají při vstupu mikrovlnné energie z aplikátoru do biologické tkáně:

Podle chování mikrovlnného záření v biologické tkáni můžeme rozlišit tři základní typy vln (Vrba 2005):

Hlubkové vlny se šíří dovnitř tkáně ve směru vyzařování zdroje energie. V klinické praxi je snaha, aby maximum energie bylo tvořeno tímto typem vln.

Povrchové vlny se šíří radiálně podél povrchu těla, které do malé hloubky ohřívají. V místech jejich maxim mohou vznikat lokální přehřátí povrchu tkáně, čemuž se v klinické praxi snažíme zabránit tím, že mezi aperturu aplikátoru a tělo pacienta vložíme vodní bolus.

Odražené vlny jsou zcela nežádoucí.

4.1.4 **Veličiny používané k popisu vlivu elektromagnetického pole na biologickou tkáň**

Pro srovnání působení elektromagnetického pole na živé organismy je třeba najít vhodné veličiny.

Tyto veličiny jsou obsaženy v hygienických normách, jež definují maximální hodnoty intenzit jak elektrického tak i magnetického pole nebo maximální hodnoty absorbovaného výkonu a dobu jejich účinku, po kterou může být člověk těmto vlivům vystaven. V současné době se nejvíce používá těchto veličin (Vrba 2005):

Hustota dopadajícího výkonu: p [W/m²]

Tato veličina se dá velmi dobře měřit, ale expozici biologické tkáně elektromagnetickým polem nedefinuje dost přesně. Z dopadajícího výkonu se do tkáně dostane jen jeho část, výkonu se totiž od biologické tkáně odrazí. Před sjednocením s limity evropské unie tato veličina figurovala v hygienických normách české republiky.

SAR – specific absorption rate: sar [W/kg]

Jedná se o výkon absorbovaný v jednom kilogramu tkáně. Míra expozice biologické tkáně elektromagnetickým polem je tímto způsobem přesně definována. Zavádí a využívá ji norma USA, kterou vydal ANSI (American National Standard Institute).

$$SAR = \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial W}{\partial m} \right) = \frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial W}{\rho \partial V} \right) = \frac{\partial P}{\partial m} = \frac{\partial P}{\rho \partial V} [W/kg] \quad (4.7)$$

kde W je elektromagnetická energie absorbovaná v biologické tkáni, t značí čas a m hmotu. P je výkon elektromagnetické vlny, která se šíří biologickou tkání, ρ je hustota tkáně a V značí objem.

Jedinou nevýhodou SAR je obtížnost jejího měření.

ARD – Absorption Rate Density: ARD [W/m³]

Veličina podobná SAR liší se tím že absorbovaný výkon není vztažen k hmotnosti tkáně ale k objemu.

$$ARD = \rho c \frac{\partial T(x, y, z)}{\partial t} = \rho c \frac{\Delta T(x, y, z)}{\Delta t} \quad (4.8)$$

Intenzita elektrického pole: E[V/m]

Veličina vhodná pro vyjádření účinku elektromagnetického pole od stejnosměrné složky až po oblast radiotechnických kmitočtů. Pro přepočítání na hustotu výkonu použijeme vztahu:

$$p = \frac{|E(x, y, z)|^2}{120\pi} \quad (4.9)$$

Intenzita magnetického pole: H[A/m]

Odpovídá analogicky předchozí veličině.

$$p = 120\pi |H(x, y, z)|^2 \quad (4.10)$$

Elektromagnetickou energii absorbovanou v biologické tkáni nejlépe vyjadřuje veličina SAR. Velmi obtížně se ale tato veličina měří prostorově přímo v živém organismu.

Často se proto musíme omezit na měření veličin v jeho blízkém okolí, nejlépe na měření hustoty výkonu p dopadající elektromagnetické vlny nebo na měření intenzity elektromagnetického pole E (Vrba 2005).

4.1.5 **Biologické účinky neionizujícího záření**

Termínem neionizující záření se v dokumentech určených k ochraně zdraví zpravidla označují kromě vlastního elektromagnetického záření s frekvencí do 1,7.10¹⁵Hz i statická a nízkofrekvenční elektrická a magnetická pole. Elektromagnetické záření s frekvencí vyšší než 1,7.10¹⁵ Hz patří k záření ionizujícímu, schopnému oddělit od elektricky neutrálního atomu elektron (Tab 1) (Pekárek 2006).

I když všechny elektromagnetické jevy mají stejnou fyzikální podstatu, jejich působení na živou tkáň je velmi rozdílné podle toho, jakou mají frekvenci, jinými slovy, jak rychle se jejich elektrické a magnetické pole mění v čase. Stejně podstatně se liší i rizika, spojená s expozicí člověka elektromagnetickému poli různých frekvencí.¹⁶

V odborné literatuře bývá zvykem dělit biologické účinky na tepelné a netepelné podle následujících kritérií (Pekárek 2006):

Netepelné účinky jsou vlastně skutečné účinky elektromagnetického pole - a to i při velmi nízké energetické úrovni, kdy nedojde k absorpci většího výkonu a tudíž ani ke zvýšení teploty sledované biologické tkáně.

Studiem vlivu elektromagnetického pole na buňku - "in vitro" se zatím neprokázaly škodlivé účinky na enzymy, DNA, buněčnou membránu, ani na jiné části buněk.

Tepelné účinky jsou chápány jako projev nuceně zvýšené teploty při absorpci vyšší úrovně elektromagnetické energie, kdy již dojde k ohřevu biologické tkáně. Takovýto účinku se využívá u termoterapie.

V realitě musí být tyto tepelné účinky doprovázeny i vlastními účinky elektromagnetického pole. Obecně je pak velmi obtížné oddělení vyhodnotit výsledný efekt tepelných a výsledný efekt netepelných účinků (Pekárek 2006).

¹⁶ http://www.casopisstavbnictvi.cz/prostredi-budov-a-vliv-elektrickych-a-elektromagnetickych-poli-na-zdravi_N3901

4.2 ZJIŠŤOVÁNÍ VLIVU ELEKTROMAGNETICKÝCH POLÍ NA ŽIVÉ ORGANISMY

Vliv elektromagnetického pole na organismy se provádí na různých stupních organizace živé hmoty:

- organismy
- orgány a tkáně
- buňky
- subcelulární úroveň (kinetika enzymatických reakcí apod.)

Výzkum na každé z těchto úrovní má svá specifika a limity a to jak v provádění experimentů, tak ve vyhodnocování dat. Protože původní a hlavní motivací výzkumu vlivu elektromagnetického pole na živé organismy je vliv na lidské bytosti, byla v tomto směru také vyvinuta historicky největší aktivita. Avšak epidemiologické výzkumy a laboratorní pokusy na lidech a zvířatech se potýká s přílišným množstvím proměnných a zejména etických aspektů. Největší počet experimentálních výsledků pochází z buněčné a subcelulární úrovně.

V ideálním případě by měly poznatky z úrovní nižších vysvětlit výsledky na úrovní vyšší; reakci tkáně odpovídá chování organismu, ovšem přechod z buněčné na tkáňově orgánovou úroveň je problematický.

Problematika výzkumů buněčného cyklu a enzymatických dějů ovlivňovaných elektromagnetickým polem je podchycena v souhrnných člancích (*Berg 1999*).

4.2.1 ***Epidemiologické studie a vliv elektromagnetického pole na orgány a organismy***

Nárůst epidemiologických studií zkoumající vliv elektromagnetických polí souvisí se stále rostoucím rozvojem a využitím elektrických zařízení ve všech oblastech denního života. Cílem bylo zjistit zdravotní rizika, plynoucí z tohoto fenoménu a stanovit limity pro maximální bezpečné vystavení různým druhům elektromagnetických polí.

Dříve byla předpokládána souvislost dlouhodobých expozií elektromagnetickému poli s rozvojem rakovinových onemocnění. Švédské studie z roku 1993 (*Feychting 1993*) a Americká studie z roku 1988 (*Savitz 1988*) poukazují na vyšší incidenci k rakovině u dětí žijících v blízkosti vysokonapěťového vedení. Jiné studie podobný vliv nepotvrdily (*McDowall 1986, Fulton 1980, Severson 1988, Gabriel 1996*). Z toho důvodu se vliv dlouhodobých expozií elektromagnetického pole na incidenci

k rakovinotvorným onemocněním nepokládá za prokázány. V současné době se ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection)¹⁷, komise problematiky elektromagnetických polí zabývá pouze vlivem krátkodobých expozic.

Při expozici člověka elektromagnetickému záření o frekvenci od 100 kHz do 10 MHz je jediným zjištěným vlivem tepelné působení. Hloubka pronikání elektromagnetického záření do těla exponované osoby se s klesající frekvencí zvětšuje, takže značná část energie s frekvencí 10 MHz tělem člověka projde, aniž by se v těle změnila v teplo.¹⁸

U elektromagnetického s frekvencí nižší než 10 MHz se začíná uplatňovat i elektrický proud indukovaný vnějším elektromagnetickým polem v tkáni těla exponované osoby. Největší citlivost prokazují buňky nervové soustavy. Stimulace elektrickým proudem může porušit srdeční rytmus nebo zhoršit funkci mozku, při velkých proudech i zcela paralyzovat činnost nervové soustavy. Při frekvenci 10 MHz je vliv indukovaného proudu v těle na nervovou soustavu ještě velmi slabý, s klesající frekvencí však rychle roste a při frekvenci nižší než 100 kHz převládne jeho stimulační účinek zcela nad účinkem tepelným. V intervalu frekvencí od 100 kHz do 10 MHz se může ohřívání tkáně a indukovaný proud projevovat srovnatelnou měrou a k posouzení zdravotního rizika je třeba uvažovat oba jevy současně.¹⁹

4.2.2 Výzkum na úrovni buněk a enzymatických reakcí

Na buněčné a enzymatické úrovni se už nenachází tolik neznámých faktorů jako u vyšších úrovní a problém působení elektromagnetického pole je přístupný cílenějšímu experimentování. Pro zkoumání vlivu elektromagnetického záření se používají různé pokusné organismy:

Bakteriální kultury jsou standardním pokusným objektem. Jejich životní cyklus a metabolické dráhy jsou dobře prozkoumány. A jejich kultivace a technika práce je snadná a prověřená. Výhodou je i snadná reprodukovatelnost těchto pokusů.

¹⁷ *International commission on non-ionizing radiation protection, 1998. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz), Health Physics Society.*

¹⁸ http://www.casopisstavbnictvi.cz/prostredi-budov-a-vliv-elektrickych-a-elektromagnetickych-poli-na-zdravi_N3901

¹⁹ http://www.casopisstavbnictvi.cz/prostredi-budov-a-vliv-elektrickych-a-elektromagnetickych-poli-na-zdravi_N3901

Kvasinkové kultury jsou eukaryotickým organismem, takže k vyšším organismům mají stavbou buňky a metabolismem blíže než proaryota (kap. 1). Snadno se kultivují a jejich metabolismus je dobře prozkoumán.

Buněčné linie z vyšších organismů mají nejbliže k lidským buňkám, technika práce s těmito kulturami je ale náročná. Současně výsledky jsou obtížněji interpretovatelné kvůli vyšší úrovni organizace než u předchozích organismů.

Lyzáty buněk, směsi enzymů: výhodou je, že umožňují zkoumat vliv elektromagnetického pole čistě na jednotlivé části buňky, aniž je potřeba brát v úvahu vliv cytoplasmatické membrány, na které dochází ke komplikovaným a neprozkoumaným jevům (*Berg 1999*).

Odpovědí na expozici elektromagnetického pole je celá řada; ovlivnění aktivity enzymů, transportu iontů, či exprese DNA patří ke standardním hledaným reakcím. V případě této práce jsme zvolili sledování proliferace a viability, které jsou nejsnáze měřitelné a poukazují na zásadní vliv elektromagnetického pole. Tímto směrem bylo již dříve zaměřeno množství experimentů i z důvodů hospodářských.

Výsledky dosud provedených pokusů zabývajících se vlivem elektromagnetického záření na mikroorganismy a aktivitu enzymů v roztocích jsou značně různorodé.

V případě mikrobiálních kultur velmi záleží na stavu kultury a vlastnostech média, elektromagnetické pole se tak stává pouze jedním z vlivů. Mnohé z experimentů ukazují na existenci tzv. oken – intervalů parametrů, ve kterých se vliv elektromagnetického pole projevuje výrazně odlišně. Jsou dokumentována okna frekvenční, časová a dokonce i amplitudová. Některá frekvenční okna se zdají odpovídat teoreticky předpovězeným hodnotám pro rezonanční modely (*Hönes 1998*).

Mikrobiologické kultury reagují na elektromagnetické pole různě. U *Pseudomonad* a rodu *Corynebacterium* byla pozorována stimulace růstu (*Hönes 1998*). Bakteriální druhy *Streptococcus mutants* a *Staphylococcus aureus* (*Kohno 1995*) byly vlivem elektromagnetického pole při anaerobní kultivaci silně inhibovány. Stejně tak může být inhibována *E. coli* (*Ramon 1981*), popř. zůstává k elektromagnetickému poli netečná (*Mittenzwey 1996*).

U kvasinek byla pozorována dvě frekvenční okna, při kterých je proliferace stimulována (*Mehedintu 1997*).

Ukazuje se, že nemalý vliv má také kultivační prostředí. Při kultivaci bakterií v médiu, ve kterém byly dříve kultivovány bakterie stejného druhu pod vlivem magnetického pole, dochází k potlačení buněčné smrti těchto buněk (*Horiuchi 2002*).

Z uvedených výsledků vychází, že EMF má vliv na organismy, efekt je však ovlivněn mnoha faktory a není jisté, jak k ovlivnění dochází.

5 MATERIÁL A METODY

5.1 USPOŘÁDÁNÍ POKUSU

Cílem této práce bylo zjistit, jak působení elektromagnetickým zářením ovlivní proliferaci kvasinek.

Za tímto účelem jsme vytvořili komoru, na kterou byl připojen zdroj elektromagnetického záření na anténní bázi a druhou, která byla od tohoto pole odstíněná, jinak však zajišťovala stejné podmínky pro použitý organismus. (Kap. 5.2) Tak jsme zajistili, že jediným rozdílným faktorem působícím na buňky bylo generované záření.

Do každé komory jsme umístili 33 kyvet se suspenzí kvasinek v živném roztoku, které jsme si předem připravili (Kap. 5.4). Měření jsme opakovali na 6 souborech vzorků, kde každý byl zastoupený 11 testovanými zástupci a 11 kontrolními zástupci. Abychom minimalizovali chyby, způsobené možnou chybnou manipulací každé kyvety s buněčnou suspenzí, byly měřené absorbance průměrovány.

Změnu proliferace jsme kvantifikovali spektrofotometricky (Kap. 5.3) každou hodinu po dobu 4 nebo 6 hodin. Přístroj jsme kalibrovali živným roztokem, který neobsahoval buňky.

Výsledné hodnoty jsme upravili a statisticky vyhodnotili v programu Microsoft Excel 2007.

Obrazová dokumentace k průběhu pokusu je v příloze 1.

5.2 EXPOZIČNÍ KOMORA

Expoziční komora se skládala z: mikrovlnného generátoru pracujícího v pásmu $f_1 = 2100\text{MHz}$ až $f_2 = 2500\text{MHz}$, spirální antény vyzařující elektromagnetické záření požadovaného rozsahu frekvencí a plastové krabičky o rozměrech 60mm x 60mm x 15mm.

Pro potřeby experimentu byly zkonstruovány dvě komory, jedna pro expozici vzorků se spirální anténou typu Archimédova dvojitá spirála a druhá bez antény pro neexponované vzorky, aby zde byly zaručeny stejné podmínky pro vývoj kvasinek, (teplota, osvit atd.).

Expozice probíhala na frekvenci 2450MHz, která se nachází v oblasti bezdrátových komunikačních zařízení tzv. WiFi.

Naším cílem bylo vytvořit homogenní elektromagnetické pole uvnitř expoziční komory, čehož jsme docílili pomocí spirálová antény, která vyzařuje kruhově polarizovanou elektromagnetickou vlnu (kap.5.2.1). Aby byly výsledky navzájem porovnatelné, zajistili jsme, aby ostatní podmínky testovacích a kontrolních vzorků byly stejné (teplota, přístup světla, médium, použité kultury).

5.2.1 **Anténa**

Motiv planární antény spirálního typu byl vyleptán na vhodný dielektrický substrát. Použili jsme tzv. Archimédovu dvojitou spirálu, jejíž geometrie je znázorněná na obrázku 13.



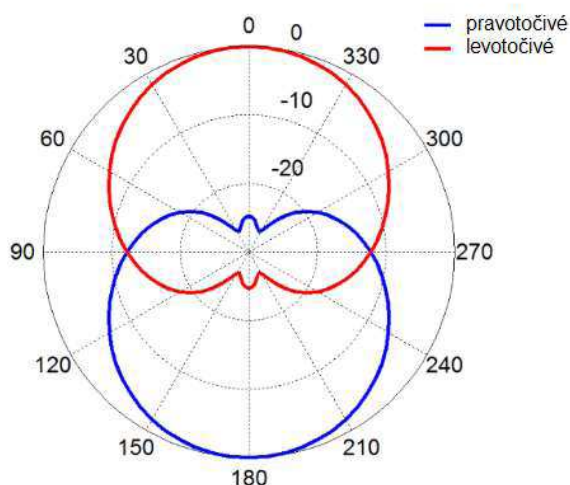
Obr. 13 Geometrie Archimédovy spirály

Tato anténa byla zvolena kvůli homogenitě vyzařovaného elmag. pole, jež je dosaženo zejména kruhovou polarizací vyzařované elmag. vlny.

Dále bylo nutno dosáhnout vhodného impedančního přizpůsobení rozhraní anténa, volné prostředí a vodní zátěž v blízké zóně antény. Zde jsou základními určujícími parametry tvar spirály, tloušťka pásku, vzdálenost mezi sousedními závitů a velikost vnitřního resp. vnějšího poloměru spirály.

Archimédova spirála vyzařuje z oblasti, kde pomyslný obvod spirály je roven vlnové délce. Této oblasti říkáme aktivní oblast.

Na obrázku 14. je zobrazena směrová charakteristika Archimedovy spirálové antény. Polarizace je kruhová s dvěma hlavními laloky, které mají opačný směr (levotočivé, pravotočivé). Vyzařovací charakteristika je relativně konstantní přes celé frekvenční pásmo. Kruhová polarizace vyzařované elektromagnetické vlny zajišťovala homogenní pole v požadované oblasti expozice.



Obr. 14: Směrová charakteristika spirálové antény

Archimédova dvojitá spirála patří mezi tzv. komplementární struktury. Struktura je komplementární, jestliže tvar štěrbin jednoho útvaru a tvar vodivého pásku druhého útvaru jsou shodné. V případě Archimédovy spirály jsou těmito komplementárními útvary kovový pásek a prostor mezi jednotlivými pásky. Této skutečnosti se používá při hledání vhodného impedančního přizpůsobení, zde za použití simulátoru elektromagnetické pole nastavujeme vhodnou šířku pásku a mezer, čímž dosahujeme ladění vstupní impedance antény. Anténa byla při simulacích naladěna na impedanční přizpůsobení $S_{11} = 30,54\text{dB}$, a po následném vyleptání a osazení do komory bylo naměřeno impedanční přizpůsobení $S_{11} = 23,2\text{dB}$, tento

pokles se dá vysvětlit jednak nepřesnostmi při výrobě spirální antény a také jisté nutné aproximaci při simulačním modelu.

5.3 SPEKTROFOTOMETR

Pomocí spektrofotometru jsme určovali absorbanci roztoku v kyvetě. Absorbance je bezrozměrná veličina a udává, jak mnoho světla bylo pohlceno měřeným vzorkem. Tím jsme určili proliferaci buněčné kultury. Čím více buněčné masy bylo v roztoku, tím vyšší byla hodnota absorbance.

5.3.1 *SpectronicTM HeliosTM Gamma UV-VIS spektrofotometr*

Přístroj je používán pro rychlé měření UV-VIS spekter v oblasti 190-1100 nm a pro kvalitativní a/nebo kvantitativní analýzu vzorků. (obr. 30)

Jedno paprskový spektrofotometr s nastavitelnou vzdáleností kyvety (1-50 mm). Kontrola je zajišťována přes LCD panel přímo na přístroji nebo počítačem. Rozsah vlnových délek 190-1100 nm s přesností ± 1.0 nm a šířkou spektrálního pásu 2 nm. Zdroj UV: deuteriová lampa, zdroj VIS: wolframová lampa, fotodiodový detektor, mřížkový monochromátor (1200 lines/mm).

5.4 VZORKY

Každé měření jsme prováděli na 33 testovaných a 33 kontrolních vzorcích suspenzí kvasinek. (obr. 29)

5.4.1 *Médium a kultivace buněk*

YPD (Yeast Peptone Dextrose) Medium je směs peptonu, výtažku z kvasnic, a dextróza v optimálním poměru pro pěstování většiny kmenů *Saccharomyces cerevisiae*.

Exponovaným organismem byly kvasinky druhu *Sacharomyces cerevisciae*. Laboratorní kmen BY4742 jsme očkovali v roztoku YPD složeného z:

- 1l destilované vody
- 20g glukózy
- 10g výtažku z kvasinek
- 10g peptonu

Roztok jsme před použitím sterilizovali autoklávem.

Po 12 hodinové kultivaci za standardních laboratorních podmínek jsme kvasinky rozředili v roztoku YPD. Hustotu suspenze jsme hodnotili spektrofotometricky (tab. 2). Na základě získaných absorbancí jsme zvolili koncentrace pro měření expozice elektromagnetickým polem.

5.4.2 Příprava vzorků

Součástí měření bylo i zvolit vhodnou vlnovou délku pro hodnocení absorpance kvasinkového roztoku a současně vhodné naředění roztoku.

Podle dostupných zdrojů se ke spektrofotometrickému vyhodnocování kvasinkových kultur se obvykle používají vlnové délky v rozsahu 550 – 600nm.

Do výběru jsme proto zařadili vlnové délky 550, 580, a 600nm. Jak je z tabulky 2 zřejmé, všechny vlnové délky vykazovaly kvalitní výsledky. Z toho důvodu jsme mohli použít jakoukoliv z těchto možností, naší volbou se stala vlnová délka 580nm.

Od použití výsledků z měření o více vlnových délkách jsme upustili kvůli redundanci výsledků.

Absorbance	550nm	580nm	600nm
10x zředěný	0,638	0,598	0,533
30x zředěný	0,291	0,269	0,250
50x zředěný	0,226	0,191	0,173
70x zředěný	0,174	0,150	0,135

Tab. 2: Počáteční absorpance vzorků

Výběr koncentrací roztoků jsme prováděli s ohledem na následující faktory:

- Počáteční absorpance – Chtěli jsme tak předejít stavu, kdy dojde k takovému zahuštění roztoku buňkami, že jejich kvantifikace touto cestou již nebude možná.
- Kultivační podmínky – vzhledem ke konstrukci ozařovací kabinky, jsme měli možnost použít jen velmi malý objem roztoku. Proto jsme volili roztoky více zředěné, aby nedošlo k rychlému vyčerpání výživných látek pro kvasinky.

Kultury jsme tedy naředili tak, aby jejich absorpance pohybovala v rozmezí 0,15 – 0,25.

Pokus jsme opakovali dvakrát na 3 různých inokulích kmene BY4742, o různých ředěních.

5.5 METODA VYHODNOCOVÁNÍ

Výsledky jsme graficky zpracovali a vyhodnotili v programu Microsoft Excel 2007 statistickou metodou: studentův t- test.

5.5.1 *Krabicový graf*

Krabicové grafy jsou užitečné pro grafické vyjádření tvaru rozdělení, jeho střední hodnoty a variability. Střední čárka v krabici představuje medián. Hranice krabice pak představují 1. a 3. kvartil. Oblast mezi 1. a 3. kvartilem se označuje jako interkvartilový interval. Pomocí chybových úseček jsme v grafu znázornili variabilitu rozdělení.²⁰

5.5.2 *T test*

T-test je metodou matematické statistiky, která umožňuje ověřit některou z následujících hypotéz:

- zda normální rozdělení, z něhož pochází určitý náhodný výběr, má určitou konkrétní střední hodnotu, přičemž rozptyl je neznámý
- zda dvě normální rozdělení mající stejný (byť neznámý) rozptyl, z nichž pocházejí dva nezávislé náhodné výběry, mají stejné střední hodnoty (resp. rozdíl těchto středních hodnot je roven určitému danému číslu)

V prvním případě může být náhodný výběr tvořen buď jednotlivými hodnotami (pak se jedná o jednovýběrový t-test), anebo dvojicemi hodnot, u nichž se zkoumají jejich rozdíly (pak se jedná o párový t-test). Ve druhém případě jde o dvouvýběrový t-test.

V praxi se t-test často používá k porovnání střední hodnoty dvou výběrů.

²⁰ <http://wood.mendelu.cz/cz/sections/FEM/?q=node/82>

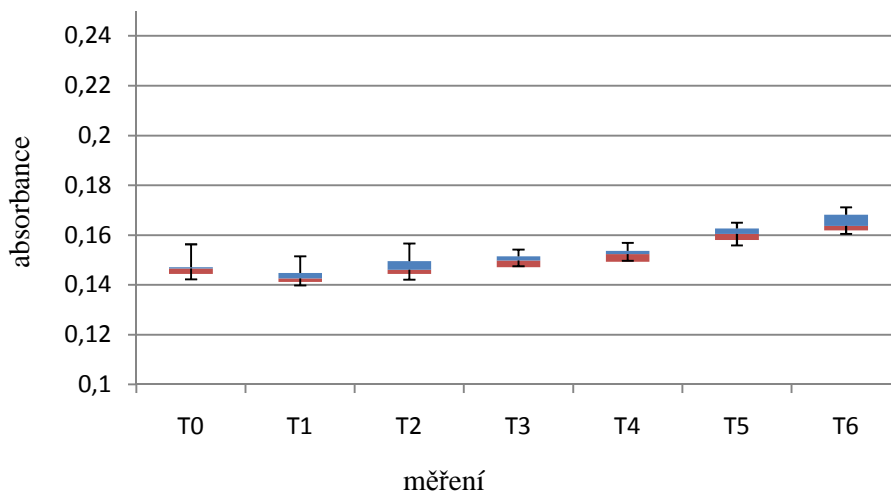
6 VÝSLEDKY

Výstupem měření byly absorbance vzorků. Z 11 získaných absorbancí každého vzorku v konkrétním čase jsme vypočítali střední hodnotu, rozptyl výsledků. Z těchto údajů jsme vytvořili přehledné grafy, které znázorňují průběh absorbance souboru vzorků (příloha 1).

6.1 ROZLOŽENÍ HODNOT

Na obrázku 15 je graf znázorňující průběh absorbance u kontrolního, tedy neexponovaného vzorku 4. Osa y značí hodnotu absorbance, na ose x jsou časy měření. Tedy T0- počáteční absorbance až T6 absorbance naměřená po 5 hodinách probíhajícího pokusu.

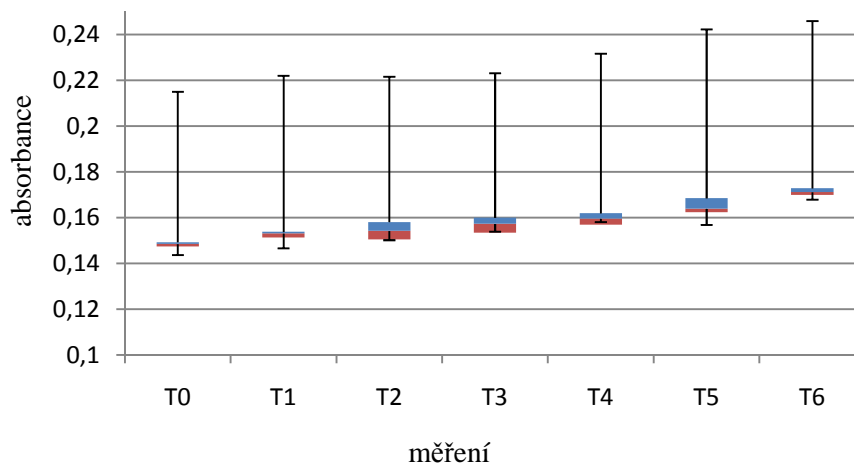
Jde o krabicový typ grafu s chybovými úsečkami. Červené pole znázorňuje 2. kvadrant a modré pole 3. kvadrant normálního rozdělení absorbancí vzorků. Vnitřní hranice kvadrantů je medián absorbancí. Chybové úsečky značí minimální a maximální naměřené hodnoty.



Obr. 15: Soubor vzorků 4 - kontrolní

Rozložení hodnot bylo vodítkem pro výběr souboru vzorků pro statistické hodnocení. Výrazná odchylka v počtu 11 vzorků významně ovlivní vypočítanou střední hodnotu z tohoto souboru, kterou jsme používali při dalším zpracování. Soubory, které se vyznačovaly výraznými chybovými odchylkami, jsme ze statistického hodnocení vyřadili.

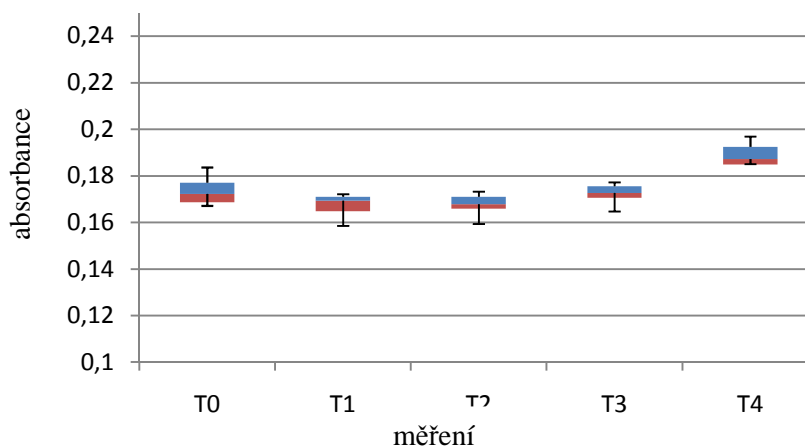
V grafu na obrázku 16 je z průběhu plusové chybové úsečky souboru vzorků 4 znatelné, že hodnoty absorbancí jednoho zástupce se výrazně odchylojí od ostatních ve všech měřených časech. U tohoto vzorku došlo pravděpodobně k chybě při přípravě nebo znečištění kyvety či roztoku již před zahájením pokusu, nebo mohl být kontaminován jiným, rychleji se množícím organismem. Z toho důvodu jsme celý soubor vzorků ze statistického vyhodnocování vyřadili.



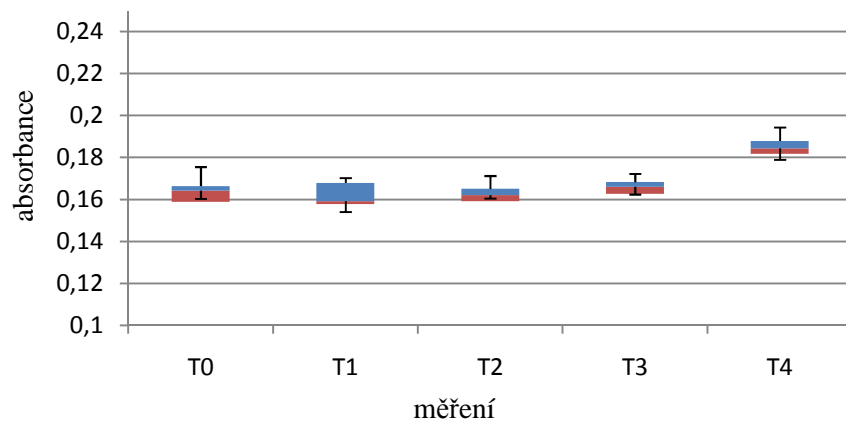
Obr. 16: Soubor vzorků 4 - exponovaný s výraznou chybovou odchylkou

Podobné průběhy s vysokým rozptylem hodnot jsme pozorovali u souboru vzorků 1 neexponovaný a 6 neexponovaný (obr. 32 a obr. 42, příloha 2)

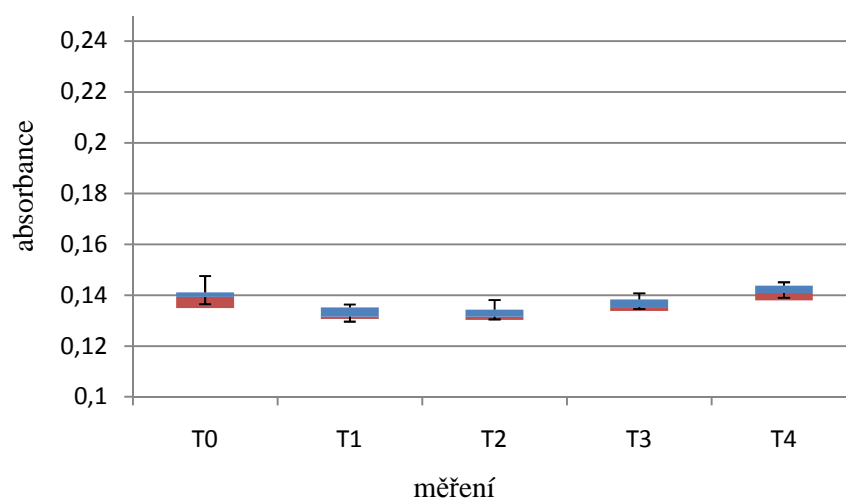
Pro porovnání absorbancí nám tedy zbyly soubory vzorků 2, 3 a 5 (obr. 17-22).



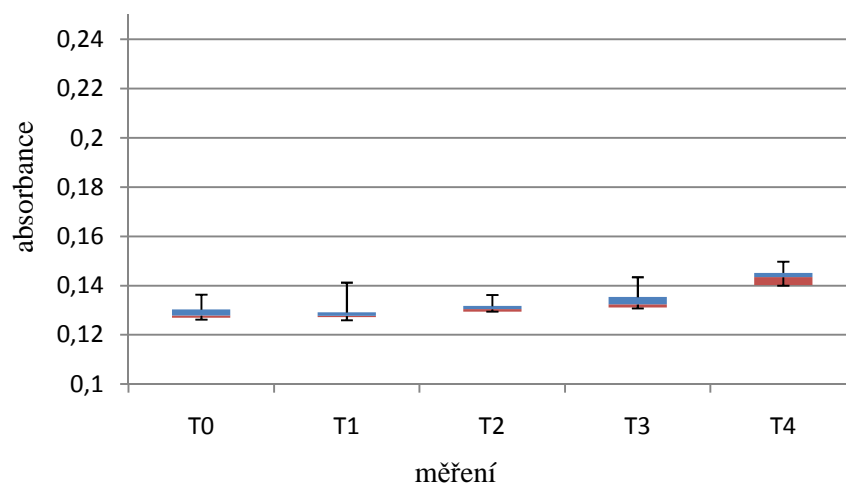
Obr. 17: Soubor vzorků 2 - exponovaný



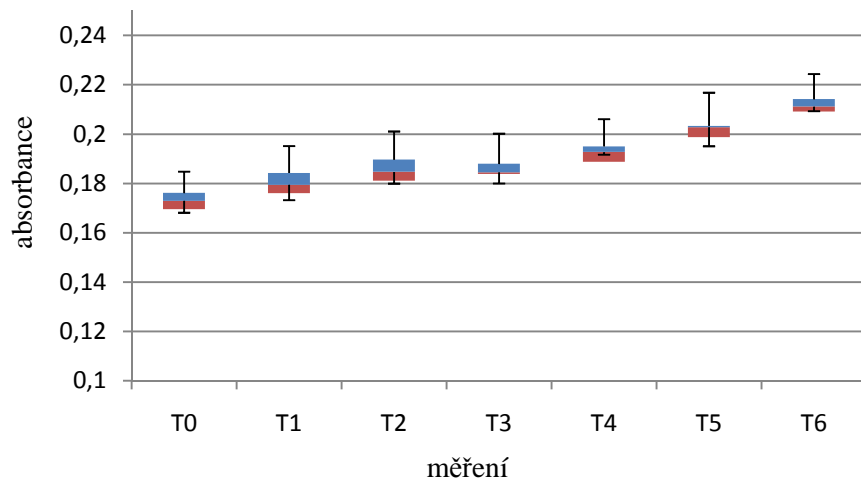
Obr. 18: Soubor vzorků 2 - kontrolní



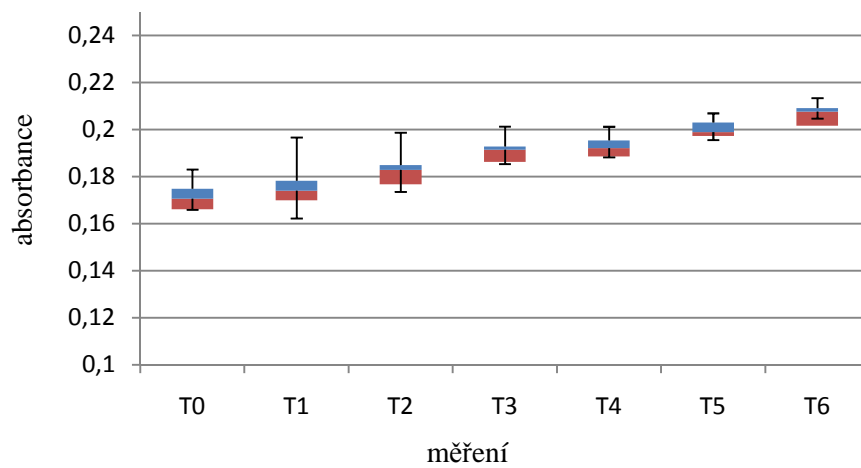
Obr. 19: Soubor vzorků 3 - exponovaný



Obr. 20: Soubor vzorků 3 - kontrolní



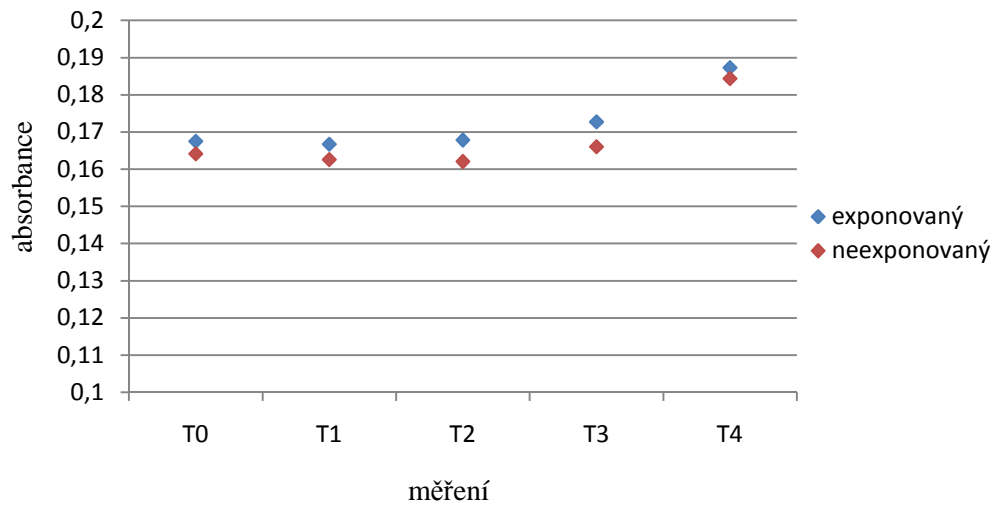
Obr. 21: Soubor vzorků 5 - exponovaný



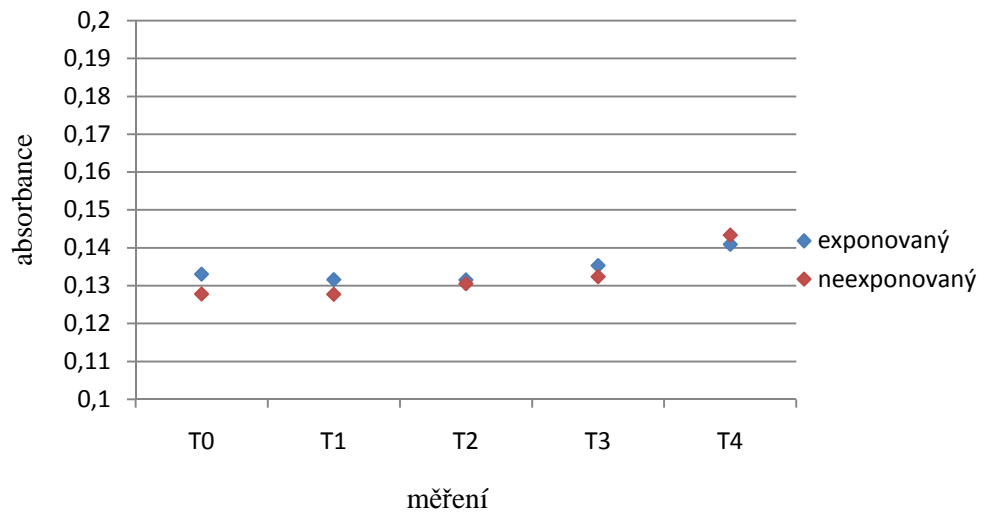
Obr. 22: Soubor vzorku 5 - kontrolní

6.2 PRŮBĚH ABSORBANCÍ

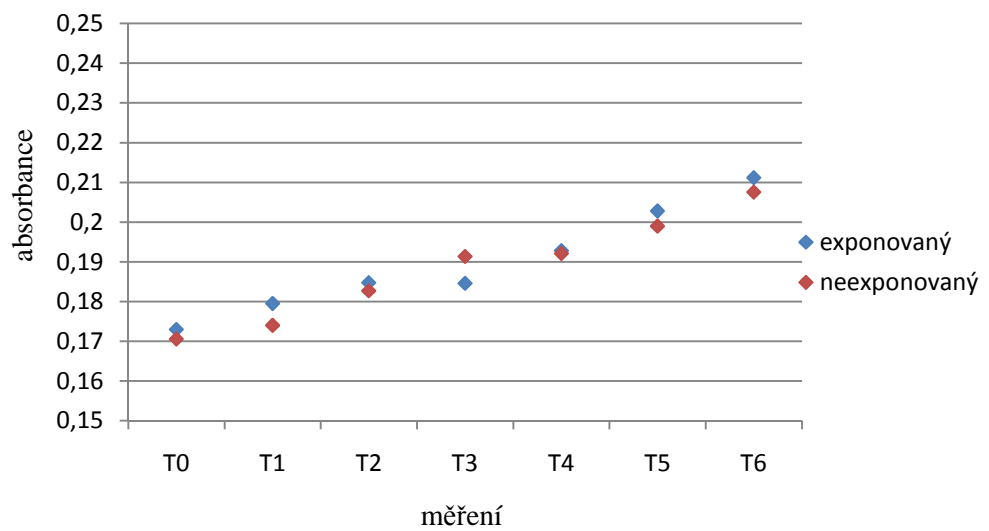
V další fázi zpracování jsme vytvořili grafy, kam jsme vynesli průměrné hodnoty souboru vzorků 2, 3 a 5 u exponovaných i kontrolních zástupců (obr. 23-25). Z těchto grafů je viditelné, jak stoupaly absorbance v čase, tedy i rozdíl proliferací kvasinek u exponovaných a neexponovaných zástupců.



Obr. 23: porovnání absorbancí exponovaného a kontrolního souboru vzorků 2



Obr. 24: porovnání absorbancí exponovaného a kontrolního souboru vzorků 3



Obr. 25: porovnání absorbancí exponovaného a kontrolního souboru vzorků 5

6.3 STUDENTŮV T-TEST

Průběh absorbancí vzorků 2, 3 a 5 měl ukázat rozdíl v proliferaci kvasinek exponovaných vs. kontrolních vzorků.

Na základě vizuálního zhodnocení naměřených dat absorbance jednotlivých vzorků jsme zjistili že rozložení dat má charakter normálního rozdělení. Tedy pro statistické zhodnocení těchto dat jsme použili dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů.

6.3.1 Formulace hypotéz:

1. Hypotéza H_{A1} : Mezi průběhem průměrných absorbancí exponovaného a kontrolního vzorku je rozdíl.

$$H_{A1} : A_E \neq A_K$$

Odpovídající nulová hypotéza H_{01} : Průběh průměrných absorbancí exponovaných a kontrolních vzorků je stejný.

$$H_{01} : A_E = A_K$$

2. Hypotéza H_{A2} : Průběh absorbancí exponovaného vzorku je větší než průběh kontrolního vzorku.

$$H_{A2} : A_E > A_K$$

Odpovídající nulová hypotéza H_{02} : Průběh absorbancí exponovaného vzorku je menší nebo je rovno průběhu absorbancí kontrolního vzorku.

$$H_{02} : A_E \leq A_K$$

- Pokud spočítané P_1 (P_2) je menší než α ($p < 0.05$), zamítám H_{01} (H_{02}) a akceptuji H_{A1} (H_{A2}).
- Pokud spočítané P_1 (P_2) je větší nebo rovno α ($p \geq 0.05$), H_{01} (H_{02}) se nezamítá, ale ani H_{A1} (H_{A2}).

6.3.2 Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro vzorek 2

Soubor vzorků 2	exponovaný	kontrolní
Stř. hodnota	0,1726	0,1680
Rozptyl	0,0001	0,0001
Pozorování	5	5
Společný rozptyl	8,87E-05	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	8	
T-hodnota testované statistiky	0,7710	
Hodnota P1	0,2314	
Kritická hodnota T1	1,8595	
Hodnota P2	0,4629	
Kritická hodnota T2	2,3060	

Tab. 3: Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro soubor vzorků 2

Rozdíly absorbancí exponovaných A_E a kontrolních A_K vzorků 2 nejsou významné ($t = 0,7710$ $P_2 = 0,4629$ aritmetický průměr exponovaný = 0,1726, aritmetický průměr kontrolní = 0,1680). Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{01} : A_E = A_K$ se nezamítá.

Absorbance exponovaných vzorků A_E nejsou významně větší než absorbance kontrolních vzorků A_K ($t = 0,9933$, $P_1 = 0,1748$). Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{02} : A_E \leq A_K$ se nezamítá.

6.3.3 Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro vzorek 3

Soubor vzorků 3	exponovaný	kontrolní
Stř. hodnota	0,13488	0,13307
Rozptyl	0,00001	0,00003
Pozorování	5	5
Společný rozptyl	2,26E-05	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	8	
T-hodnota testované statistiky	0,60363	
Hodnota P1	0,28140	
Kritická hodnota T1	1,85955	
Hodnota P2	0,56281	
Kritická hodnota T2	2,30600	

Tab. 4: Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro soubor vzorků 3

Rozdíly absorbancí exponovaných A_E a kontrolních A_K vzorků 3 nejsou významné ($t = 0,60363$ $P_2 = 0,56513$ aritmetický průměr exponovaný = 0,13488, aritmetický průměr kontrolní = 0,13307. Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{01} : A_E = A_K$ se nezamítá.

Absorbance exponovaných vzorků A_E nejsou významně větší než absorbance kontrolních vzorků A_K ($t = 0,60363$, $P_1 = 0,28256$). Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{02} : A_E \leq A_K$ se nezamítá.

6.3.4 Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro vzorek 5

<i>Soubor vzorků 5</i>	<i>exponovaný</i>	<i>kontrolní</i>
Stř. hodnota	0,1909	0,1881
Rozptyl	0,0002	0,0002
Pozorování	7	7
Společný rozptyl	0,0002	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	12	
T-hodnota testované statistiky	0,4130	
Hodnota P1	0,3434	
Kritická hodnota T1	1,7823	
Hodnota P2	0,6869	
Kritická hodnota T2	2,1788	

Tab. 5: Dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů pro soubor vzorků 5

Rozdíly absorbancí exponovaných A_E a kontrolních A_K vzorků 5 nejsou významné ($t = 0,4130$ $P_2 = 0,6869$ aritmetický průměr exponovaný = 0,1909, aritmetický průměr kontrolní = 0,1881. Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{01} : A_E = A_K$ se nezamítá.

Absorbance exponovaných vzorků A_E nejsou významně větší než absorbance kontrolních vzorků A_K ($t = 0,4130$, $P_1 = 0,3434$). Výsledek je na hladině α statisticky nesignifikantní a nulová hypotéza $H_{02} : A_E \leq A_K$ se nezamítá.

6.3.5 **Souhrn**

Na základě výsledků provedených t-testů nedošlo k potvrzení definovaných hypotéz H_{A1} (Mezi průběhem průměrných absorbancí exponovaného a kontrolního vzorku je rozdíl) a H_{A2} (Průběh absorbancí exponovaného vzorku je větší než průběh kontrolního vzorku) pro žádný z testovaných souborů vzorků 2, 3 a 5.

7 DISKUZE

Vliv elektromagnetického pole na organismus je aktuální otázkou dnešní doby. Uměle vytvořených elektromagnetických polí v prostředí stále přibývá, a proto jsou biologické účinky elektromagnetických vln předmětem výzkumů již více než 20 let v mnoha zemích světa včetně ČR.

Bylo prokázáno, že při krátkodobém působení v rozsahu 0-300GHz na člověka dochází k ohřívání tkáně těla a dráždění nervové soustavy (*Jelínek 2009*). Hlavním otazníkem je, zda působení elektromagnetické pole nepřispívá k rozvoji vážných onemocnění, jako je Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba. Ačkoliv některé studie poukazovali na možnost větší incidence rakoviny u osob vystavených dlouhodobému působení elektromagnetického pole (*Feychting 1993, Savitz, 1988*), toto podezření nebylo potvrzeno (*McDowall 1986, Fulton 1980, Severson 1988, Gabriel 1996*).

Studie na téma „elektromagnetické pole a zdraví“ se provádí na všech úrovních buněčné organizace. V ideálním případě by měly poznatky z úrovní nižších vysvětlit výsledky na úrovni vyšší. Oproti epidemiologickým studiím pokus s modelovým organismem eukaryotického či prokaryotického typu s sebou nese méně rušivých faktorů a jsou lépe přístupné cílenějšímu experimentování než epidemiologické studia prováděné na lidech.

Reakce na vliv elektromagnetického záření je různá podle druhu mikrobiologické kultury. Byl pozorován jak stimulační (*Hönes 1998*), tak inhibiční (*Kohno 1995*) vliv na proliferaci. V některých případech bylo pozorováno potlačení buněčné smrti organismu (*Horiuchi 2002, Laszlo2010*). Podle studií zabývajících se vlivem elektromagnetického záření na kvasinky, dochází ke zvýšené proliferaci buněk ve dvou frekvenčních oknech (*Mehedintu 1997*), jinak zůstávají k působení elektromagnetického pole netečné (*Anton-Leberre 2010*).

Naším cílem bylo určit, jak elektromagnetické pole ovlivní proliferaci kvasinek. Pro splnění cíle bylo nutné, přesné definování podmínek pokusu.

V první řadě jsme si zvolili frekvenci elektromagnetického záření, kterým jsme exponovali testované buňky. Kvůli neustálému rozvoji technologií na bázi bezdrátového přenosu dat se stala oblastí našeho zájmu frekvence 2450MHz, která leží v pásmu wifi.

Dalším kritériem se stal požadavek na homogenitu vyzařovaného pole. Aby všechny exponované buňky byly vystaveny stejnému elektromagnetickému záření, byl zásadní vhodný výběr typu a konstrukce antény.

Zvolili jsme spirálový typ antény, který vyzařuje elektromagnetické pole s kruhovou polarizací a z toho důvodu pokrývá ozařovanou plochu rovnoměrným elektromagnetickým polem. Z poznatků o tomto druhu antény, které jsme uvedli v kapitole 5.2.1, vyplývá, jak konstrukční vlastnosti ovlivňují velikost ozařované plochy. Velikost naší antény ovšem limitovala velikost expoziční komory a za současného požadavku hodnocení vzorků v několika kopiích (11 pro každý konkrétní vzorek) i velikost kyvety se suspenzí buněk.

Jelikož jsme zjišťovali proliferaci buněk, bylo nutné zvolit vhodnou kvantifikační metodu. Hodnocení spektrofotometrickou metodou je snadné, vyžaduje ovšem přípravu suspenze sledovaného organismu. Buněčnou masu, která se v tomto roztoku mění, lze snadno zachytit a kvantifikovat pomocí paprsku procházejícího kyvetou s roztokem

Výpovědní hodnota o stavu kultury jako takové je ze spektrofotometrického hodnocení malá - nelze například určit, má-li elektromagnetické pole vliv na viabilitu buněk; dojde-li vlivem záření k usmrcení organismu, hmotnostní masa v suspenzi se nemění a na absorbanci se tento fakt neprojeví. Na hodnocení proliferace buněk, kterou jsme si dali za cíl, a která se projeví zvýšením buněčné hmoty v suspenzi a tedy zvýšením absorbance, je spektrofotometrické měření vhodné.

Požítí tekutého živného média sebou nesl jistou limitaci v podobě krátké doby, po kterou byly buňky vystaveny vlivu záření. Za předpokladu ovlivnění elektromagnetickým polem ať stimulačního či inhibujícího charakteru, byl by tento efekt na rozdíl proliferace zcela jistě viditelný zejména po delší době expozice. Krátkou dobu expozice jsme zvolili z toho důvodu, že životnost a exponenciální proliferace buněk požadovaná pro tento pokus je v tekutém médiu časově omezená cca na 20 hodin (samotnému pokusu předcházela 12 hodinová kultivace). Za standardních laboratorních podmínek dochází k dělení kvasinek vždy po 2 hodinách. Proto jsme v průběhu pokusu předpokládali 2 dělení každé buňky, resp. 3 dělení u 6 hodinové expozice a tím nárůst absorbance.

Výběr sledované kultury byl dalším bodem pokusu. Kvasinkový druh *Saccharomyces cerevisiae* je významným modelovým organismem. Jejimi výhodami

jsou snadná kultivace, krátká generační doba - 1.25–2 hodiny (*Boekhout 2003*) - což je znak typický pro prokaryota. Současně se však co by eukaryotní organismus podobá svou buněčnou strukturou rostlinám a živočichům. Použili jsme laboratorní kmen BY4742, naočkovali jej do živného roztoku YPD (Yeast Peptone Dextrose), který je vhodný pro pěstování většiny kmenů *S. cerevisiae*.

Po splnění všech požadavků jsme pokus opakovali na 66 testovaných vzorcích, kontrolu tvořilo dalších 66 vzorků, které nebyly vystaveny záření. Každých 11 kyvet (+ 11 kontrolních) obsahovalo suspenzi stejného inokula. Po úpravě dat jsme tedy získali průběh absorbancí 6 souborů vzorků.

Ze získaných výsledků naší studie je zřejmé, že v průběhu měření nebyl zjištěný rozdíl mezi proliferací exponovaných vzorků od kontrolních. Tento závěr je zřejmý z grafického zpracování dat všech hodnocených souborů vzorků (Soubor vzorků 2 - obr. 23; soubor vzorků 3 - obr. 24; soubor vzorků 5- obr 25) a statistická metoda tento závěr potvrdila ($p \geq 0.05$).

8 ZÁVĚR

Z grafického znázornění průběhu absorbancí, který představoval průběh proliferace kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, a následným statistickým zhodnocením tohoto trendu vyplynulo, že výsledné rozdíly v průběžích absorbancí exponovaných a kontrolních vzorků jsou statisticky nesignifikantní. Znamená to, že krátkodobá expozice elektromagnetickým polem o frekvenci 2450MHz neměla na proliferaci kvasinek laboratorního kmene BY4742 vliv.

S prudkým rozvojem mobilních telekomunikací a jiných průmyslových odvětví přibývá umělých zdrojů elektromagnetického záření v prostředí. Z toho důvodu je otázka vlivu elektromagnetického pole na zdraví stále aktuální.

Ačkoliv podobně jako naše, i výsledky jiných studií dosud neprokázali škodlivý vliv elektromagnetického záření na organismus, je nutné i nadále v experimentech na toto téma pokračovat, a na základě zjištěných výsledků podniknout opatření pro ochranu životního prostředí a stanovit hygienické limity pro bezpečnou hladinu elektromagnetického pole v prostředí.

9 POUŽITÉ ZDROJE

- [1] Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Walter, P., Roberts, K., Raff, M. (2005): *Základy buněčné biologie*. 2.vyd. Ústí nad Labem: Espero Publishing, s.r.o. ISBN 80-902906-2-0.
- [2] Anton-Leberre V. Haanappel E., Marsaud N., Trouilh L., Benbadis L., Boucherie H., Massou S., Francois JM. (2010) : Exposure to high static or pulsed magnetic fields does not affect cellular processes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *AS Bioelectromagnetics*. 31(1):28-38
- [3] Bartuška, K. (2000): *Sbírka řešených úloh z fyziky IV*. 1. vyd. Praha: Prometheus 2000, ISBN: 80-7196-037-3
- [4] Beckerich J., Boisramé-Baudevin A., Gaillardin C. (1998): *Yarrowia lipolytica*: A model organism for protein secretion studies. *Internatl. Microbiol*. 1: 123-130.
- [5] Bendová O., Kahler M. (1981): *Pivovarské kvasinky*. SNTL, Praha. 118.
- [6] Berg H. 1999. Problems of weak electromagnetic fields in cell biology, *Bioelectrochem and Bioenerg.*, 48: 239-252;
- [7] Clark A.M., Hufford C.D. (1991): Use of microorganism for the study of drug metabolism: An update. *Med. Res. Rev.* 11: 473-501.
- [8] Durney C. H., Massoudi H., Iskander M. F., 1985. *Radiofrequency radiation handbook*. Brooks Air force Base, TX: U. S. Air force school of aerospace, medical division Reg. No. SAM-TR-85-73.
- [9] Elez-Martinez P., Escola-Hernandez J., Soliva-Fortuny RC., Martin-Belloso O. (2004): Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* suspended in orange juice using high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Protection* 67(11):2596-602
- [10] Feychting M., Ahlbom A., 1993. Magnetic fields and cancer in children residing near swedish high voltage power lines, *Am. J. Epidemiol.*, 138: 467-481.
- [11] Fulton J. P., Cobb S., Preble L., Leone L., Forman E., 1980 electrical wiring configurations and childhood leucemia in Rhode island, *Am. J. Epidemiol.*, 128: 21-38.
- [12] Gagnon Z., Mazur J., Chang HC. (2010) :Integrated AC electrokinetic cell separation in a closed-loop device. *Lab chip*. 10(6):718-26
- [13] Geveke DJ., Brunkhorst C. (2003): Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* with radio frequency electric fields. *Journal of Food Protection* 66(9):1712-5

- [14] Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, Feldmann H, Galibert F, Hoheisel JD, Jacq C, Johnston M, Louis EJ, Mewes HW, Murakami Y, Philippsen P, Tettelin H, Oliver SG (Oct 1996). "Life with 6000 genes". *Science* 274 (5287): 546, 563–567.
- [15] Gos P., Eicher B., Kohli J., Heyer WD. (1997): Extremely high frequency electromagnetic fields at low power density do not affect the division of exponential phase *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Bioelectromagnetics*. 18(2):142-55
- [16] Gos P., Eicher B., Kohli J., Heyer WD. (2000): No mutagenic or recombinogenic effects of mobile phone fields at 900 MHz detected in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioelectromagnetics*. 21(7):515-23, 2000 Oct.
- [17] Guyot S., Ferret E., Boehm JB., Gervais P. (2007): Yeast cell inactivation related to local heating induced by low-intensity electric fields with long-duration pulses. *Journal of Food Microbiology*. 113(2):180-8
- [18] Hönes I., Pospischil A., Berg H. 1998 Electrostimulation of proliferation of the denitrifying *Pseudomonas stutzeri*, *Bioelectrochem. and Bioenerg.*, 44: 275-277.
- [19] Horiuchi S., Ishizaki Y., Okuno K., Ano T. Shoda M., 2002. Change in broth culture is associated with significant suppression of *Escherichia coli* death under high magnetic field, 57:139144.
- [20] International commission on non-ionizing radiation protection, 1998. Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic and electromagnetic fields (up to 300 GHz), Health Physics Society.
- [21] Jan Klbal, Stavíme jednoduché přijímače VKV, Naše vojsko, Praha 1988, 621.396.24
- [22] Janderová B., Bendová O. (1999): Úvod do biologie kvasinek. Karolinum, Praha. 108.
- [23] Jelínek, L., Pekárek, L., NRL č. 16/2009 Vliv elektromagnetického pole na lidský organismus; <http://www.szu.cz/tema/pracovni-prostredi/informace-nrl>
- [24] Kalina T., Váňa J. (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Karolinum, Praha. 606.
- [25] Klouda, P.: Moderní analytické metody. 1. vyd. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 1996. ISBN 80-902155-0-5.
- [26] Kocková-Kratochvílová A. (1982): Kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy. Alfa, Bratislava. 409.

- [27] Kocková-Kratochvílová A. (1990): Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Alfa, Bratislava. 704.
- [28] Kohno M., Yamazaki M., Kimura I., Wada M., 200. Effect of static magnetic fields on bacteria: *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia Coli*, *Patophysiology*, 7: 143-148.
- [29] Kuthan M., Devaux F., Janderová B., Slaninová I., Jacq C., Palková Z. (2003): Domestication of wild *Saccharomyces cerevisiae* is accompanied by changes in gene expression and colony morphology. *Mol. Microbiol.* 47: 745-754.
- [30] Ladislav Szántó: Maxwellovy rovnice a jejich názorné odvození, BEN - technická literatura, Praha 2003, ISBN 80-7300-096-2
- [31] Laszlo J., Kutasi J.(2010) : Static magnetic field exposure fails to affect the viability of different bacteria strains. *Bioelectromagnetics.* 31(3):220-5
- [32] Lei Ch., Berg H. 1998. Electromagnetic window effects on prolyferation rate of *Corynebacterium glutamicum*, *Bioelectrochem. and Bioenrg.*, 44: 261-265.
- [33] Luceri C., De Filippo C., Giovannelli L., Blangiardo M., Cavalieri D., Aglietti F., Pampaloni M., Andreuccetti D., Pieri L., Bambi F., Biggeri A., Dolara P. (2005): Extremely low-frequency electromagnetic fields do not affect DNA damage and gene expression profiles of yeast and human lymphocytes. *Radiat Res.* 164(3):277-85
- [34] Main J., McKenzie H., Yeaman G.R., Kerr M.A., Robson D., Pennington Ch.R., Parrat D. (1988): Antibody to *Saacharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. *BMJ.* 297: 1105-1106.
- [35] McDowall M., 1985. Mortality in persons resident in the vicinity of electricity transmission facilities, *Br. J. Cancer*, 53: 271-279.
- [36] Mehedintu M., Berg H., 1997. Proliferation responce of yeast *Saccharomyces cervisiaeon* electromagnetic field parameters, *Bioelectrochem. And Bioenrg.*, 43:67-70.
- [37] Mittenzwey R.S., Mei W. 1996. Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields On Bacteria- the Question of a Co-stressing Factor, *Bioelectrochem. and Bioenrg.*, 40: 21-27.
- [38] Naarala J., Hoyto A., Markkanen A. (2004): Cellular effects of electromagnetic fields. *Altern Lab Anim.* 32(4):355-60,
- [39] Nawarathna D., Claycomb JR., Cardenas G., Gardner J., Warmflash D., Miller JH Jr., Widger WR. (2006): Harmonic generation by yeast cells in response to

- low-frequency electric fields. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 73(5 Pt 1):051914
- [40] Němec M., Horáková D. (2002): *Základy mikrobiologie pro učitelské studium.* Vydavatelství MU, Brno. 233.
- [41] Nickoloff, J. A., Hoekstra, M. F., ed (1998): *DNA Damage and Repair, Volume 1: DNA Repair in Prokaryotes and Lower Eukaryotes,* Humana press, ISBN 0 89603 356
- [42] Palková Z. (2004): *Multicellular microorganisms: Laboratory versus nature.* *EMBO Rep.* 5: 470-476.
- [43] Pekárek, L. (2006) : *Neionizující elektromagnetická pole a zariadení,* Materiály doc. RNDr. Luďka Pekárka, DrSc. z Národní referenční laboratoře pro neionizující elektromagnetická pole a zariadení, <http://www.sysifos.cz/index.php>
- [44] Perez VH., Reyes AF., Justo OR., Alvarez DC., Alegre RM. (2007) : *Bioreactor coupled with electromagnetic field generator: effects of extremely low frequency electromagnetic fields on ethanol production by Saccharomyces cerevisiae.* *Biotechnol Prog.* 23(5):1091-4,
- [45] Pieper I., Wechler K., Katzberg M., Bruschi L., Sorensen P.G., Mensonides F., Bertau M. (2009): *Biosimulation of drug metabolism – A yeast based model.* *Eur. J. Pharm. Sci.* 36: 157-170.
- [46] Raida, Z., Hanus, S., 2002: *Vysokofrekvenční technika a antény,* Edice "Elektronická skripta" Brno: VUT v Brně
- [47] Ramon C., Ayaz M., Streeter D.D.Jr. 1981. *Inhibition of Growth Rate of Escherichia coli Induced by Extremely Low-Frequency Weak Magnetic Fields,* *Bioelectromagn.*, 2: 285-289.
- [48] Reynolds T.B., Fink G.R. (2001): *Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation.* *Science.* 291: 878-881.
- [49] S. Gabriel S. R. W. Lau, and C. Gabriel: "The dielectric properties of biological tissues. 2. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz," *Physics in Medicine and Biology*, vol. 41, no. 11, pp. 2251–2269, 1996
- [50] Savitz D. A., Wachtel H., Barnes F. A., John E. M., Tvrđik J. G., 1988. *case control study of childhood cancer and exposure to 60-Hz magnetic fields,* *Am. J. Epidemiol.*, 128: 21-38.

- [51] Severson R. K., Stevens R. G., Kaune W. T., Thomas D. B., Houser L., Davis S., Sever L. E., 1988. Acute not lymphocytic leukemia and residential exposure to power frequency fields, *Am. J. Epidemiol.*, 128: 10-20.
- [52] Somolinos M., Manas P., Condon S., Pagan R., Garcia D. (2008): Recovery of *Saccharomyces cerevisiae* sublethally injured cells after Pulsed Electric Fields. *Journal of Food Microbiology* 125(3):352-6,
- [53] Srisilam K., Veeresham C. (2003): Biotransformation of drugs by microbial cultures for predicting mammalian drug metabolism. *Biotechnol. Adv.* 21: 3-39.
- [54] Strašák L., Vetterl V., Fojt L., 2005. Effects of 50 MHz Magnetic Fields on the Viability of Different Bacterial Strains, *Electromagnetic biology and Medicine*, 24: 293-300.
- [55] Sveiczer A., Tyson J.J., Novak B. (2003): Modelling the fission yeast cell cycle. *Brief. Funct. Genomic. Proteomic.* 2: 298-307.
- [56] Špický, M.: *Genetika kvasiniek*. 1.vyd. Bratislava: Veda, 1992. 315 s. ISBN:80-224-0396-2.
- [57] T. Boekhout, V. Robert, ed (2003). *Yeasts in food*. p. 322.,
- [58] Vázquez-Tsujii O., Campos-Rivera T., Ahumada-Mendoza H., Rondán-Zárate A., Martínez-Barbabosa (2005): Renal ultrasonography and detection of pseudomycelium in urine as means of diagnosis of renal fungus balls in neonates. *Mycopathologia*. 159: 331-337.
- [59] Vodrážka Z. (2006): *Biochemie*. Akademie věd ČR, Praha. 191.
- [60] Vrba, J., *Interakce EM pole s biologickými objekty* ČVUT Praha Výňatek ze zprávy zpracovávané pro VUTS Liberec,
- [61] White, J.F. (2004): *High Frequency Techniques*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004, 528 s. ISBN 0-471-45591-1.
- [62] Wood V. a 130 autorů (2002): The genome sequence of *Schizosaccharomyces pombe*. *Nature*. 415: 871-880.

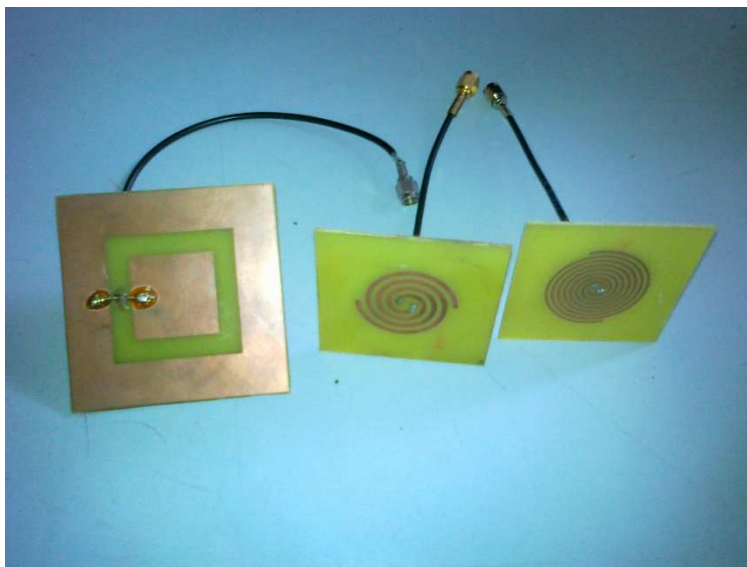
9.1 INTERNETOVÉ ZDROJE

- [63] http://www.casopisstavebnictvi.cz/prostredi-budov-a-vliv-elektrickych-a-elektromagnetickych-poli-na-zdravi_N3901
- [64] <http://wood.mendelu.cz/cz/sections/FEM/?q=node/82>
- [65] <http://www.skyfly.cz/zajimavo/mwucinky04.htm>
http://fyzika.gymsusice.cz/web/data/texty/Elmagneticke_vlny_1.pdf

- [66] <http://fyzika.jreichl.com/index.php>
- [67] http://goro.by1.cz/elmag_cz.html
- [68] http://www.gymhol.cz/projekt/fyzika/11_elmag/11_elmag.htm
- [69] <http://www.urel.feec.vutbr.cz/~raida/multimedia/index.php>, multimediální učebnice, 2010 FEEC VUT Brno

10 PŘÍLOHY

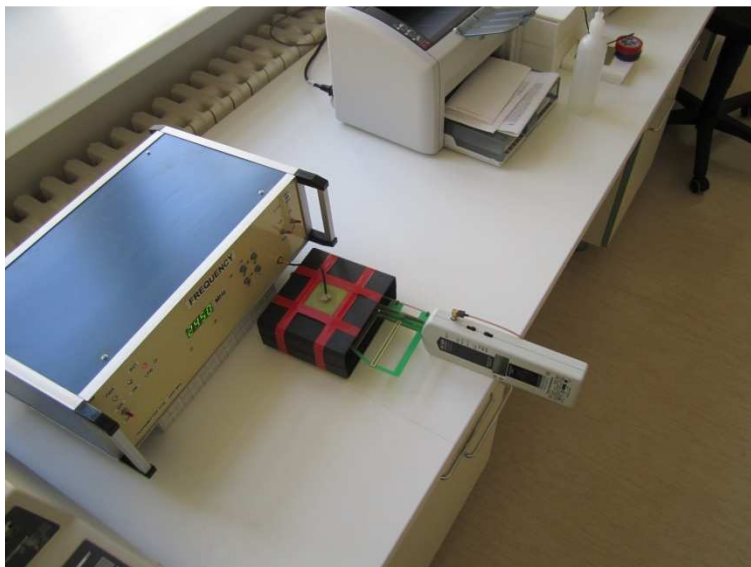
10.1 PŘÍLOHA 1: OBRAZOVÁ DOKUMENTACE



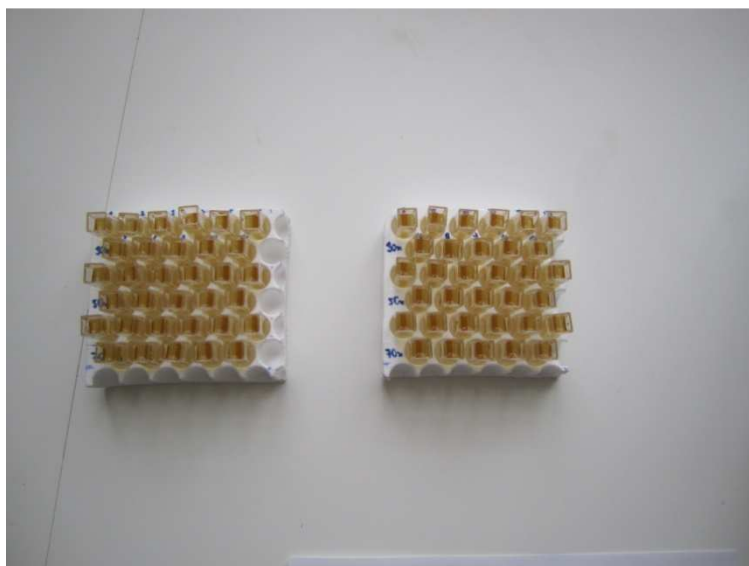
Obr. 26: Antény navržené pro náš pokus; vpravo a uprostřed antény spirálového typu



Obr. 27: generátor proudu, a dvě komory: černá komora - odstíněná, vpravo komora s připojenou anténou – expoziční



Obr. 28: kontrola elektromagnetického pole uvnitř expoziční komory



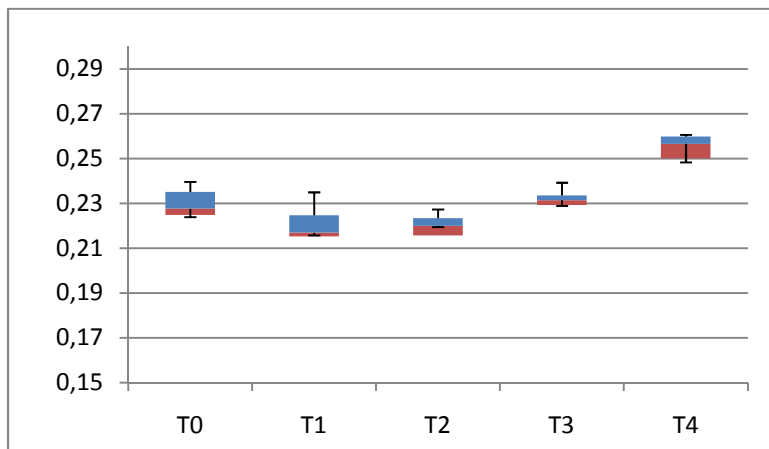
Obr. 29: příprava vzorků, susenze s kvasinkami



Obr. 30: Spektrofotometr Helio

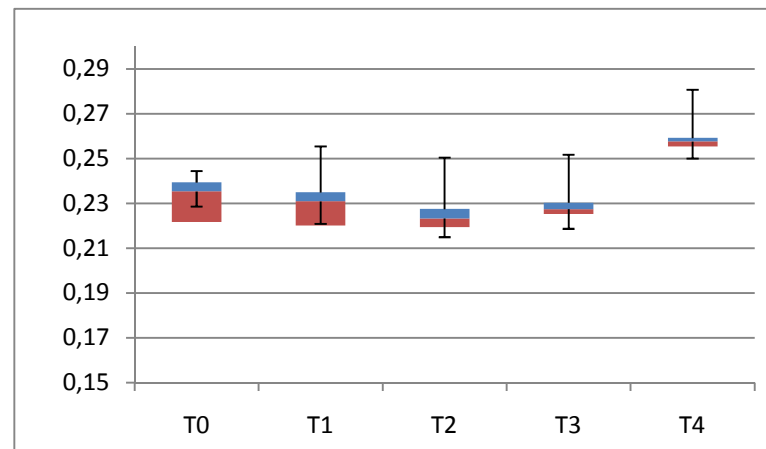
10.2 PŘÍLOHA 2: GRAFY

Soubor vzorků 1 exponovaný



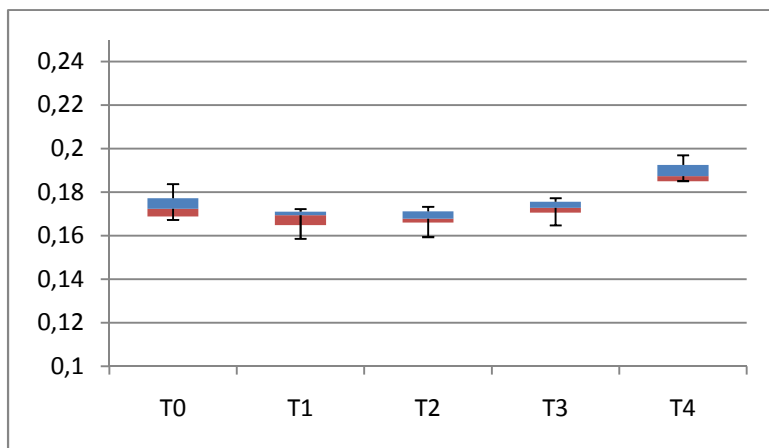
Obr. 31: vzorek 1- exponovaný; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



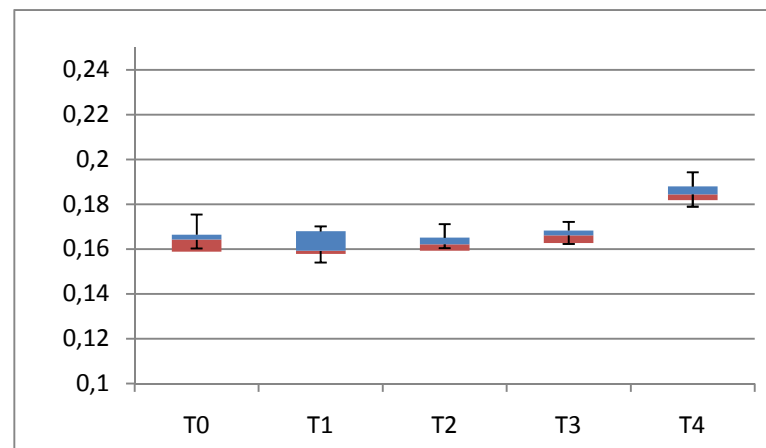
Obr. 32 : vzorek 1- kontrolní; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

Soubor vzorků 2 exponovaný



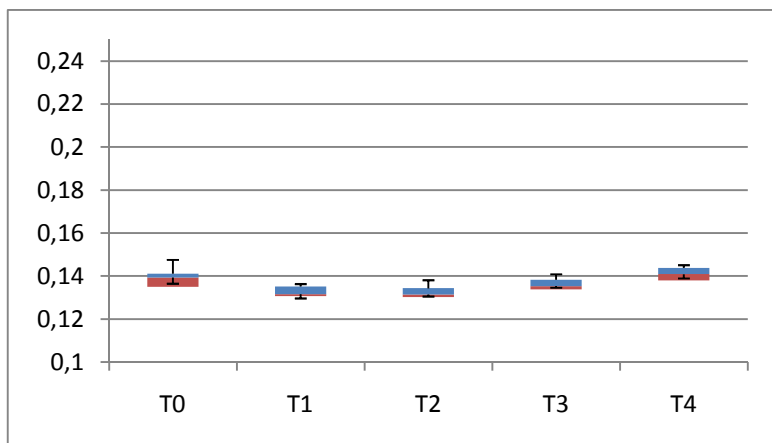
Obr. 33: vzorek 2- exponovaný; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



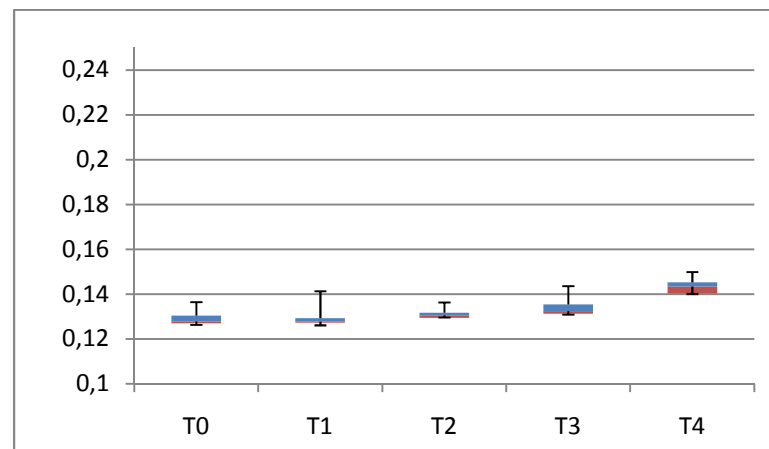
Obr. 34: vzorek 2- kontrolní; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

Soubor vzorků 3 **exponovaný**



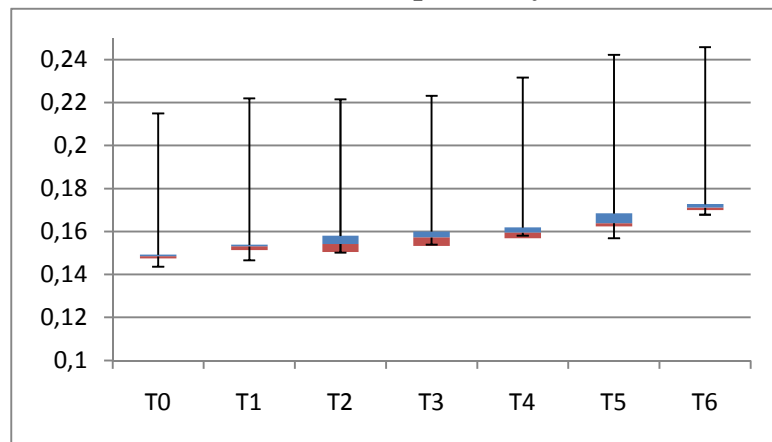
Obr. 35: vzorek 3- exponovaný; na ose y znázorněná absorbance vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



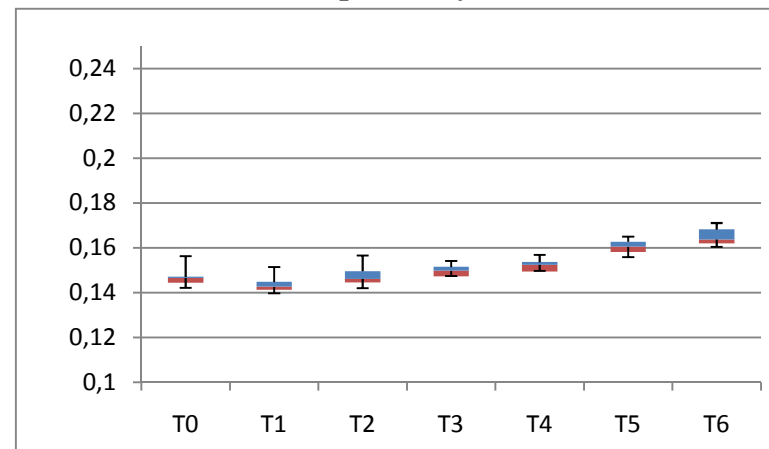
Obr. 36: vzorek 3 - kontrolní; na ose y znázorněná absorbance vzorku, osa x měření v čase

Soubor vzorků 4 **exponovaný**



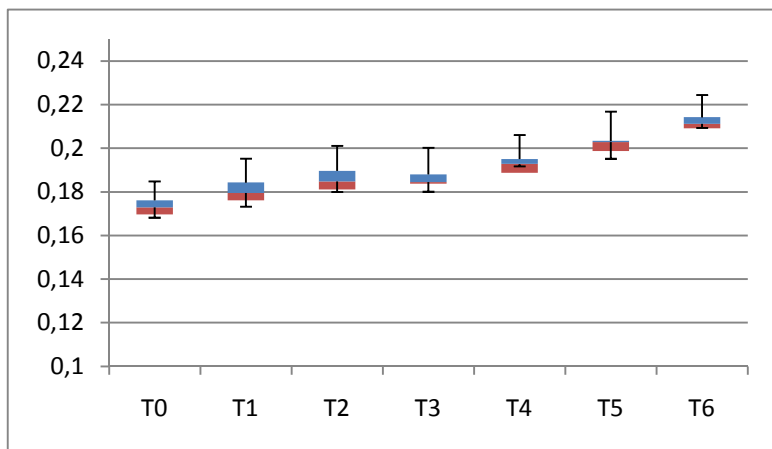
Obr. 37: vzorek 4- exponovaný; na ose y znázorněná absorbance vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



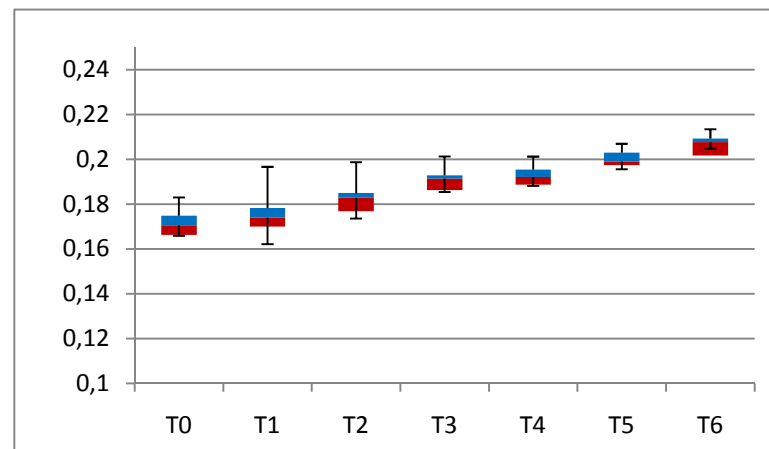
Obr. 38: vzorek 4 - kontrolní; na ose y znázorněná absorbance vzorku, osa x měření v čase

Soubor vzorků 5 exponovaný



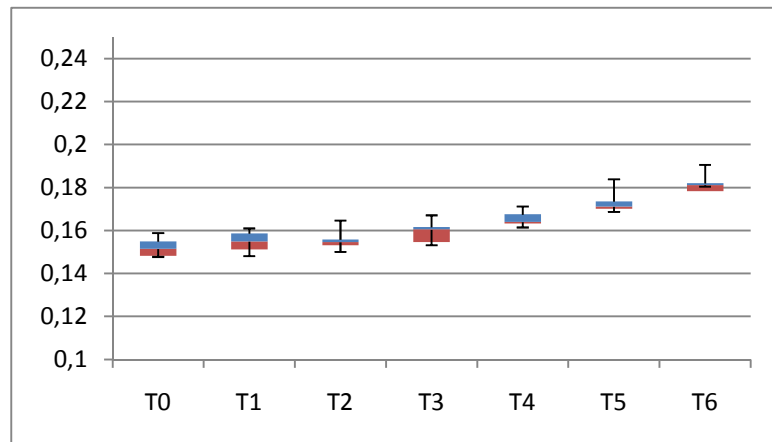
Obr. 39: vzorek 5- exponovaný; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



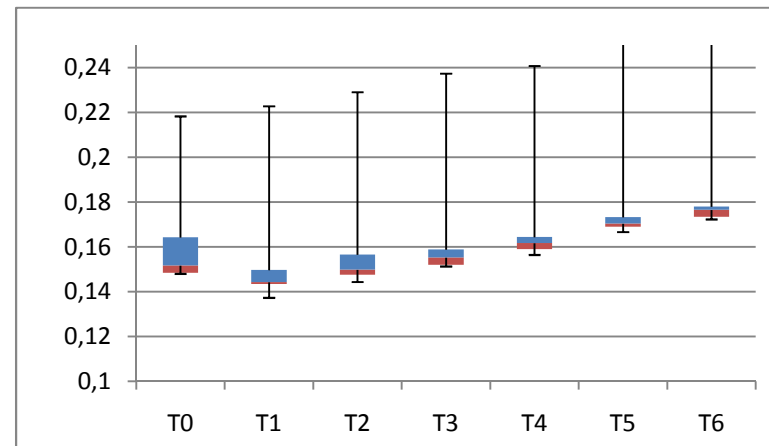
Obr. 40: vzorek 5 - kontrolní; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

Soubor vzorků 6 exponovaný



Obr. 41: vzorek 6- exponovaný; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase

neexponovaný



Obr. 42: vzorek 6 - kontrolní; na ose y znázorněná absorpce vzorku, osa x měření v čase