

ŠOLSKI CENTER VELENJE  
GIMNAZIJA VELENJE  
Trg mladosti 3, 3320 Velenje

MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**VPLIV MIKROVALOV NA KANCEROGENE IN NEKANCEROGENE  
CELICE TER NA RAST RASTLIN**

Tematsko področje: BIOTEHNOLOGIJA

Avtorja:

Žiga Hudournik, 3. letnik  
Janja Pohorec, 3. letnik

Mentorice:

dr. Erika Glasenčnik  
mag. Anita Povše  
prof. dr. Avrelija Cencič

Velenje, 2010

Raziskovalna naloga je bila opravljena na Gimnaziji Velenje in v laboratorijskem centru na Katedri za biokemijo MF in Katedra za mikrobiologijo, molekularno biologijo, biokemijo in biotehnologijo FKBV, UM.

Mentorice:

dr. Erika Glasenčnik,

mag. Anita Povše,

prof. dr. Avrelija Cencič.

Datum predstavitve: april 2010

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Rn
- KG mikrovalovi / celice / kancerogene / nekancerogene / rast rastlin
- AV **HUDOURNIK, Žiga, POHOREC, Janja**
- SA GLASENČNIK, Erika, ment., POVŠE, Anita, soment., CENCIČ Avrelija soment.
- KZ 3320 Velenje, SLO, Trg Mladosti 3
- ZA Gimnazija Velenje
- LI 2010
- IN **VPLIV MIKROVALOV NA KANCEROGENE IN NEKANCEROGENE  
CELICE TER RAST RASTLIN**
- TD RAZISKOVALNA NALOGA
- OP VII, 28 s., 12 tab., 14 fotograf., 10 ref.
- IJ SL
- JI sl / en
- AI V sodobnem svetu se nenehno pojavlja vprašanje o uporabi mikrovalovne pečice oz. kot jo po domače imenujemo »mikrovalovka«. Uporaba DA ali NE?  
Nekateri pravijo, da je uporaba le-te zelo nevarna, saj naj bi povzročala nemalokatero nevšečnosti v zvezi z zdravjem. Zagovorniki tega mišljenja so strogo proti uporabi le-te. Za pogrevanje ali kuhanje hrane uporabljajo navadno električno pečico ali štedilnik. Med nami pa so tudi ljudje, ki vsakodnevno uporabljajo mikrovalovno pečico. Največkrat za odmrzovanje in pogrevanje hrane.  
Na to temo je bilo narejenih že precej znanstvenih raziskav, vendar še zmeraj ni podatkov, s katerimi bi lahko zagotovo potrdili eno ali drugo mnenje. Ljudje so zato še zmeraj zelo skeptični in negotovi glede uporabe mikrovalovne pečice. Ker prihaja do razhajanja mnenj na to temo tudi v najini družbi, družbi mladostnikov, ki so načeloma zelo dojemljivi za uporabo novih tehnologij, smo združili prijetno s koristnim in izdelali raziskovalno nalogo na to temo.  
Pri teoretičnem delu smo uporabili že prej narejene študije na to temo. Praktični del povezan z laboratorijskim delom s kancerogenimi in nekancerogenimi celicami je bil izveden v Biotehničnem laboratoriju Univerze v Mariboru, poskus s kalitvijo hitro rastočih rastlin pa kar doma.  
Zaključimo lahko, da so nekancerogene celice H4 bolj občutljive na vpliv mikrovalov kot kancerogene Caco-2 in da so rastline, ki so bile zalite z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici hitreje zrasle kot tiste, ki so bile zalite z vodo iz pipe. Rastline, ki so bile zalite z vodo prekuhano na štedilniku, so zrasle višje kot tiste, ki so bile zalite z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Rn
- CX microwaves / cells / carcinogenic / non-carcinogenic / growth of plants
- AU **HUDOURNIK, Žiga, POHOREC, Janja**
- PP GLASENČNIK, Erika, supervisor, POVŠE, Anita, co-supervisor, CENCIČ AVRELIJA, co-supervisor
- PB 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3
- ZA Velenje High School
- PY 2010
- TI **THE EFFECT OF MICROWAVE RADIATION ON CARCINOGENIC AND NON-CARCINOGENIC CELLS AND ON THE GROWTH OF PLANTS**
- DT RESEARCH WORK
- NO VII, 28 p., 12 tab., 14 photos, 10 app.
- LA SL
- AL sl / en
- AB In the modern world we are constantly met with questions regarding the microwave oven or microwave in common. YES or NO? Some say, that the use of the microwave is inherently dangerous and may cause numerous health complications. Needless to say, the microwave critics do not tend to use microwaves. They are using conventional ovens or gas and electric cookers for heating and cooking food instead of using microwave oven. But there are those, who use the microwave oven on a daily basis, most often to defrost food.  
Over the years there have been made various studies concerning for-mentioned subject, but nothing definitive has been proven to confirm either opinion. As a result, some people are still very sceptical and insecure about the use of microwaves. As there is a dispute over mentioned theme even in the authors youthful social circle, the members of which are generally more open to the use of new technologies, the authors decided to investigate the phenomenon and have produced the research paper on the above-mentioned subject.  
The authors used previous research papers regarding mentioned subject in the theoretical phase of the research. The experimental phase of the study regarding cell cultures was conducted in the Laboratory of Biotechnology of the University of Maribor. The germination experiment conducted with various species of fast-growing plants was conducted at the authors home.  
The authors have reached the conclusion that non-carcinogenic H4 cells are more susceptible to affects of microwave radiation than carcinogenic Caco-2 cells. Also the authors conclude that plants watered with boiled water grew at a faster rate than plants watered with ordinary tap-water, but also that the plants watered with water boiled on a gas cooker grew to a greater height than those watered with water boiled in the microwave oven.

## KAZALO

<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....</b>	<b>III</b>
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION.....</b>	<b>IV</b>
<b>KAZALO.....</b>	<b>V</b>
<b>KAZALO SLIK.....</b>	<b>VI</b>
<b>KAZALO TABEL.....</b>	<b>VII</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1 HIPOTEZE.....	1
<b>2 PREGLED OBJAV IN ČLANKOV.....</b>	<b>2</b>
2.1 MIKROVALOVI.....	2
2.1.1 Mednarodni standardi.....	2
2.1.2 Fizikalne lastnosti mikrovalov.....	3
2.1.3 UHF valovi.....	4
Druga uporaba.....	4
2.1.4 SHF valovi.....	4
Druga uporaba.....	4
2.1.5 EHF valovi.....	5
Druga uporaba.....	5
2.2 MIKROVALOVNA PEČICA.....	5
2.2.1 Dielektrično gretje.....	5
2.2.2 Zgodovina mikrovalovnih pečic.....	6
2.3 VPLIV MIKROVALOV NA CELICE.....	6
<b>3 METODE DELA.....</b>	<b>7</b>
3.1 DOLOČANJE IN OCENJEVANJE CITOTOKSIČNOSTI.....	7
3.1.1 Pranje ploščic.....	7
3.1.2 Tripsinizacija celic.....	7
3.1.3 Štetje celic.....	8
3.1.4 Priprava celic.....	10
3.1.5 Barvanje z barvilom kristal vijolično.....	11
3.1.6 Mikrovalovna pečica Whirlpool M541.....	12
3.2 KALITEV IN RAST RASTLIN.....	13
3.2.1 Okolje v katerem so rastline rasle.....	13
3.2.2 Setev semen.....	13
<b>4 REZULTATI.....</b>	<b>14</b>
4.1 REZULTATI LABORATORIJSKEGA DELA.....	14
4.1.1 Postavitev celic.....	14
4.1.2 Program mikrovalovne pečice in temu primerni časovni intervali.....	14
4.2 REZULTATI KALITVE.....	19
4.2.1 Zalivanje in rast rastlin.....	19
<b>5 RAZPRAVA.....</b>	<b>24</b>
<b>6 ZAKLJUČEK.....</b>	<b>26</b>
<b>7 LITERATURA.....</b>	<b>27</b>
<b>8 ZAHVALA.....</b>	<b>28</b>

## KAZALO SLIK

<i>Slika 1:</i> Elektromagnetni spekter.....	3
<i>Slika 2:</i> Štetje celic pod mikroskopom.....	9
<i>Slika 3:</i> Ploščica za celične kulture s 96 vodnjaki.....	10
<i>Slika 4:</i> Mikrovalovna pečica WHIRLPOOL M541.....	12
<i>Slika 5:</i> Ploščica s Caco-2 in H4 celicami.....	14
<i>Slika 6:</i> Caco-2 celice po izpostavljenosti mikrovalovom (nepobarvane).....	16
<i>Slika 7:</i> H4 celice po izpostavljenosti mikrovalovom (nepobarvane).....	17
<i>Slika 8:</i> H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 4x – 3x 400W).....	17
<i>Slika 9:</i> H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 7 – 1x Keep Warm, 4X Defrost).....	18
<i>Slika 10:</i> H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 13 – 2x Keep Warm, 1x Defrost, 1x 400W).....	18
<i>Slika 11:</i> Vse tri skupine rastlin, glede na vodo uporabljeno za zalivanje.....	22
<i>Slika 12:</i> Prva skupina rastlin zalita z navadno vodo iz pipe.....	23
<i>Slika 13:</i> Druga skupina rastlin zalita z vodo prekuhano na štedilniku.....	23
<i>Slika 14:</i> Tretja skupina rastlin zalita z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici.....	23

## KAZALO TABEL

<i>Tabela 1:</i> Program mikrovalovne pečice z ustreznim časovnim intervalom. ....	14
<i>Tabela 2:</i> Tretiranje vzorca s programom Keep Warm (45s)/90W. ....	15
<i>Tabela 3:</i> Tretiranje vzorca s programom Defrost (35s)/160W. ....	15
<i>Tabela 4:</i> Tretiranje vzorca s programom 400W (15s)/400W. ....	15
<i>Tabela 5:</i> Različne kombinacije programov z ustreznimi časovnimi intervali. ....	16
<i>Tabela 6:</i> Zaporedje kalitve rastlin. ....	19
<i>Tabela 7:</i> Število poganjkov ob kalitvi. ....	19
<i>Tabela 8:</i> Velikosti poganjkov rastlin (cm) v posamezni skupini glede na medij za zalivanje. .....	20
<i>Tabela 9:</i> Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje. ....	20
<i>Tabela 10:</i> Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje. ....	21
<i>Tabela 11:</i> Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje. ....	21
<i>Tabela 12:</i> Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje. ....	22

# 1 UVOD

Današnji svet se razvija izredno hitro. Vsak dan smo priča novim tehnološkim in industrijskim izumom, ki naj bi nam lajšali življenje. Toda ali nam ti izumiboljšajo tudi kakovost življenja? Je vpliv teh izumov lahko tudi škodljiv?

Iznajdba mikrovalovne pečice je povzročila pravo evforijo. Ljudje so mikrovalovne pečice pričeli množično kupovati in postale so skoraj nujen del kuhinjske opreme. Kmalu je seveda prišlo tudi do različnih razprav okoli tega, ali so mikrovalovi, na katerih temelji delovanje mikrovalovne pečice, škodljivi ali ne.

Na to temo je bilo narejenih že kar nekaj znanstvenih raziskav, toda ljudje so še zmeraj skeptični. Poznamo veliko ljudi, ki so strogo proti uporabi mikrovalovne pečice. Poznamo pa tudi takšne, ki si življenja brez njene uporabe enostavno ne morejo predstavljati. Življenjski tempo sodobnega časa je danes izredno hiter. Marsikdo nima toliko časa (oz. si ga ne vzame), da bi skuhal kosilo doma in raje poseže po zamrznjenih izdelkih, ki so po deset minutni obdelavi v mikrovalovni pečici pripravljani. Veliko družin prinaša kosila iz raznih ustanov (vrtci, šole, dijaški domovi, bolnišnice, javne prehrabene ustanove ...) in doma ga le pogrejejo.

Postavlja se vprašanje ali hrana (hranljive snovi) absorbira mikrovalove, se pod vplivom njihovega delovanja spremeni in ali zaužitje hrane obdelane z mikrovalovi škoduje celicam v telesu. Zaradi teh polemik smo se odločili, da bolj podrobno preučimo zadevo. Združili smo prijetno s koristnim in pred vami je raziskovalna naloga z naslovom Vpliv mikrovalov na kancerogene in nekancerogene celice in na rast rastlin.

Pri poskusih, ki so bili izvedeni na temo mikrovalov, smo delovanju mikrovalov izpostavili kancerogene Caco-2 in nekancerogene H4 celice. Ti vrsti celic predstavljata ene izmed tistih, ki se najpogosteje uporabljajo pri delu v biotehničnem laboratoriju. V domačem okolju pa smo spremljali rast rastlin, ki smo jih zalivali z vodo obdelano z mikrovalovi.

## 1.1 HIPOTEZE

1. Dolgotrajna izpostavljenost mikrovalovom škoduje celicam.
2. Mikrovalovi, poleg posrednega delovanja s segrevanjem, tudi neposredno škodujejo celicam.
3. Kancerogene celice reagirajo drugače na vpliv mikrovalov kot nekancerogene.
4. Rastline zalite z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici, se ne bodo bistveno razlikovale od zalitih z navadno vodo iz pipe in z vodo prekuhano na štedilniku.



## 2 PREGLED OBJAV IN ČLANKOV

### 2.1 Mikrovalovi

Mikrovalovi so visokofrekvenčni radijski valovi in so, tako kot vidna svetloba, del elektromagnetnega spektra. Mikrovalovi se primarno uporabljajo v napravah kot so televizijski oddajnik, radar – za navigacijsko pomoč v zraku in na morju ter telekomunikacije, vključno z mobilnimi telefoni. Uporabljajo se tudi v industriji za obdelavo materialov, v medicini za diatermično zdravljenje in v kuhinjah za kuhanje in gretje hrane.

Mikrovalovi se na svoji poti podobno kot svetlobni žarki od snovi lahko odbijejo, ali se skozi prenesajo, ali pa jih snovi absorbirajo. Kovinske snovi popolnoma odbijajo mikrovalove, medtem ko so nekovinske snovi, kot je na primer steklo in nekatere plastične mase, večinoma transparentne za mikrovalove. Za kuhanje ali pečenje v mikrovalovki je potrebno upoštevati lastnosti materialov iz katerih so izdelane posode, ki se bodo uporabljale v mikrovalovki.

Snovi, ki vsebujejo vodo, na primer hrana, tekočine ali tkiva, z lahkoto absorbirajo mikrovalovno energijo, ki se nato spremeni v toploto.

#### 2.1.1 Mednarodni standardi

Številne države, kakor tudi Mednarodna elektrotehnična komisija (International Electrotechnical Commission – IEC), Mednarodni odbor za elektromagnetno varnost (International Committee on Electromagnetic Safety – ICES), Inštitut inženirjev za elektrotehniko in elektroniko (Institute of Electrical and Electronic Engineers – IEEE) in Evropski odbor za elektrotehnično standardizacijo (European Committee for Electrotechnical Standardization – CENELEC), so določili standard za zgornjo dopustno mejo sevanja proizvoda in sicer  $50 \text{ W/m}^2$  na katerikoli točki oddaljeni 5 cm od zunanje površine pečice. V praksi, so sevanja sodobnih mikrovalovnih pečic v gospodinjstvih znatno pod vrednostjo mednarodnega standarda in imajo signalne naprave, ki preprečujejo ljudem izpostavljenost mikrovalovom, ko je pečica vključena. Še več, izpostavljenost zelo močno upada z oddaljenostjo; npr. oseba oddaljena 50 cm od pečice sprejme približno eno stotinko mikrovalov osebe, ki je oddaljena le 5 cm od pečice (Mikrovalovna pečica – varnost živil, 2010).

Mednarodna komisija za zaščito pred ne-ionizirajočim sevanjem (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection – ICNIRP) je izdala smernice za mejne vrednosti izpostavljenosti za celoten del elektromagnetnega spektra. Smernice izpostavljenosti za mikrovalove so postavljene na stopnjo, ki prepreči vsakršne poznane zdravju škodljive učinke. Meje izpostavljenosti za delavce in ljudi na sploh so postavljene precej nižje pod vrednosti, pri katerih se lahko pojavi kakršnokoli tveganje zaradi izpostavljenosti mikrovalovom. Omenjena mejna vrednost sevanja mikrovalovnih pečic je določena na osnovi vrednosti, ki jih priporoča ICNIRP (Mikrovalovna pečica – varnost živil, 2010).

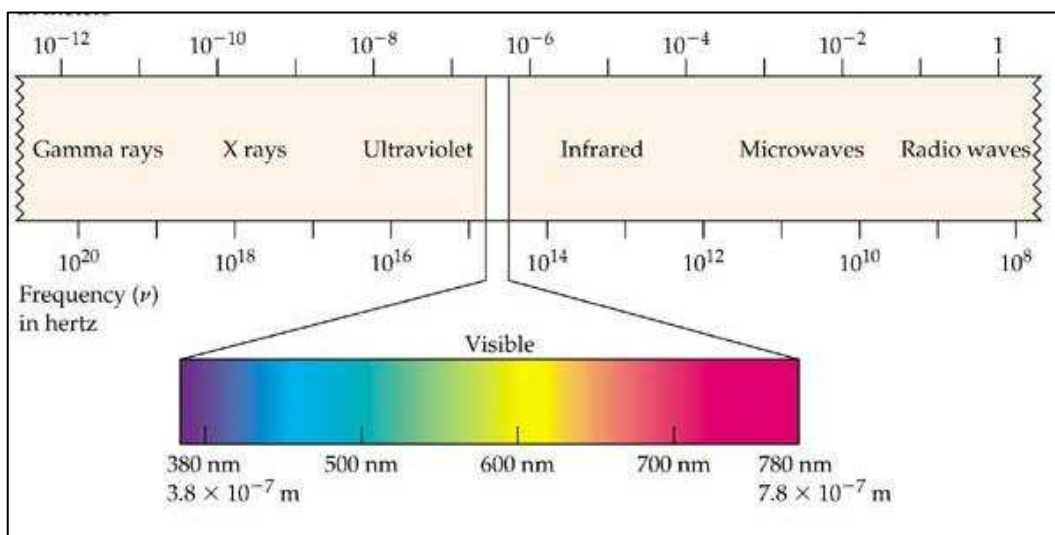
### 2.1.2 Fizikalne lastnosti mikrovalov

Elektromagnetno valovanje (EM valovanje) je pojav, ki prevzame obliko samonosnih valov v vakuumu ali mediju/snovi. Sestavljata ga magnetno in električno polje. Ti dve komponenti nihata z enako frekvenco, sta druga na drugo pravokotni in sta pravokotni glede na vektor smeri sevanja. Polji imata gibalno količino, vsako polje polovico. To gibalno količino lahko EM polje odda snovi.

Elektromagnetni spekter ali EM spekter je množina vseh možnih frekvenc elektromagnetnega valovanja. EM spekter obsega vsa frekvenčna območja pod frekvenco radio valov vse do gama sevanja. Obsega valovne dolžine od nekaj tisoč kilometrov do delčka premera atoma. Limit najdaljše valovne dolžine je pravzaprav velikost vesolja, za najkrajšo valovno dolžino pa se predvideva, da ima vrednost nekje v bližini Planckove osnovne enote, ki znaša  $1.616252(81) \times 10^{-35}$  m. Teoretično je elektromagnetni spekter neskončen in neomejen.

Po valovni dolžini elektromagnetni spekter delimo na več delov:

- radio valovi,
- mikrovalovi,
- infrardeče valovanje (infrardeča - IR svetloba),
- vidni del EM spektra (vidna svetloba),
- ultravijolično valovanje (ultravijolična - UV svetloba),
- rentgenska svetloba (žarki X),
- gama žarki.



Slika 1: Elektromagnetni spekter.

Za uporabo v mikrovalovnih pečicah se uporabljajo valovanja mikrovalovnega spektra.

Mikrovalovi so tip elektromagnetnega valovanja z valovno dolžino od cca. enega metra do cca. enega milimetra, oziroma valovanja s frekvenco od 300 MHz do (0,3 GHz) do 300 GHz. Pod definicijo mikrovalov spadajo tako valovi z ultra visoko frekvenco (ang: Ultra High Frequency – UHF), valovi z super visoko frekvenco (ang: Super High Frequency – SHF) in valovi z ekstremno visoko frekvenco (ang: Extremely High Frequency – EHF) (Microwave, Wikipedia, 2010).

### ***2.1.3 UHF valovi***

UHF je označba za elektromagnetne valove s frekvenco od 300 MHz do 3 GHz. Drugo ime za elektromagnetno valovanje znotraj zgoraj opisane frekvence je decimetrski pas, saj dolžine valov znašajo od 1 do 10 dm (100-1000 mm).

#### ***Druga uporaba***

UHF signali imajo dokaj omejen doseg. Načeloma lahko potujejo razdaljo ekvivalentno človeškemu polju vida. Na doseg lahko vpliva velika množina različnih dejavnikov kot so atmosferska vlaga, solarni veter, fizične prepreke kot so stavbe in geografski relief, čas dneva, ipd. Za podaljševanje dosega UHF signala se uporabljajo naprave znane kot repeaterji, ki signal sprejemajo, ojačajo in oddajajo dalje.

UHF (in VHF) je najbolj pogosto uporabljeno frekvenčno področje za oddajanje televizijskih signalov. Moderni mobilni telefoni prav tako sprejemajo in oddajajo v UHF spektru. UHF spekter je v splošni uporabi pri dvosmerni radijski komunikaciji („walkie-talkie“), prav tako uporabljajo UHF frekvenco radio-operaterji amaterji. UHF spekter se v zadnjih letih uporablja tudi za digitalni prenos zvoka (ang: Digital Audio Broadcasting). Na frekvenci 2.45 GHz operirata podatkovna nosilca Wi-Fi - nosilec za brezžični internet in Bluetooth - nosilec za brezžični prenos podatkov, pogosto v uporabi pri mobilnih telefonih in prenosnih računalnikih. Sistem globalnega pozicioniranja (ang: Global Positioning System – GPS) prav tako uporablja UHF frekvenco. Tudi naprave kot so razni daljinski upravljalniki in digitalni ključi npr. za odklepanje avtomobilov delujejo na raznih frekvencah UHF spektra (Microwave, Wikipedia, 2010).

### ***2.1.4 SHF valovi***

Z SHF oznako označujemo elektromagnetno valovanje s frekvenco med 3 GHz in 30 GHz. Drugo poimenovanje za to frekvenčno območje je centimetrski pas, valovna dolžina znaša 1-10 cm (10-100 mm).

#### ***Druga uporaba***

Med drugim se SHF valovi uporabljajo v telekomunikaciji, največkrat za povezavo satelitov in pa za zemeljske visoko hitrostne podatkovne povezave (ang: Backhuls). Prav tako SHF frekvenco uporablja večina današnjih radarskih sistemov. V SHF frekvenčnem območju bo deloval tudi novi standard prenosa podatkov in komunikacije med računalniškimi napravami znan kot WUSB (Wireless Universal Serial Bus), ki naj bi opravljal enako nalogo kot danes že močno razširjen USB (Universal Serial Bus) standard (Microwave, Wikipedia, 2010).

### **2.1.5 EHF valovi**

EHF valovno območje je obsega najvišje frekvence, ki jih po dogovoru še štejemo k t.i. radijskim valovom in obsega frekvenčno območje od 30 GHz do 300 GHz. Valovanje z frekvenco višjo od 300 GHz štejemo pod nizko infrardečo svetlobo znano tudi kot teraherčno sevanje (ang: Terahertz Radiation). EHF pas obsega valovne dolžine 1 mm do 10 mm, od tod ime milimetrski pas (ang: Milimetre Band).

#### ***Druga uporaba***

EHF valovi so zaradi visoke frekvence in kratke valovne dolžine dokaj neuporabni za transfer podatkov na večje razdalje. Veliko oviro EHF sevanju pomeni že vlaga v ozračju in same molekule plinov, ki sestavljajo zrak. Kljub temu pa ima EHF prenosna tehnologija velik potencial, saj bi bilo lahko možno preko EHF valov prenesti zelo velike količine podatkov v primerjavi s standardnimi prenosi, ki bazirajo na UHF frekvenci (Microwave, Wikipedia, 2010).

## **2.2 Mikrovalovna pečica**

Mikrovalovna pečica ali mikrovalovka je kuhinjski pripomoček, ki za kuhanje in gretje hrane izkorišča proces dielektričnega gretja.

Kot že ime navaja, mikrovalovna pečica uporablja mikrovalovno energijo. Vir mikrovalovne elektromagnetne energije v mikrovalovni pečici je magnetron, ki združuje magnetno polje z curkom elektronov v vakuumski cevi in tako proizvaja elektromagnetno sevanje.

Proces dielektričnega gretja je dokaj homogen, kar posledično pomeni enakomerno in predvsem globinsko gretje hrane, le-to pa je posledica večje penetracijske moči mikrovalov v primerjavi s konvekcijskim gretjem (navadna pečica) in je značilen samo za ta način gretja (Microwave Oven, Wikipedia, 2010).

### **2.2.1 Dielektrično gretje**

Znano tudi kot elektronsko gretje, gretje z radijskimi valovi (RF gretje), visoko-frekvenčno gretje. Dielektrično gretje je proces, pri katerem mikrovalovno elektromagnetno sevanje greje dielektrično snov. Sprememba v temperaturi je posledica rotacije polarnih molekul.

Molekularna rotacija poteka v snoveh, ki vsebujejo polarne molekule. Polarne molekule se zaradi svojih lastnosti uredijo v elektromagnetnem polju. Ko polje spreminja polariteto, se molekule ponovno razporedijo. Molekule rotirajo, vlečejo, potiskajo in trkajo v sosednje molekule ter tako razdelijo energijo sosednjim molekulam in atomom v snovi. Ker je temperatura snovi povprečje kinetične energije (energije gibanja) atomov in molekul v dani snovi, agitacija atomov in molekul na ta način po definiciji viša temperaturo snovi.

Molekularna rotacija je torej način pretvorbe energije elektromagnetnega sevanja v toplotno energijo neke snovi.

Molekularna rotacija je najučinkovitejša v snoveh, sestavljenih izključno iz polarnih molekul (Dielectric heating, Wikipedia, 2010).

### **2.2.2 Zgodovina mikrovalovnih pečic**

Grelni vpliv mikrovalov in s tem molekularna rotacija je bila odkrita po naključju. 1945. leta je Percy Spencer, ameriški inženir, ki se je ukvarjal z radarsko tehnologijo, opazil, da je ladijski radar, na katerem je izvajal servis, stopil čokolado, ki jo je imel v roki. Leta 1948 je Spencerjevo podjetje izdelalo prvo mikrovalovno pečico na svetu. V višino je merila 1,8 m in tehtala 340kg. Poraba mikrovalovne pečice, ki se je imenovala Radarange je znašala cca. 3kW, kar je več kot trikrat toliko, kot porabi povprečna mikrovalovna pečica danes. Del mikrovalovne pečice je bilo tudi vodno hlajenje.

V 1950 letih so se mikrovalovne pečice počasi uveljavljale na trgu.

Velik napredek v tehnologiji mikrovalovnih pečic je bil dosežen v 1960 letih, ko je Litton Industries, veliko tehnološko podjetje, kupilo bankrotirano podjetje, ki je izdelovalo magnetrone in mikrovalovne pečice. Razvili so novo obliko mikrovalovnih pečic, ki je v uporabi še danes in posodobili dizajn magnetrona.

V 1970 letih je vse več podjetij začelo proizvajati mikrovalovne pečice. Večinoma so bila to podjetja, ki so se ukvarjala z radarsko tehnologijo in so imela izkušnje z magnetronom. V tem času se je uveljavila tudi terminologija „mikrovalovna pečica“ (ang: Microwave Oven). Pred tem je namreč bil v uporabi izraz elektronska pečica (ang: Electronic Oven). Konec 1970 let je padcu cen mikrovalovnih pečic pripomogla še hitro razvijajoča se računalniška industrija, ki je omogočila cenejšo izdelavo mikroprocesorjev, kar je privedlo do uvedbe elektronskih kontrolnih enot v mikrovalovnih pečicah in posledično do lažje in enostavnejše uporabe le-teh (Microwave oven, Wikipedia, 2010).

Do leta 1986 je bilo 25% ameriških gospodinjstev opremljenih z mikrovalovnimi pečicami, leta 1971 se je lahko s tem pohvalilo je 1% gospodinjstev. Trenutne ocene kažejo, da več kot 90% ameriških gospodinjstev danes premore vsaj eno mikrovalovno pečico (Liegey, 2001).

### **2.3 Vpliv mikrovalov na celice**

Vera Garaj-Vrhovac in sod. (1990) ugotavljajo, da mikrovalovno sevanje lahko povzroča spremembe v sintezi in strukturi DNK molekul, vendar brez upoštevanja vpliva temperature. Trditev spodbijajo navedbe v Woo in sod. (2000) ki ugotavljajo da mikrovalovi ne vplivajo na celični dedni material in/ali na gostoto celične stene. Kweea in sod. (1998) ugotavljajo, da mikrovalovno sevanje lahko vpliva na sposobnost celic za mejozo. V *in vivo* raziskavi H. K. Yang in sod. (2005) ugotavljajo, da vpliv mikrovalovnega sevanja na laboratorijske hrčke predstavlja povečano telesno temperaturo za 3,0-3,5°C. Stanje se normalizira v roku 60 min.

### **3 METODE DELA**

#### **3.1 Določanje in ocenjevanje citotoksičnosti**

Rezultate za kancerogene in nekancerogene celice sva pridobila v biotehničnem laboratoriju Medicinske fakultete v Mariboru, ki deluje v sklopu Univerze Maribor.

Laboratorijsko delo je bilo opravljeno po novejši metodi s kancerogenimi Caco-2 in nekancerogenimi H4 celicami, ki se uporabljajo pri metodi za določanje in ocenjevanje citotoksičnosti (Agelis in sod. 2007).

##### **3.1.1 *Pranje ploščic***

MATERIAL:

- Ploščice s 96 vodnjaki,
- Destilirana voda,
- NaOH,
- Detergent za pomivanje posode,
- 100% etanol,
- UV – svetloba.

POTEK PRANJA:

1. Ploščice speremo pod tekočo (destilirano) vodo;
2. Pripravimo kopel z NaOH in detergentom za pomivanje posode;
3. Ploščice previdno položimo v vodo tako, da so vodnjaki obrnjeni navzgor. Pustimo jih cca. 2 uri. Obvezna je uporaba rokavic, saj gre za jedko tekočino;
4. Ponovno jih speremo pod tekočo destilirano vodo;
5. Steriliziramo jih s 100% etanolom;
6. Pustimo jih izpostavljeni UV-svetlobi, da ta uniči še zadnje mikrobe.

##### **3.1.2 *Tripsinizacija celic***

Za izvajanje poskusa je potrebno imeti ustrezno kulturo celic oz. dovolj veliko število celic.

V laboratoriju pogosto izvajajo poskuse, kjer je potrebna večja količina kulture. Za razmnoževanje celic poznamo poseben postopek, ki ga imenujemo tripsinizacija. Je eden izmed osnovnih postopkov pri pripravi poskusa. Za poskus smo potrebovali ogromno celic, ki smo jih izpostavili mikrovalovnemu žarčenju.

MATERIAL:

- Medij (hranljive snovi za celice),
- Serum (antibiotik v primeru okužbe) – FBS,

- Posoda z vodo, kjer je stalna temperatura med 37°C in 38°C,
- Tripsin,
- Inkubator,
- Pipeta,
- Centrifugirke,
- Centrifugirni stroj.

#### POSTOPEK TRIPSINIZIRANJA CACO-2 IN H4 CELIC:

1. Segrejemo medij (hranljive snovi za celice) in serum (antibiotik v primeru okužbe) na cca. 37°C;
2. Odlijemo star medij in s tripsinom speremo še preostale mrtve celice ter jih prav tako odlijemo. Žive so pritrjene na podlago, zato teh ne moremo odstraniti;
3. Živim celicam dodamo 1mL tripsina in jih damo za 5-15 minut v inkubator, da se odlepijo od podlage;
4. Po določenem pretečenem času jih pretresemo in preverimo, če so se celice že odlepile. Preverimo še pod mikroskopom;
5. Celice pipetiramo s pipeto v centrifugirke, centrifugiramo 5 min na 800 obratih.
6. Celice se po obdelavi v centrifugirnem stroju držijo skupaj, zato pipetiranje še enkrat ponovimo;
7. Od celote vzamemo 1/5 celic in jih pipetiramo v drugo centrifugirko (lahko 10 ali 15mL). To lahko naredimo največ 4-krat; zmeraj pustimo 1/5 vzorca;
8. V vsako centrifugirko dodamo še 5mL seruma oz. 2mL v primeru uporabe naslednji dan;
9. Do ustreznega volumna v centrifugirkah, prilijemo samo še ustrezno količino medija;
10. Shranimo jih v inkubator in rahlo odvijemo pokrov za lažji prehod dušika.

#### **3.1.3 Štetje celic**

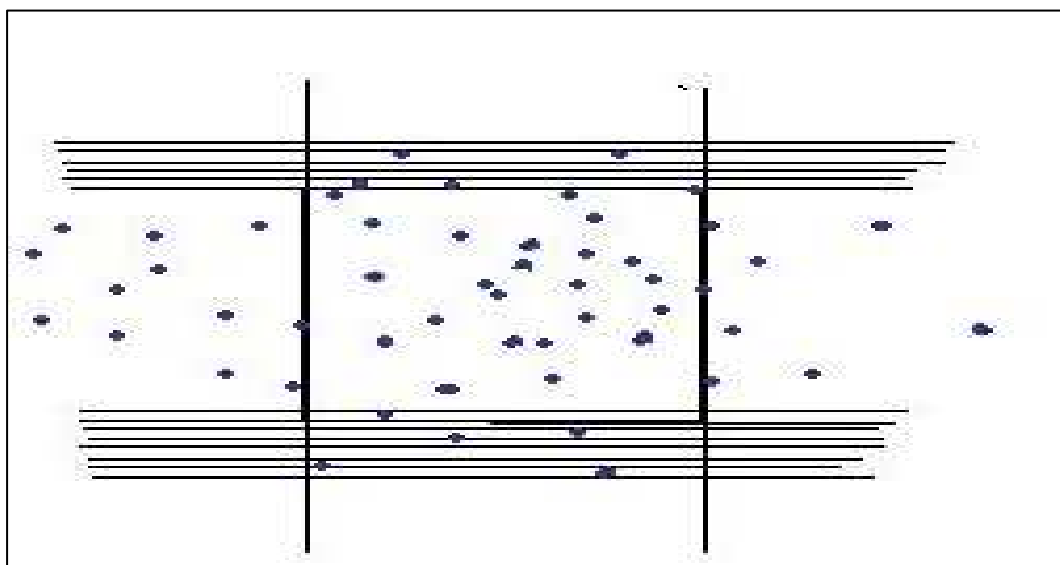
Tripsinizirane celice, preštujemo po predpisanem postopku za štetje celic.

#### MATERIAL:

- Modrilo,
- 100μL celic,
- Ploščica za štetje celic,
- Krovno stekelce,
- Mikroskop Nikon DIAPHOT 300.

POSTOPEK ŠTETJA CACO-2 IN H4 CELIC:

1. Vzamemo modrilo;
2. Dodamo mu 100 $\mu$ L celic;
3. Na ploščico položimo krovno stekelce, tako da rahlo navlažimo s prstom zunanji reži;
4. V notranjo mrežo pipetiramo cca. 40 $\mu$ L celic v modrilu;
5. Damo jih pod mikroskop (40x povečava), toda ne prižgemo luči zaradi boljše vidnosti;
6. Preštejemo celice v kvadratu in na dveh robovih tega kvadrata, da dobimo povprečje;
7. Ponavadi se preštejejo celice v 25 kvadratih; lahko pa samo v 10.



Slika 2: Štetje celic pod mikroskopom.

8. Sledi račun po formuli:

število celic  $\times 10^6$

število vodnjakov

a) Caco-2

$$(45 \times 10^6) : 10 = 4,5 \times 10^6 \text{mL}$$

b) H4

$$(66 \times 10^6) : 10 = 6,6 \times 10^6 \text{mL}$$



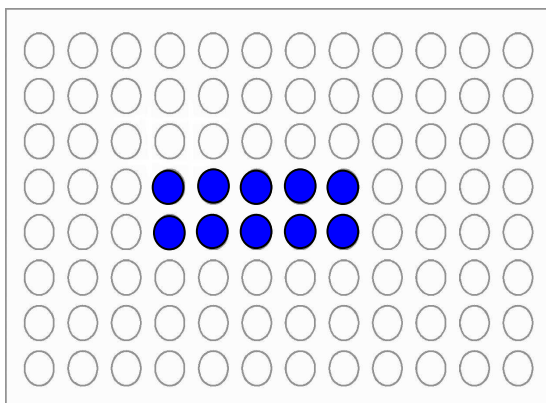
### 3.1.4 Priprava celic

Po štetju celic, in če je le-teh dovolj, lahko nastavimo poskus. Za pripravo poskusa smo pripravili celice za 10 ploščic s 96 vodnjaki.

#### MATERIAL:

- Ploščice s 96 vodnjaki,
- 80.000 Caco-2,
- 130.000 H4,
- serum - FBS.

#### POSTOPEK PRIPRAVE CELIC:



Slika 3: Ploščica za celične kulture s 96 vodnjaki.

1. V vsako ploščo vstavimo 5 vodnjakov vsake vrste celic (Caco-2 in H4);
2. Vsak vodnjak ima 100 $\mu$ L volumna (celice + 5% FBS – serum);
3. Za poskus smo uporabili 80.000 Caco-2 in 130.000 H4 celic.
4. Sledi račun po formuli:

$$\text{a) } C_{\text{Caco-2}} = 80.000 : 0,1\text{mL} = \underline{1,3 \times 10^6}$$

$$\text{b) } C_{\text{H4}} = 130.000 : 0,1\text{mL} = \underline{0,8 \times 10^6}$$

5. Sledil še naslednji izračun:

Volumen je 5,5mL.

a) Caco-2

$$5,5 \times 0,8 \times 10^6 \text{mL} = 4,5 \times 10^6 \text{mL} \times ?$$

Potrebujemo 0,97mL prešteti celic, 4,24mL medija in 0,275mL seruma.

b) H4

$$5,5 \times 1,3 \times 10^6 \text{mL} = 6,6 \times 10^6 \text{mL} \times ?$$

Potrebujemo 1,1mL prešteti celic, 4,14mL medija in 0,275mL seruma.

### **3.1.5 Barvanje z barvilom kristal vijolično**

Ploščice naj stojijo 24 ur, nato sledi barvanje s kristal vijoličnim barvilom. Barvilo obarva samo žive celice.

#### **MATERIAL:**

- Celice Caco-2 in H4,
- 0,1% raztopina barvila Kristal vijolično,
- Inkubator,
- Destilirana voda,
- Papirnate brisače,
- 10% raztopina očetne kisline,
- Mešalnik,
- 20% raztopina etanola.

#### **POTEK DELA Z BARVILOM KRISTAL VIJOLIČNO:**

1. Odlijemo medij s ploščice;
2. Dodamo 100mL 0,1% raztopine barvila kristal vijolično v vodnjake s celičnimi kulturami;
3. Inkubiramo 2 minuti pri sobni temperaturi in izperemo z destilirano vodo;
4. Pustimo sušiti čez noč na papirnatih brisačah;
5. Dodamo 100mL 10% raztopine očetne kisline v vsak vodnjak;
6. Položimo ploščico na mešalnik za eno uro in pustimo, da se dobro premeša;

## 7. Merimo absorbcijo pri 595nm.

### PRIPRAVA RAZTOPINE BARVILA KRISTAL VIJOLIČNO:

1. Barvilo kristal vijolično v praškasti obliki raztopimo v 20% raztopini etanola do 1% raztopine;
2. Za pripravo delavne raztopine izvedemo 10-kratno redčenje z vodo;
3. Končna, delovna raztopina je 0,1% barvila kristal vijolično in 2% etanola.

### **3.1.6 Mikrovalovna pečica Whirlpool M541**

Pri poskusu smo uporabljali mikrovalovno pečico Whirlpool M541, ki je bila v laboratoriju Univerze v Mariboru. Maksimalna moč, ki jo lahko doseže, je 750W. V poskusu, ki sva si ga izbrala sva se odločila za tri različne programe. Vsak od teh programov ima svojo moč. Pri programu Keep Warm je to 90W, pri programu Defrost 160W in pri tretjem 400W. Moč pri poskusu je tako iz programa v program naraščala. Prostornina mikrovalovne pečice je 196 x 292 x 295mm.

### IZBIRA USTREZNEGA PROGRAMA MIKROVALOVNE PEČICE IN TEMU PRIMERNI ČASOVNI INTERVALI

Za poskus je bila uporabljena mikrovalovna pečica WHIRLPOOL M541.

1. Najbolj primerno postavitev celic v ploščicah za že pripravljeno kulturo določimo z vodo;
2. Določimo program na mikrovalovni pečici in temu primeren časovni interval.



Slika 4: Mikrovalovna pečica WHIRLPOOL M541.

## **3.2 Kalitev in rast rastlin**

Poskuse, ki bi omogočili preverjanje in spremljanje delovanja mikrovalovi na določen organizem, je mogoče pripraviti tudi doma.

Pri poskusu, ki smo ga izvedli doma, smo posejali semena hitro kalečih rastlin.

Pri tem so bila uporabljena semena leče, kreše in semena rastline X.

### **3.2.1 Okolje v katerem so rastline rasle**

Rastline so se ves čas poskusa nahajale v sobi z velikim oknom, da bi bila zagotovljena zadostna izpostavljenost soncu.

Poskus je bil izveden v mesecu novembru.

Količina vode ob zalivanju: 25mL/lonček.

Temperatura v času izpostavitve: nihanje med 23,5°C in 25°C.

### **3.2.2 Setev semen**

MATERIAL:

- Kvalitetna zemlja za rože – Compo Sana, tip II – za večjo potrebo po hranilih,
- Plastični lončki za sadike,
- Kalčki kreše, leče, neznane hitro kaleče rastline X,
- Voda:
  - navadna voda iz pipe,
  - prekuhana na plinskem štedilniku,
  - prekuhana v mikrovalovni pečici (SHARP – Double Grill R – 771); moč 900W.

Prekuhana voda je bila pred uporabo ohlajena in shranjena v 1,5 litrske plastenke.

POSTOPEK SEJANJA SEMEN:

1. Vsako od teh rastlin smo posadili v 3 lončke po 10 semen in jih razvrstili na 3 ločene podstavke;
2. Tri lončke smo zalivali z navadno vodo iz pipe;
3. Tri lončke smo zalivali z vodo prekuhana na štedilniku;
4. Tri lončke smo zalivali z vodo prekuhana v mikrovalovni pečici. Prekuhana vodo smo pred zalivanjem ohladili. Za vsako zalivanje smo porabili 25mL lonček;
5. Rastline smo vzgajali dokler niso pognale prvih cvetov/plodov.

## 4 REZULTATI

### 4.1 Rezultati laboratorijskega dela

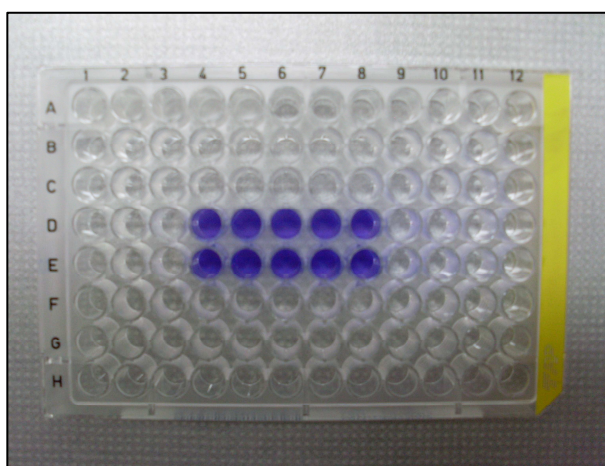
#### 4.1.1 Postavitev celic

S celicami so bili napolnjeni vodnjaki na sredini ploščice (D4 – D8 in E4 - E8) (gl. sl. 5).

Sprva je poskus potekal z vodo, da ne bi uničevala celic po nepotrebnem. Ta postavitev je najbolj nevtralna in ni velikih razlik med celicami pri pridobivanju na temperaturi.

Ker je prišlo do velikih razlik v temperaturi, smo po prvem poskusu napolnila vodnjake s celicami in vodnjake okrog njih z destilirano vodo. Ti vodnjaki so ublažili močno segrevanje stranskih vodnjakov, v katerih so se nahajale celice. Celotna površina napoljenih vodnjakov je tako zajemala vodnjake od C3 – C10, D3 – D10, E3 – E10 in F3 – F10.

Uporabljeno je bilo 100 $\mu$ L kulture, za vodnjake okrog kulture pa 200 $\mu$ L destilirane vode.



Slika 5: Ploščica s Caco-2 in H4 celicami.

#### 4.1.2 Program mikrovalovne pečice in temu primerni časovni intervali

Po izračunih za ugotavljanje potrebne količine celic za 15 ploščic, je bilo potrebno izbrati še program nastavitve v mikrovalovni pečici, določiti je bilo potrebno tudi čas, kako dolgo so lahko celice izpostavljene mikrovalovom, da ne bi temperatura pobila celice. Najprimernejši časovni intervali so navedeni v tabeli 1 na strani 14.

Tabela 1: Program mikrovalovne pečice z ustreznim časovnim intervalom.

PROGRAM	MOČ	ČASOVNI INTERVAL
»Keep Warm«	90W	45 s
»Defrost«	160W	35 s
400W	400W	15 s

Temperatura celic ni smela preseči 39°C, ker bi v nasprotnem primeru celice ne preživele.

Za vsak program je bilo uporabljenih po 5 ploščic. Med delovanjem programa smo preventivno merili temperaturo v prvem vodnjaku (D4), sredinskem (D6) in zadnjem (D9). Za kontrolo so bile ploščice samo z vodo.

Tabela 2: Tretiranje vzorca s programom Keep Warm (45s)/90W.

VZOREC	D4	odstopanje	D6	odstopanje	D9	odstopanje
voda	33,1	-0,37	34,1	-0,8	33,1	0,03
1	33,4	-0,07	37,3	2,4	33,3	0,17
2	33,3	-0,17	37,1	2,2	33,4	0,27
3	39,2	5,73	38,1	3,2	36,6	3,47
4	28,7	-4,77	29,1	-5,8	28,9	-4,23
5	33,1	-0,37	33,7	-1,2	33,5	0,37
POVPREČJE	33,47		34,9		33,13	
DEVIACIJA	±1,91		±2,6		±1,42	

Tabela 3: Tretiranje vzorca s programom Defrost (35s)/160W.

VZOREC	D4	odstopanje	D6	odstopanje	D9	odstopanje
voda	35,1	1,48	33,4	0,07	31,1	-1,48
1	34,0	0,38	33,4	0,07	33,5	0,92
2	31,6	-2,02	31,7	-1,63	30,5	-2,08
3	32,9	-0,72	34,1	0,77	33,6	1,02
4	34,5	0,88	34,9	1,57	35,7	3,12
5	33,6	0,02	32,5	-0,83	31,1	-1,48
POVPREČJE	33,62		33,3		32,58	
DEVIACIJA	±0,92		±0,82		±1,68	

Tabela 4: Tretiranje vzorca s programom 400W (15s)/400W.

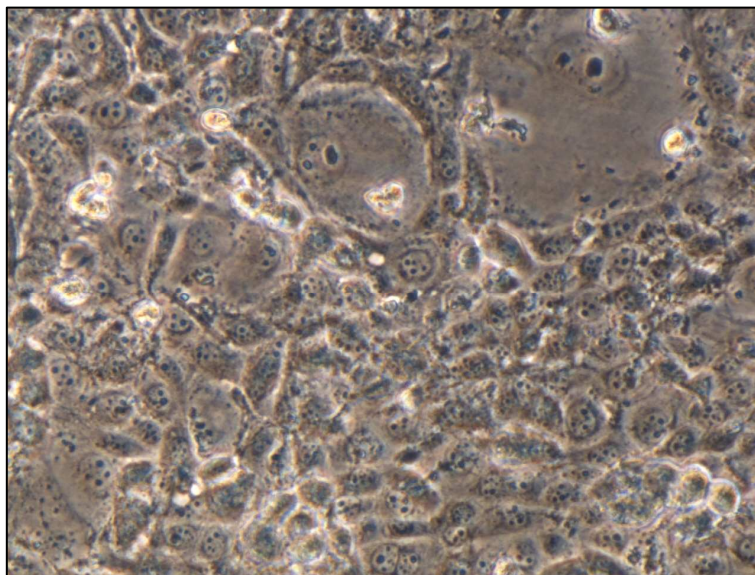
VZOREC	D4	odstopanje	D6	odstopanje	D9	odstopanje
voda	34,9	1,72	36,6	2,68	35,1	2,02
1	29,2	-3,98	30,7	-3,22	28,9	-4,18
2	31,7	-1,48	33,7	-0,22	31,2	-1,88
3	37,6	4,42	35,2	1,28	35,4	2,32
4	32,5	-0,68	35,2	1,28	35,4	2,32
5	33,2	0,02	32,1	-1,82	32,5	-0,58
POVPREČJE	33,18		33,92		33,08	
DEVIACIJA	±2,05		±1,75		±2,22	

Tabela 5: Različne kombinacije programov z ustreznimi časovnimi intervali.

N	Keep warm	Defrost	400W
1	2x	-	4x
2	-	-	5x
3	-	2x	3x
4	-	-	3x
5	2x	-	1x
6	2x	-	3x
7	1x	4x	-
8	1x	2x	2x
9	1x	2x	1x
10	1x	3x	-
11	1x	2x	-
12	2	-	1x
13	2x	1x	1x
14	2x	2x	1x
15*	-	-	-

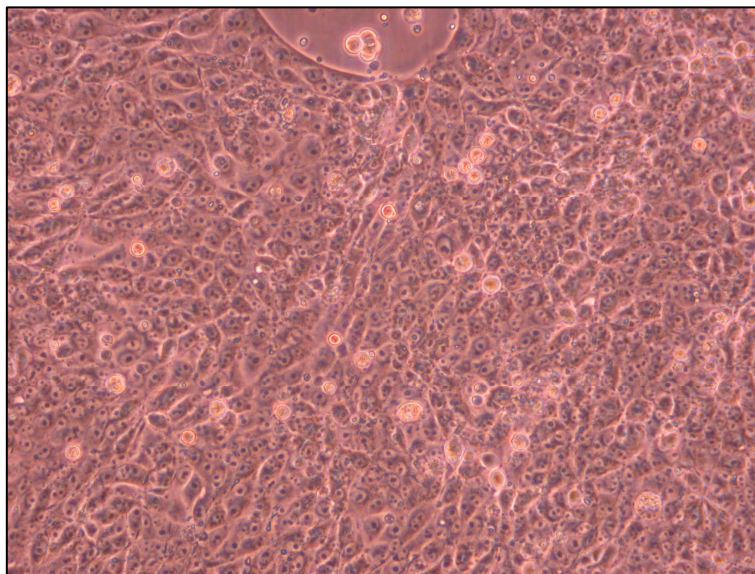
Legenda: \*Ploščica je bila zavržena zaradi vpliva previsoke temperature.

Po poskusu so bile celice fotografirane, sledilo je 24h mirovanja, v tem času se celice še lahko odzovejo na mikrovalove.



Slika 6: Caco-2 celice po izpostavljenosti mikrovalovom (nepobarvane).

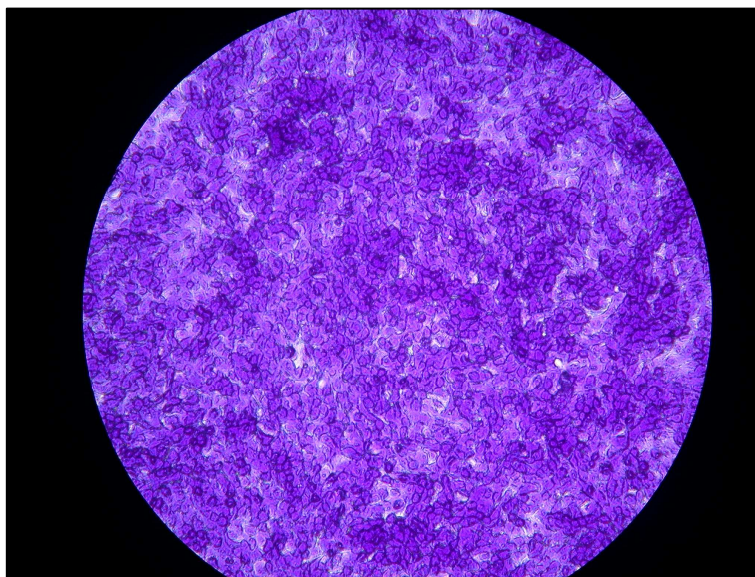




Slika 7: H4 celice po izpostavljenosti mikrovalovom (nepobarvane).

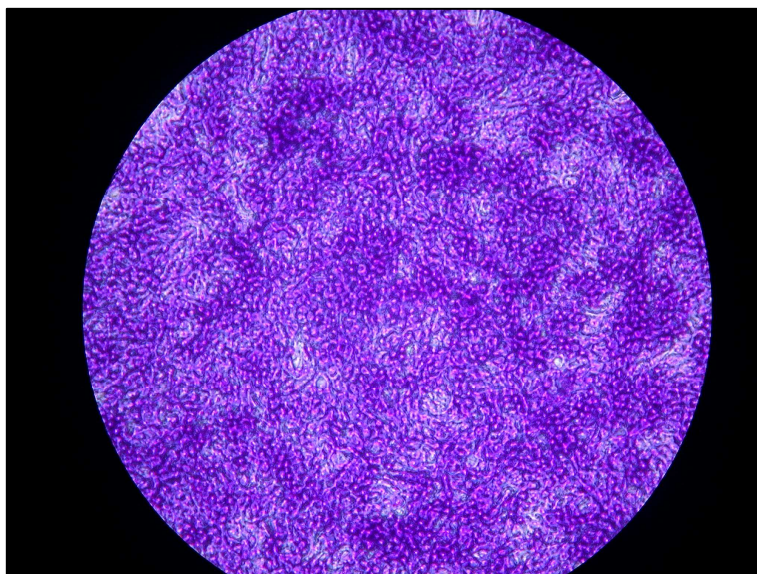
Sledil je postopek barvanja z barvilom kristal vijolično (gl. slike 8-10, str. 17-18). Žive celice ga absorbirajo in se obarvajo, mrtve ne.

Rezultati poskusa so pokazali, da so nekancerogene, H4 celice bolj občutljive na vpliv mikrovalov kot kancerogene, Caco-2.

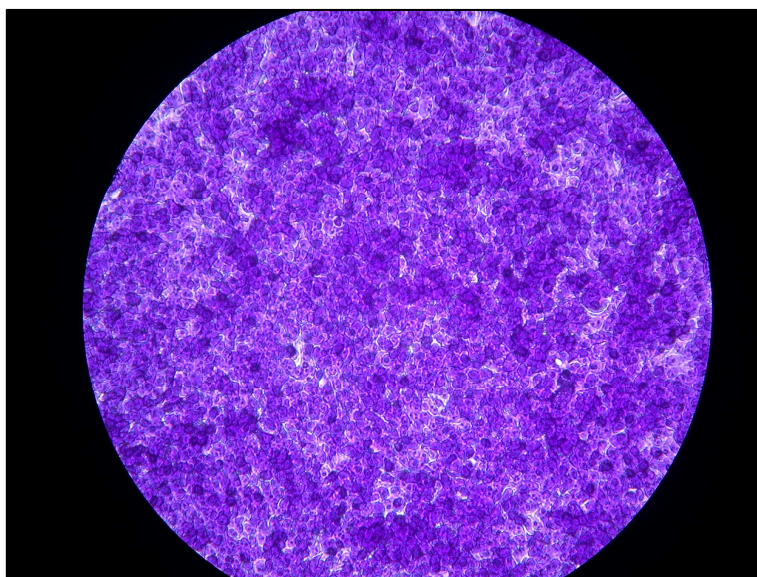


Slika 8: H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 4x – 3x 400W).





*Slika 9:* H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 7 – 1x Keep Warm, 4X Defrost).



*Slika 10:* H4 celice po barvanju z barvilom kristal vijolično (ploščica 13 – 2x Keep Warm, 1x Defrost, 1x 400W).

## 4.2 Rezultati kalitve

DATUM SETVE: **24.11.2008** (zvečer)

### 4.2.1 Zalivanje in rast rastlin

1. DATUM: 25.11.2008 in 26. 11.2008

Rastline zalite zjutraj in zvečer. Temperatura v prostoru je bila 24,6°C.

2. DATUM: 27.11.2008

Zjutraj opaženi prvi poganjki, zvečer že nekoliko večji. Temperatura v prostoru je bila 23,9°C.

Tabela 6: Zaporedje kalitve rastlin.

<i>zaporedje kalitve</i>	<i>vodovodna voda</i>	<i>voda - štedilnik</i>	<i>voda - mikrov. pečica</i>
1.	kreša	leča	X
2.	kreša	X	leča
3.	X	kreša	leča

Iz tabele 6, str. 19 je razvidno, da so rastline vzklike v različnem zaporedju. V skupini zaliti z navadno vodo je najhitreje vzklikla kreša, v skupini vode ogrete na štedilniku leča in v skupini uporabe vode ogrete z mikrovalovno pečico, rastlina X.

Tabela 7: Število poganjkov ob kalitvi.

<i>št. prvih poganjkov</i>	<i>kreša</i>	<i>leča</i>	<i>X</i>
<i>vodovodna voda</i>	9	8	3
<i>voda - štedilnik</i>	8	8	4
<i>voda - mikrov. pečica</i>	8	5	4

Najhitreje je v vseh primerih vzklikla kreša, najpočasneje pa neznana rastlina X. Največ poganjkov je razvila kreša ob zalivanju z navadno vodo iz vodovodne pipe, in sicer 9, najmanj pa leča, in sicer 5, pri uporabi vode ogrete v mikrovalovni pečici.

Naslednji parameter, ki smo ga spremljali, je bila višina največjih poganjkov vsake rastline glede na vodo za zalivanje.

Tabela 8: Velikosti poganjkov rastlin (cm) v posamezni skupini glede na medij za zalivanje.

rastlina	vodovodna voda	štedilnik	mikrovalovna	povprečje
kreša	3	3	2,5	2,83
leča	majhni, komaj kukajo iz zemlje	0,9	1,1 + zraste prvi kalček!	1 (brez upoštevanje 1. skupine)
X	0,9	2,7	3,7	7,3

Poganjka leče in neznane rastline sta bila najvišja v skupini, kjer so bile rastline zalite z vodo prekuhana v mikrovalovni pečici, njihova dolžina je bila 1 in 3,7cm (gl. tabelo 8, str. 20). Pri leči je že zrasel prvi kalček. Kreša je spet odstopala od ostalih dveh rastlin in sicer je razvila najmanjši poganjek visok 2,5cm, v isti skupini.

3. DATUM: 28.11.2008

Rastline zalite le enkrat, zemlja je bila še dovolj vlažna. Temperatura v prostoru je bila 25,5°C.

Tabela 9: Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje.

voda	kreša	odstopanje	leča	odstopanje	X	odstopanje
vodovodna	5,7	0,07	2,2	-0,77	5,5	-2,03
štedilnik	5,8	0,17	3,5	0,53	8,5	0,97
mikrovalovna pečica	5,4	-0,23	3,2	0,23	8,6	1,07
<i>povprečje</i>	<i>5,63</i>	/	<i>2,97</i>	/	<i>7,53</i>	/

Pri povprečnih vrednostih (gl. tabelo 9, str. 20) je na višini največ pridobila kreša, vrednost je 5,63cm. Sledi ji leča s 2,97cm, nato pa neznana rastlina s 7,53cm.

Povprečna višina vseh rastlin je bila 5,4cm, pri zalivanju z vodovodno vodo 4,5cm oz. 0,9cm manj od povprečja, voda pogreta na štedilniku je dala vrednosti za vse rastline 5,9c, oz. 0,5cm več od povprečja in voda iz mikrovalovne pečice 5,7 oz. 0,3cm več od skupnega povprečja. Odstopa le skupina, ki jo zalivamo z navadno vodo iz pipe in sicer -0,9cm.

4. DATUM: 30.11.2008

Rastline zalite le enkrat, zemlja je bila dovolj vlažna. Temperatura v prostoru je bila 26,3°C.

Tabela 10: Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje.

voda	kreša	odstopanje	leča	odstopanje	X	odstopanje
vodovodna	5,7	-0,47	13,5	-0,07	10,5	-0,17
štedilnik	6,7	0,53	13,6	0,03	10,6	-0,07
mikrovalovka	6,1	-0,07	13,6	0,03	10,9	0,23
povprečje	6,17	/	13,57	/	10,67	/

Rast rastlin postaja intenzivnejša. Kreša ni bistveno pridobila na višini, razlika od zadnjih meritev je 0,53cm (gl. tabelo 10, str. 21).

Razlike med povprečji vseh skupin niso velike. Povprečje vseh rastlin je 10,1cm, rastline zalite z vodovodno vodo so dosegle povprečno višino 9,9cm, kar je za 0,2 manj od skupnega povprečja, voda prevrta na plinskem štedilniku je povzročila za 0,2cm večjo rast (10,3cm) in voda prevrta v mikrovalovni pečici za 0,1cm oz. 10,2cm.

5. DATUM: 1.12.2008

Rastline zalite enkrat. Temperatura v prostoru je bila 25,3°C.

6. DATUM: 2.12.2008

Rastline zalite enkrat. Temperatura v prostoru je bila 24,6°C

Tabela 11: Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje.

voda	kreša	odstopanje	leča	odstopanje	X	odstopanje
vodovodna	6,3	-0,7	18,7	0,67	12,6	-2
štedilnik	7,2	0,2	22,4	4,37	19,6	5
mikrovalovka	7,5	0,3	13	-5,03	11,6	-3
povprečje	7	/	18,03	/	14,6	/

Pridobitev na višini je bila tukaj najintenzivnejša. Pokazale so se značilnosti posamezne rastline. Najvišja med vsemi je leča, ki meri 18,03cm, sledi neznana rastlina s 14,6cm in nato kreša s 7cm (gl. tabelo 11, str. 21).

7. DATUM: 5.12.2008

Rastline zalite enkrat. Temperatura v prostoru je bila 23,3°C.

Tabela 12: Velikosti poganjkov (cm) v posamezni skupini, glede na medij za zalivanje.

Voda	kreša	odstopanje	leča	odstopanje	X	odstopanje
vodovodna	6,3	-0,7	18,7	0,67	12,6	-2
štedilnik	7,2	0,2	22,4	4,37	19,6	5
mikrovalovka	7,5	0,3	13	-5,03	11,6	-3
povprečje	7	/	18,03	/	14,6	/

Kreša in neznana rastlina sta že končali svojo intenzivno rast pri 6,43cm in 12,6cm in poganjki so se pričeli obešati (gl. tabelo 12, str. 22). Leča je zrasla še za 7,57cm, toda tudi tu se je rast ustavila.

8. DATUM: 21.12.2008

Do tega dne so bile rastline zalite enkrat dnevno. Temperatura pa se je gibala med 23,5°C in 24,5°C.

Rastline so pognale prve kalčke. Zrasel je v lončku, ki sva ga zalivala z navadno vodo iz pipe.



Slika 11: Vse tri skupine rastlin, glede na vodo uporabljeno za zalivanje.



*Slika 12:* Prva skupina rastlin zalita z navadno vodo iz pipe.



*Slika 13:* Druga skupina rastlin zalita z vodo prekuhano na štedilniku.



*Slika 14:* Tretja skupina rastlin zalita z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici.

## 5 RAZPRAVA

Pri vsakem raziskovalnem delu je prva faza dela pregled objav. Ta lahko v nekaterih primerih zavzame veliko časa trajanja raziskave zaradi obsega gradiva, ki ga je potrebno pregledati in ovrednotiti relevantno le-tega za raziskavo.

Pri izbrani tematiki pa smo se znašli pred drugačnim problemom. Informacij o elektromagnetizmu, mikrovalovih in EM sevanju je bilo več kot dovolj. Prav tako ni bilo problematično poiskati strokovne literature, ki podrobno obravnava gojenje celičnih kultur in ohranjanje le-teh. Na problem smo naleteli pri literaturi, ki bi povezovala zgoraj omenjeni področji; literaturo, ki bo povezovala EM sevanje v mikrovalovnem spektru z živim celičnim tkivom in bi pojasnjevala vplive le-tega nanje.

Kot nekakšen pilotni poskus smo zato izvedli krajšo raziskavo o vplivu vode obsevane z mikrovalovno energijo na rast in razvoj rastlin. Ta poskus se je sicer izkazal za manj zanesljivega, saj je bilo nemogoče preprečiti vpliv drugih spremenljivk na rastline (kvaliteta semen, različne hitrosti rasti idr.). V našem primeru lahko torej hipotezo 'rastline zalite z vodo prekuhano v mikrovalovni pečici, se ne bodo bistveno razlikovale od zalitih z navadno vodo iz pipe in z vodo prekuhano na štedilniku' potrdimo (glej slike 11-41, stran 22-23).

Potrebno je omeniti, da je izveden poskus kljub potencialno manjši uporabnosti rezultatov pomemben del raziskave. Izvedba je enostavna in možna na domu, posledično bi se lahko podobnega poskusa lotil vsak posameznik.

Naslednja eksperimentalna faza je obsegala dejansko gojenje celičnega tkiva *in vitro* in izpostavitvi le-tega viru mikrovalovnega sevanja. Tu smo naleteli na drugo težavo pri raziskavi: določitev spodnje in zgornje meje izpostavljenosti. Pri previsoki izpostavljenosti sevanju namreč celice ne bi preživele, pri premajhni izpostavljenosti pa nebi bilo mogoče dobiti kompetentnih rezultatov. Vzpostavitev parametrov se je izkazala za največji izziv raziskave.

Osnovno vprašanje pričujoče raziskave je bilo ali je vpliv mikrovalovnega sevanja na kancerogene celice izmerljivo drugačen od vpliva na nekancerogene celice. V ta namen so bile za celične kulture uporabljene nekancerogeni soj H<sub>4</sub> in kancerogeni soj CaCo-2 celic, ki so se že v drugih laboratorijskih poskusih izkazale kot relativno enostavne za gojenje.

Celične kulture so bile izpostavljene različnim kombinacijam moči in časa trajanja obsevanja (glej tabelo 1, stran 14 in tabelo 5, stran 16). Ugotovljeno je bilo, da je bila temperaturna sprememba pri izvedbah različnih kombinacij programov dokaj enotna, kar so zagotavljali pravilno izbrani parametri (glej tabele 2, 3 in 4, stran 15).

Rezultati so pokazali, da so nekancerogene H<sub>4</sub> celice bolj občutljive na mikrovalovno sevanje kot kancerogeni soj CaCo-2 (glej sliki 6 in 7, stran 16-17). Posledično je za rakove bolnike potencialna terapija z mikrovalovi neuporabna. Ugotavljamo, da so na splošno kancerogene celice manj občutljive na dražljaje iz okolja. Večina kancerogenih celic prav tako izgubi sposobnost apoptoze - programirane celične smrti zaradi defekta DNK ali poškodbe membrane, ki deluje kot varnostni mehanizem, saj izloča nestandardne celice iz organizma. CaCo-2 so celice epitela debelega črevesja, H<sub>4</sub> pa epitela malega črevesja. Glede na izvor je možno, da so celice epitela debelega črevesja po predispoziciji manj občutljive in zahtevne kot H<sub>4</sub> celice. Osnovna hipoteza 'kancerogene celice bodo na mikrovalovno sevanje reagirale drugače kot nekancerogene' pa je torej potrjena.

Prav tako rezultati podpirajo ugotovitev, da ima na celične kulture povečanje temperature kot posledica izpostavljenosti mikrovalovnemu sevanju dosti večji vpliv kot delovanje

mikrovalovne energije same, kar potrjujejo tudi rezultati raziskave Woo in sod., 2000. Na podlagi teh ugotovitev lahko potrdimo hipotezo 'dolgotrajna izpostavljenost mikrovalovom škoduje celicam'.

Hipoteze 'mikrovalovi poleg posrednega delovanja s segrevanjem neposredno škodujejo celicam' po mnenju avtorjev ni mogoče ne potrditi ne ovreči, saj je bilo s svetlobnim mikroskopom nemogoče zaznati potencialne spremembe nastale zaradi vpliva mikrovalov samih.

Mikrovalovi delujejo na celične kulture s procesom dielektričnega gretja, pri katerem se molekule dielektričnih snovi orientirajo glede na silnice magnetnega polja. Kot nadaljevanje raziskave bi bilo mogoče ugotavljati ali sam proces dielektričnega gretja oz. rotacija molekul povzroča poškodbe na celičnih organelih in osnovnih gradnikih celice. Prav tako bi bilo zanimivo ugotavljati ali prej omenjeni proces lahko povzroča poškodbe DNK verige oz. spremembe na posameznih nukleotidih, saj je pentoza, eden osnovnih gradnikov nukleotida, dielektrična snov. Vera Garaj-Vrhovaca in sod. (1990) ugotavljajo, da mikrovalovno sevanje lahko povzroča spremembe v sintezi in strukturi DNK molekul, vendar brez upoštevanja potencialnih sprememb zaradi povišane temperature. Za raziskave zgoraj opisanega tipa bi potrebovali presevalni elektronski mikroskop. Pri nadaljnjem raziskovanju bi bilo potrebno odpraviti oz. zmanjšati vpliv povišane temperature na celične kulture, saj lahko le-ta močno vpliva na celično strukturo in povzroči tudi denaturacijo beljakovin.



## 6 ZAKLJUČEK

Mikrovalovna pečica je v našem sodobnem, stresnem svetu eden najbolj uporabljenih gospodinjskih aparatov. Ljudje imamo kljub avtomatizaciji vedno manj časa zase in za spodoben, v miru pripravljen obrok. Prav zato je mikrovalovna pečica tak prodajni uspeh. Vendar pa se večina ljudi sploh ne zaveda kakšni procesi potekajo medtem ko čakajo, da se njihov obrok pogreje. Zaradi razširjenosti uporabe »mikrovalovk«, je vprašanje o varni uporabi mikrovalovne energije še toliko pomembnejše, po drugi strani pa tudi toliko bolj delikatne narave.

V raziskavi ni bilo potrjeno, da mikrovalovi kot taki predstavljajo nevarnost za živ organizem, večjo nevarnost predstavlja višanje temperature organizma zaradi procesa znanega kot dielektrično gretje, pri katerem se molekule določenih snovi razporedijo glede na silnice v elektromagnetnem polju in posledično povzročajo dvig temperature.

Rezultati raziskave so prav tako pokazali, da rastline, zalite z vodo obsevane z mikrovalovnim sevanjem ne kažejo bistvenih razlik glede na rastline zalite z vodovodno vodo iz pipe.

Vendarle je potrebno ločiti med vplivom mikrovalov na žive celične strukture in na nežive, neaktivne celične strukture. Hrana, pogreta oz. skuhan v mikrovalovni pečici naj ne bi bila škodljiva, predvidoma tudi ni vir sevanja, njena kalorična vrednost se naj ne bi spremenila. Potencialen razpad celičnih gradnikov oz. spremembe v celični zgradbi so za neživo celično tkivo (hrana) nerelevantni, saj v končni fazi naš prebavni trakt tako ali tako razgradi hrano na enostavnejše snovi, ki jih telo lahko absorbira in uporabi. Postavlja pa se vprašanje koliko se gradniki oz. enostavnejše snovi spremenijo zaradi segrevanja oz. ali so za organizem uporabni v enaki meri kot pri klasični obdelavi hrane.

Hrana pripravljena v mikrovalovni pečici je torej lahko prav tako zdrava (ali nezdrava!) kot hrana obdelana s konvencionalnim konvekcijskim prenosom toplote. Kvaliteta hrane je odvisna tudi od procesov pred kuhanjem in gretjem; danes vemo, da je hitro in industrijsko pripravljena hrana energetsko bogata, hranilno pa osiromašena in z uporabo mikrovalovke predvsem uživamo hitro pripravljeno, manj kvalitetno hrano; in za to ne moremo pripisati krivde mikrovalovom.

Vendar pa smo dolžni mikrovalovno tehniko, kot vsako drugo, uporabljati varno in le v predpisane namene. Vseh lastnosti energijskih sevanj še ne poznamo, veliko potrošniških naprav na njihovi osnovi je na trgu še premalo časa, da bi lahko razpravljali o potencialnih dolgotrajnih posledicah. Prav zato je potrebno vso tehnologijo, ki nas obdaja v sodobnem svetu uporabljati smotrno in racionalno, saj v nasprotju z znanim pregovorom od viška glava lahko še kako boli.

## 7 LITERATURA

- AGELIS, G. / TZIOUMAKI, N. / BOTIĆ, T., CENCIČ, A. / KOMIOTIS, D. 2007. Exomethylene pyranonucleosides: Efficient synthesis and biological evaluation of 1-(2,3,4-trideoxy-2-methylene-β -D-glycero-hex-3-enopyranosyl) thymine. *Bioorganic and Medical Chemistry*, 15, 5448-5456.
- Dielectric heating, Wikipedia, 2010.  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Dielectric\\_heating](http://en.wikipedia.org/wiki/Dielectric_heating)  
Pregledano 18.3.2010.
- GARAJ-VRHOVACA, V. / HORVATA, D./ KOREN, Z. 1990. The effect of microwave radiation on the cell genome. *Mutation Research Letters*, 243, 2, 87-93.
- KWEEA, S. / RASKMARK, P. 1998. Changes in cell proliferation due to environmental non-ionizing radiation: 2. Microwave radiation. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 44, 2, 251-255.
- LIEGEY, P. R. 2001. "Hedonic Quality Adjustment Methods for Microwave. Ovens in the U.S. CPI". Bureau of Labor Statistics, na voljo na spletu od 2001:  
<http://www.bls.gov/cpi/cpimwo.htm>
- Microwave Oven, Wikipedia, 2010.  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Microwave\\_oven](http://en.wikipedia.org/wiki/Microwave_oven)  
Pregledano 18.3.2010.
- Microwave, Wikipedia, 2010.  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Microwave>  
Pregledano 18.3.2010.
- Mikrovalovna pečica – varnost živil, 2010. Zavod za zdravstveno varstvo Celje.  
<http://www.zzv-ce.si/unlimitpages.asp?id=405>  
Pregledano 18.3.2010.
- WOO, I. / RHEE, I. / PARK, H. 2000, Differential Damage in Bacterial Cells by Microwave Radiation on the Basis of Cell Wall Structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3, 2243-2247.
- YANG, H. K., / CAIN, C. A. / LOCKWOOD, J. / TOMPKINS, W. A. F. 2005. Effects of microwave exposure on the hamster immune system. I. Natural killer cell activity. *Bioelectromagnetics*, 4, 2, 123-139.

## **8 ZAHVALA**

Iskreno se zahvaljujema:

Mentorici dr. ERIKI GLASENČNIK in somentoricama mag. ANITI POVŠE ter prof. dr. AVRELIJI CENCIČ za strokovno pomoč, nasvete in vzpodbudo pri raziskovalnem delu.

Dr. TOMAŽU LANGERHOLCU in dr. LIDIJI GRADIŠNIK za strokovno pomoč pri izvajanju laboratorijskih poskusov.

Gibanju Mladih raziskovalci za razvoj Šaleške doline za finančno podporo.

Katedri za biokemijo MF in Katedra za mikrobiologijo, molekularno biologijo, biokemijo in biotehnologijo FKBV, laboratorijskega centra UM.