

ZAWARTOŚĆ WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH A MUTAGENNE WŁAŚCIWOŚCI PYŁOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ POWIETRZA NA OBSZARZE WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS CONCENTRATION AND MUTAGENIC EFFECTS OF DUST IN OUTDOOR ENVIRONMENT IN SILESIAN REGION

Agnieszka Kozłowska¹, Natalia Pawlas¹, Marzena Zaciera¹,
Lucyna Kapka-Skrzypczak^{2, 3}, Rafał Jasiński⁴

¹ Zakład Szkodliwości Chemicznych i Toksykologii Genetycznej Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. A. Sobczak, Dyrektor Instytutu: dr n. med. P.Z. Brewczyński

² Samodzielna Pracownia Biologii Molekularnej, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie,
Kierownik Samodzielnej Pracowni Biologii Molekularnej: dr n. med. L. Kapka-Skrzypczak

³ Katedra Zdrowia Publicznego, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie
Kierownik Katedry Zdrowia Publicznego: dr n. med. L. Kapka-Skrzypczak

⁴ Katedra Chemii, Technologii Wody i Ścieków, Politechnika Częstochowska
Kierownik Katedry: prof. dr hab. inż. M. Janosz-Rajczyk

Streszczenie

Rodzaj, ilość i stężenie zanieczyszczeń wprowadzanych do atmosfery zależy od spalanych paliw, zastosowanych technologii produkcji jest również od pory roku i warunków meteorologicznych. Pyłowe zanieczyszczenia powietrza stanowią złożoną mieszaninę substancji organicznych i nieorganicznych o różnorodnym składzie chemicznym i mineralnym. Znajdujące się w każdej frakcji aerozolu atmosferycznego wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) oraz ich nitrowe, aminowe, tlenowe i chlorowe pochodne są szczególnie niebezpieczne dla zdrowia i wykazują właściwości mutagenne. Do oznaczenia i analizy WWA wykorzystano chromatografię ciekową (HPLC). Do oceny efektu mutagennego ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza zastosowano test Ames z wykorzystaniem standardowego szczepu TA 98 oraz jego pochodnej YG 1041. Próby pobierano przy użyciu aspiratora o przepływie powietrza wynoszącym ok. 1 m³/min. na filtry z włókna szklanego w sezonie jesiennym. Punkty pomiarowe zlokalizowano w sześciu miastach województwa śląskiego. Ekstrakcję zanieczyszczeń przeprowadzono w aparacie Soxhleta przy użyciu dichloro-

metanu w ciemności w pomieszczeniu z właściwą wentylacją. W badanym materiale zaobserwowano przewagę mutagenów działających pośrednio (wymagających aktywacji metabolicznej). Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza spowodowana była obecnością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, głównie mutagennego benzo[a]pirenu w wysokich stężeniach co potwierdziły wyniki analizy HPLC.

Słowa kluczowe: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, pył zawieszony, ekstrakt, aktywność mutagenna, test Ames

Abstract

Quality and quantity of pollution depend on the combusted fuels and industrial technologies, the season of the year and meteorological conditions. Dust pollution of the air consists of diverse chemical organic and inorganic substances. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixture and their nitric, amin, oxidated and chlorated derivatives, which are found in all dust fractions, are particularly dangerous to human health and exert mutagenic effects. PAHs are measured and ana-

Nadesłano: 18.04.2011

Zatwierdzono do druku: 16.05.2011

lyzed using liquid chromatography, which is one of the most popular technique in analytical chemistry. Standard Ames test on Salmonella strain TA98 and YG1041 was used to assess mutagenic properties of dust. Samples of dust were collected on glass fiber filters by aspiration instrument with air flow 1 m³/min. during the autumn in six cities in Silesian Region. Extraction of pollution was carried out in Soxhlet instrument using dichlo-

rometane in the ventilated chamber. There was majority of indirect mutagenic substances (requiring metabolic activation) in studied samples. Mutagenic activity of dust fractions in outdoor air was caused by the PAHs concentrations, and particularly by benzo(a)pyrene, what was confirmed by HPLC.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, dust, extract, mutagenic activity, Ames test

Wstęp

Powietrze atmosferyczne, stanowiące podstawowy komponent środowiska, zanieczyszczone jest cząstkami stałymi, których koncentracja, skład chemiczny, ilość i rodzaj uzależniony jest od szeregu czynników o charakterze lokalnym i globalnym, a także od źródeł emisji i sposobu rozprzestrzeniania ich na różne odległości [1–3]. Istotny udział w zanieczyszczeniu powietrza ma emisja związana z energetyką, procesami produkcyjnymi w koksowniach, hutach, rafineriach ropy naftowej, zakładach używających paliwa kopalne, smołę węglową, asfalt, a także fabrykach chemicznych [4–7]. Dodatkowym źródłem zanieczyszczeń jest emisja z mieszkalnictwa, usług i sektora rolnego oraz emisja ze źródeł mobilnych (transport drogowy), stanowiąca coraz większy problem przy gwałtownym rozwoju komunikacji [7–10]. Ważnym problemem jest także kojarzone z dużymi aglomeracjami miejsko-przemysłowymi zjawisko powstawania smogu, czyli mieszaniny zawierającej mgłę, dym, dwutlenek siarki (SO₂), tlenki azotu (NO_x). Cząsteczki sadzy i dymu zawierają zaadsorbowane na swojej powierzchni szkodliwe związki organiczne, wśród których najgroźniejsze są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [7, 10].

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne oraz ich nitrowe, aminowe, tlenowe i chlorowe pochodne znajdują się w każdej frakcji aerozolu atmosferycznego i są to substancje wykazujące właściwości mutagenne [11, 12]. Użytecznym biomarkerem właściwości mutagennych tych związków może być ocena poziomu uszkodzeń DNA na poziomie molekularnym. Aby skutecznie eliminować zagrożenia zdrowotne związane z ekspozycją na substancje chemiczne o działaniu mutagennym i kancerogennym, należy przede wszystkim zidentyfikować te czynniki oraz podjąć próby identyfikacji wskaźników wczesnych skutków biologicznych powstałych wskutek tej ekspozycji [8, 10, 13–15].

WWA i ich pochodne zanieczyszczające powietrze atmosferyczne

Czynniki mutagenne, do których zaliczamy między innymi WWA i ich pochodne, przenikają do różnych elementów środowiska. W otaczającym nas

środowisku występują w wodzie, glebie, żywności, powietrzu atmosferycznym, dymie tytoniowym. Znaczącym źródłem zanieczyszczeń w powietrzu atmosferycznym są procesy niepełnego spalania związków organicznych, wysokotemperaturowych procesów spalania i przeróbki paliw, a także reakcje chemiczne zachodzące w atmosferze, które odpowiadają za część aktywności mutagennej i kancerogennej WWA [7, 13, 16]. W przemianach substancji zanieczyszczających powietrze ważną rolę pełnią reaktywne formy tlenu (RFT) powstające głównie w wyniku reakcji fotolizy [17]. Większość zanieczyszczeń w atmosferze, które posiadają właściwości mutagenne jest zaadsorbowana na pyłe zawieszonym [18, 19].

Zanieczyszczenia są emitowane do powietrza atmosferycznego ze źródeł naturalnych lub antropogenicznych. Szczególnie dużą ich zawartość stwierdza się w powietrzu atmosferycznym dużych aglomeracji miejskich o przestarzałej zabudowie i rozwiązaniach urbanistycznych [4, 18, 20, 21]. Podczas spalania powstają określone ogólnym pojęciem NO_x (mieszaniny tlenków NO i NO₂). Obecność NO_x w atmosferze jest uciążliwa dla środowiska, wynika z naturalnego obiegu azotu w przyrodzie, a także jest rezultatem działalności człowieka. Tlenki azotu ze źródeł naturalnych rozprzestrzeniają się mniej więcej równomiernie na całej kuli ziemskiej, natomiast te ze źródeł antropogenicznych koncentrują się na określonych terenach. Stężenia NO_x na terenach miejskich są 10–100 razy większe niż na pozostałych obszarach. Na skutek reakcji fotochemicznych, reakcji kondensacji, działania promieniowania słonecznego, ozonu oraz NO_x, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne tworzą nitrowe pochodne (NWWA) zaadsorbowane na cząstkach pyłu [8, 22–24]. Głównym ich źródłem są spaliny silników Diesla i benzynowych, sadza węglowa, jak również mogą powstawać w wyniku reakcji WWA z tlenkami azotu [7, 23]. WWA są związkami trwałymi chemicznie, mogą być transportowane na dalekie odległości od źródła powstania, posiadają 10 razy wyższe właściwości kancerogenne i mutagenne w stosunku do WWA. Z tego powodu należą one do najbardziej niebezpiecznych związków chemicznych występujących w powietrzu atmosferycznym [25–27].

Mutageny występujące w powietrzu atmosferycznym

Zarówno związki mutagenne jak i kancerogenne, głównie o budowie pierścieniowej, występują powszechnie w powietrzu atmosferycznym. Wiele z nich posiada nieznane dotychczas właściwości biologiczne [5, 10, 22, 28–30]. Jednymi z poznanych mutagenów i kancerogenów są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [11, 26, 30–32]. Zarówno jednopierścieniowe i dwupierścieniowe węglowodory aromatyczne, węglowodory alifatyczne, cykloalkany, jak i związki organiczne zawierające w cząsteczce atom tlenu, azotu, siarki, chloru, metali czy dioksyny i furany powodują powstawanie mutacji [10, 22]. Rakotwórcze działanie WWA jest zróżnicowane i wzrasta wraz z liczbą pierścieni w cząsteczce [4, 5]. Przykładowo, trzypierścieniowe WWA, tj.: antracen i fenantren, nie są rakotwórcze, natomiast ich metylowe pochodne wykazują właściwości kancerogenne. Czteropierścieniowe WWA, np.: chryzen jest słabym kancerogenem, natomiast benzo[a]antracen silnym kancerogenem. Najbardziej mutagenne i kancerogenne właściwości posiadają pięciopierścieniowe WWA, a wśród nich: benzo[a]piren i dibenzo[a,h]antracen [31, 32]. Benzo[a]piren jest reprezentantem całej grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i proponowany na całym świecie jako substancją wskaźnikową zanieczyszczenia powietrza [33]. Jak większość WWA należy do związków działających pośrednio, czyli ujawnia swoje właściwości mutagenne i kancerogenne po zastosowaniu aktywacji metabolicznej.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie zależności pomiędzy zawartością WWA a mutagennością ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza przy użyciu testu Ames. Do badań wykorzystano pył zawieszony PM₁₀, pobrany w sezonie jesiennym 2007 roku na terenie sześciu miejscowości województwa śląskiego. Zakres pracy obejmował: pobieranie prób, wykonanie ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń, przeprowadzenie badań mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza oraz oznaczenie w nich zawartości WWA.

Materiały i metodyka badań

24-godzinne pobory próbek obejmowały trzymiesięczny okres jesienny (wrzesień–listopad 2007 r.) w różnych regionach województwa śląskiego. Punkty pomiarowe zlokalizowane były w: Katowicach, Bytomiu, Sosnowcu, Częstochowie, Bielsku-Białej oraz Raciborzu.

Próbki pyłowych zanieczyszczeń powietrza pobrane zostały przez WSSE w Katowicach przy użyciu aspiratora o przepływie powietrza wynoszącym ok.

1 m³/min. na filtry z włókna szklanego. W każdym miesiącu wykonano dziesięć 24-godzinnych pomiarów. Do momentu wykorzystania do badań filtry z materiałem badawczym przechowywano w zamrażarce w temperaturze 20 °C. Następnie przygotowano próby zbiorcze z okresu 3 miesięcy dla każdego punktu pomiarowego. Filtry (10 sztuk × 3 miesiące) z pyłowymi zanieczyszczeniami powietrza pobranymi na jednej stacji pomiarowej umieszczono w gilzach, a następnie w aparacie Soxhleta przeprowadzono ekstrakcję przy użyciu dichlorometanu (350 cm³) przez 8 godzin z 30 minutowym refluksiem w ciemności w pomieszczeniu z właściwą wentylacją (dygestorium). Uzyskane ekstrakty podzielono na porcje i odparowano do sucha w atmosferze azotu, rozpuszczono w dimetylosulfotlenku (DMSO) lub acetonitrylu i poddano analizie HPLC oraz wykonano test Ames.

Metoda oznaczeń chemicznych w próbkach pyłów – chromatografia cieczowa

Metoda oznaczania WWA została opracowana w Zakładzie Szkodliwości Chemicznych Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu i jest zgodna z procedurą zawartą w PN-Z-04240-5:2006 [34].

W badaniach fizykochemicznych zawartość PM₁₀ oznaczono metodą grawimetryczną oraz metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (ang. high-performance liquid chromatography, HPLC) wykonano oznaczenia 13 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych

Chromatografia, należy obecnie do najbardziej rozpowszechnionych metod instrumentalnych w chemii analitycznej. W szczególności znalazła duże zastosowanie w analizie związków organicznych w tym również wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [35–37].

Metodyka badań bioindykacyjnych – Test Ames

Do badania mutagenności organicznych ekstraktów z pyłów zawieszonych zastosowano krótkoterminowy bakteryjny test Ames, opracowany w latach siedemdziesiątych XX wieku przez amerykańskiego profesora Bruce'a Ames [4, 8, 10, 11, 22, 38–41]. Krótkoterminowy test umożliwia wykrywanie potencjalnych mutagenów i kancerogenów przy użyciu prostych organizmów. Dużą jego zaletą jest przeprowadzenie doświadczeń w krótkim czasie i szybkie oszacowanie wyników [30, 31, 51]. Test Ames przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Maron i Ames (1983) uwzględniając doświadczenia naukowców i laboratoriów stosujących ten test [1, 5, 9, 11, 22, 27, 29, 31, 38, 39, 42–50].

W teście Amesa zastosowano odpowiednie dawki, zależne od rodzaju pyłowych zanieczyszczeń powietrza, szczepu testowego i wariantu aktywacji. Dobór dawek dokonany został w badaniach wstępnych oraz ustalony na podstawie wcześniejszych doświadczeń. Ekstrakty pyłów zawieszonych badano przy pomocy szczepu TA98 w dawkach odpowiadających 2,5; 5,0 oraz 10,0 m³ powietrza/płytkę. W przypadku szczepu YG1041 zastosowano dawki 4-krotnie niższe 0,625; 1,25 oraz 2,5 m³ powietrza/płytkę. Wszystkie ekstrakty testowano bez udziału i z udziałem aktywacji metabolicznej (\pm S9), w dwóch powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Do analizy statystycznej uzyskanych wyników wykorzystano program STATISTICA. W obliczeniach statystycznych wykorzystano korelacje nieparametryczne porządku rang Spearmana, test t Studenta, analizę regresji oraz analizę wariancji. Wartość $p < 0,05$ uznano jako poziom istotności statystycznej. Zgodnie z literaturą efekt mutageny dla niskich dawek pyłowych zanieczyszczeń powietrza stosowanych w teście Amesa wykazuje zależność liniową.

Względna miarę efektu mutagennego obliczono ze wzoru na aktywność mutagenną (AM), indukowaną przez określoną objętość próbki, dla powietrza – to jest 1 m³ (AM/m³), uwzględniając liczbę rewertantów w kontroli negatywnej [4, 10].

Uzyskane wyniki aktywności mutagennej próby sklasyfikowano według następujących kryteriów:

- próba nie mutagenna $AM < 1$
- próba słabo mutagenna $1 \leq AM < 2$
- próba mutagenna $AM \geq 2$

Próbę uznano za mutagenną, jeżeli AM jest równe lub większe od 2.

Wyniki

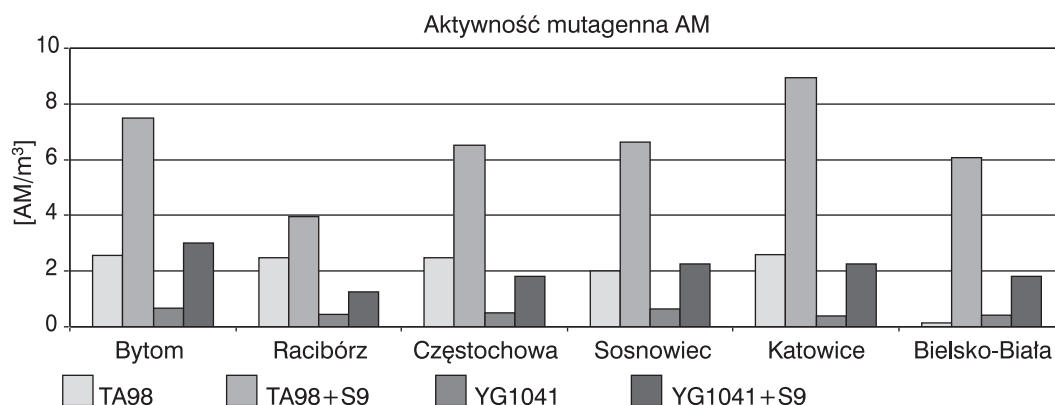
Wyniki testu Ames

Na rycinie 1 przedstawiono efekt mutageny ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza, badany przy pomocy dwóch szczepów *Salmonella typhimurium* TA98 oraz YG1041 (bez aktywacji i z aktywacją metaboliczną).

W ekstraktach badanych przy zastosowaniu szczepu TA98 bez aktywacji najwyższą aktywność mutagenną zaobserwowano w Katowicach (AM=2,56), najniższą w Bielsku-Białej (AM=0,15). 83% badanych prób wykazało aktywność mutagenną (AM > 2). Tylko jedna próba (z Bielska-Białej) cechowała się brakiem efektu mutagennego (AM < 1) w tym wariantie badań. Natomiast w badanych ekstraktach po zastosowaniu frakcji mikrosomalnej (+S9) najwyższa aktywność mutagenna wystąpiła również w Katowicach (AM=8,93), najniższa w Raciborzu (AM=3,96). W tym wariantie 100% badanych prób wykazało AM > 2, co wskazuje na silnie właściwości mutagenne ekstraktów pyłów.

W ekstraktach badanych szczepem YG1041 bez aktywacji zaobserwowano bardzo niskie wartości aktywności mutagennej wahające się w granicach od AM=0,39 (Katowice) do AM=0,69 (Bytom). Żadna z prób nie wykazała nawet słabej aktywności mutagennej. Po zastosowaniu aktywacji metabolicznej (+S9), 50% prób wykazało się aktywnością mutagenną AM > 2, gdzie najwyższą wartość odnotowano w Bytomiu (AM=3,00) oraz Sosnowcu (AM=2,26) i Katowicach (AM=2,25). Najniższą aktywnością mutagenną w wariantie z aktywacją wykazały się próby pobrane Raciborzu (AM=1,25), Bielsku-Białej (AM=1,80) i Częstochowie (AM=1,82).

Z powyższych analiz można wnioskować, iż miasta Aglomeracji Górnośląskiej (Bytom, Sosnowiec, Katowice) cechują się wysoką aktywnością



Rycina 1. Aktywność mutagenna ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego jesienią określona przy pomocy szczepu TA98 i YG1041 bez aktywacji (-S9) i z aktywacją metaboliczną (+S9)

Figure 1. Mutagenic activity of dust extracts collected in autumn assessed using *Salmonella* strain TA98 and YG1041 without metabolic activation (-S9) and with metabolic activation (+S9)

mutagenną badaną przy użyciu szczepu TA98, zarówno w wariancie bez aktywacji (-S9) jak i po zastosowaniu frakcji mikrosomalnej (+S9). Szczep TA98 jak i YG1041 okazał się bardziej czuły w wykrywaniu substancji mutagennych w wariancie z aktywacją metaboliczną.

Wyniki ilościowych oznaczeń WWA

Wartości poszczególnych WWA uzyskane podczas ilościowego ich oznaczenia w zbiorczych próbkach powietrza pochodzącego z różnych miast województwa śląskiego przedstawiono w tabeli I. Analiza profili WWA wykazała, iż w badanych próbkach praktycznie nie występowały 3 pierścieniowe węglowodory. Bardzo niskie wartości uzyskano podczas analizy chromatograficznej dla antracenu. Natomiast 4 pierścieniowy fluoranten (zgodnie z klasyfikacją IARC nierakotwórczy dla ludzi) dominował swoją zawartością we wszystkich miastach

województwa śląskiego. Węglowodory zawierające w swojej budowie 5 pierścieni, (B(a)P i D(a,h)A) klasyfikowane przez IARC jako prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi charakteryzowały się wysokimi stężeniami w badanych próbkach.

Po przeanalizowaniu wyników uzyskanych podczas oznaczeń ilościowych WWA stwierdzono, iż wszystkie uzyskane wyniki mieściły się w zakresie oznaczalności, a nawet znacznie przewyższały te wartości. Udział poszczególnych WWA zależał od miejsca poboru próbki powietrza. Jako wartość odniesienia dla prób środowiskowych uwzględniany był benzo[a]piren, którego dopuszczalny poziom dla roku kalendarzowego wynosi 1 ng/m³ [51, 52]. Oznaczenia tego związku w próbkach pyłów pochodzących z różnych miast znacznie przekraczały dopuszczalne stężenia B[a]P i wahają się od 14,4 ng/m³ w Raciborzu do 78,3 ng/m³ w Katowicach (tab. I).

Tabela I. Zawartość poszczególnych wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych (WWA) w zbiorczych próbkach powietrza pochodzącego z różnych miast województwa śląskiego

Table I. Concentration of polycyclic aromatic concentration in summed up samples from different cities in Silesian Region

Nazwa związku	Nazwa miasta					
	Bytom	Racibórz	Częstochowa	Sosnowiec	Katowice	Bielsko-Biała
ng/m ³						
Acenaften+Fluoren	35,6	6,3	20,6	39,2	35,4	26,1
Fenantren	28,0	0,4	13,7	2,4	5,4	25,8
Antracen	1,6	0,7	1,1	1,6	1,7	1,8
Fluoranten	242,2	60,2	141,5	239,2	241,1	180,3
Piren	33,1	7,5	18,7	38,4	34,9	27,2
Benzo[a]antracen	48,2	10,3	26,5	50,6	50,7	36,8
Chryzen	16,3	12,6	28,0	14,8	18,7	15,3
Benzo[b]fluoranten	27,8	8,0	14,2	27,0	23,8	17,6
Benzo[k]fluoranten	17,3	44,4	8,7	16,9	16,6	11,0
Benzo[a]piren	76,6	14,4	39,6	64,2	78,3	43,9
Dibenzo[a,h]antracen	14,2	4,3	6,8	10,2	14,5	4,6
Benzo[g,h,i]perylene	86,7	19,5	31,5	87,0	63,3	43,4
Indeno[1,2,3-c,d]piren	29,1	8,5	17,0	27,3	31,2	21,8
Razem WWA	656,7	157,1	367,9	618,8	615,6	455,6

Najwyższe przekroczenia B[a]P i WWA zanotowano na terenie miast należących do Aglomeracji Górnośląskiej, nieco niższe w Bielsku-Białej i Częstochowie, a najniższe w Raciborzu. Główną przyczyną wystąpienia przekroczeń B[a]P, WWA czy PM₁₀ w okresie jesiennym jest emisja z indywidualnego ogrzewania budynków, bliskość dróg z intensywnym ruchem samochodowym, emisja wtórna zanieczyszczeń, niekorzystne warunki meteorolo-

giczne, a także napływ zanieczyszczeń z poza granic województwa. Do dalszych analiz i zbadania zależności pomiędzy mutagennością a zawartością wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych z pośród wszystkich oznaczonych WWA wybrano B[a]P, gdyż jest on stosowany w teście Ames jako mutagen diagnostyczny, a także jego wartość jest normowana w odniesieniu do zawartości tego związku w powietrzu atmosferycznym (tab. II).

Tabela II. Zawartość benzo[a]pirenu (B[a]P) w stosunku do sumy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) [18, 20]

Table II. Benzo(a)pyrene (B[a]P) concentration in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon concentration (PAHs)

Miasto	Wartość B[a]P [ng/m ³]	Wartość dopuszczalna B[a]P* [ng/m ³]	Suma WWA [ng/m ³]	% udział B[a]P w stosunku do sumy WWA
Bytom	76,6	1	656,7	11,7
Racibórz	14,4		157,1	9,2
Częstochowa	39,6		367,9	10,8
Sosnowiec	64,2		618,8	10,4
Katowice	78,3		615,6	12,7
Bielsko-Biała	43,9		455,6	9,6

* Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 3.03.2008 r. [51], Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 6.06.2002 r. [52]

* according to Polish State Regulations from 03.03.2008 [51], according to Polish State Regulations from 06.06.2002 [52]

We wszystkich miastach badanego obszaru stwierdzono wysokie stężenia benzo[a]pirenu w stosunku do całkowitej zawartości WWA. Najniższy procentowy udział stwierdzono w Raciborzu (9,2%), a najwyższy w Katowicach (12,7%), co zaprezentowano w tabeli II.

Przeprowadzając analizę statystyczną korelacji porządku rang Spearmana poszczególnych WWA względem B[a]P dla 9 z nich stwierdzono różnice

istotne statystycznie oraz wysokie współczynniki korelacji, tabela III. Określając korelacje względem sumy WWA pomniejszonej o zawartość B[a]P w 11 z spośród 13 oznaczonych WWA stwierdzono różnice istotne statystycznie $p < 0,05$. W większości przypadków zaobserwowano wysokie współczynniki korelacji (rS), a także wartość istotną statystycznie (p), co zaprezentowano w tabeli III.

Tabela III. Korelacje rang Spearmana analizowanych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i benzo[a]pirenu (B[a]P)

Table III. Spearman's rang correlation between polycyclic aromatic hydrocarbon concentration (PAHs) and benzo(a)pyrene (B[a]P)

Nazwa	B[a]P		WWA*	
	rS	p	rS	p
Acenaften + Fluoren	0,943	0,004	0,989	0,000
Fenantren	0,271	0,602	0,338	0,512
Antracen	0,794	0,059	0,866	0,025
Fluoranten	0,970	0,001	0,997	0,000
Piren	0,923	0,008	0,977	0,000
Benzo[a]antracen	0,960	0,002	0,990	0,000
Chryzen	0,059	0,910	0,001	0,998
Benzo[b]fluoranten	0,947	0,004	0,985	0,000
Benzo[k]fluoranten	0,975	0,000	0,990	0,000
Benzo[a]piren	–	–	0,967	0,001
Dibenzo[a,h]antracen	0,926	0,007	0,821	0,045
Benzo[g,h,i]perylene	0,881	0,020	0,934	0,006
Indeno[1,2,3-c,d]piren	0,985	0,000	0,980	0,000

* suma wartości WWA pomniejszona o zawartość B(a)P

* summary PAHs concentration reduced about B(a)P

Dokonując analizy zależności pomiędzy stężeniem benzo[a]pirenu a mutagennością (AM) dla poszczególnych szczepów i wariantów aktywacji testowanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza we wszystkich miastach konurbacji górnośląskiej zaobserwowano, iż wysoką mutagennością charakteryzują się ekstrakty pyłów w wariancie z aktywacją metaboliczną (+S9) zarówno w przypadku szczepu TA98 jak i YG1041. Stwierdzono wysokie współczynniki korelacji pomiędzy B[a]P i AM dla szczepu TA98 + S9 $r=0,924$ i B[a]P i AM dla szczepu YG1041 + S9 $r=0,903$ oraz różnicę istotną statystycznie w obu przypadkach odpowiednio $p=0,008$ i $p=0,013$. W wariancie bez udziału frakcji S9 w przypadku dla obu analizowanych szczepów względem B[a]P nie stwierdzono różnicy istotnie statystycznej.

Analizując zależności pomiędzy sumarycznym stężeniem WWA a mutagennością (AM) dla poszczególnych szczepów i wariantów aktywacji testowanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza we wszystkich miastach stwierdzono wyższą aktywność mutagenną dla ekstraktów w wariancie +S9 w przypadku zastosowanych szczepów testowych TA98 i YG1041 względem sumy WWA niż ekstraktów dla tych samych szczepów lecz w wariancie -S9. Stwierdzono wysokie współczynniki korelacji pomiędzy WWA i AM dla szczepu TA98 + S9 $r=0,854$ i WWA i AM dla szczepu YG1041 + S9 $r=0,903$ oraz różnicę istotną statystycznie w obu przypadkach odpowiednio $p=0,030$ i $p=0,013$. W wariancie bez udziału frakcji S9

w przypadku dla obu analizowanych szczepów względem sumy WWA nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie.

Dobrymi wskaźnikami efektu mutagennego może być zarówno B[a]P jak i suma WWA w przypadku obu szczepów testowych, ze względu na wysokie współczynniki korelacji w wariancie z aktywacją metaboliczną.

Dyskusja

Powietrze atmosferyczne zanieczyszczone jest wieloma związkami i substancjami chemicznymi, niekorzystnie wpływa na organizmy żywe, w tym również na człowieka. Świadomość istnienia zagrożeń powoduje zwiększone poszukiwania, możliwie jak najlepszych rozwiązań w kontroli jakości powietrza atmosferycznego. Monitoring powietrza polega na pomiarach kilku związków chemicznych obecnych w fazie gazowej lub zaadsorbowanych na cząstkach pyłu zawieszonego. Rodzaj i ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do atmosfery zależy od spalanych paliw, a także od zastosowanych technologii produkcji [53]. Ilość zanieczyszczeń pyłowych wprowadzanych do atmosfery w latach 2000–2009 istotnie zmniejszyła się. Spadek ten był związany z ograniczeniem produkcji przemysłowej i restrukturyzacją przemysłu [6].

Dla zilustrowania faktu obniżającej się emisji zanieczyszczeń do atmosfery w tabeli IV przedstawiono porównanie średniorocznych stężeń pyłu zawieszonego PM₁₀ w latach 2000, 2007, 2009 w wybranych miastach województwa śląskiego.

Tabela IV. Porównanie średniorocznych stężeń pyłu zawieszonego PM₁₀ w latach 2000–2009 w wybranych miastach województwa śląskiego [wg danych Wojewódzkiej Stacji Sanitarnej i Epidemiologicznej (WSSE) Katowice 51, 52, 54–57]

Table IV. Mean concentration of dust fraction PM₁₀ in 2000–2009 in selected cities in Silesian Region [data according to Voivodship Sanitary and Epidemiological Station in Katowice 51, 52, 54–

Lp.	Stacja pomiarowa	Rok 2000 [µg/m ³]	Rok 2007 [µg/m ³]	Rok 2009 [µg/m ³]	Wartość dopuszczalna* [µg/m ³]
1	Katowice	70	43	38	40
2	Bytom	66	44	bd	
3	Sosnowiec	68	43	bd	
4	Częstochowa	58	33	bd	
5	Bielsko-Biała	42	33	bd	
6	Racibórz	48	23	40	

* wg obowiązującego w okresie poboru prób Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 6 czerwca 2002 r. [52]

bd – brak danych, WSSE Katowice nie wykonywało pomiarów w zaprezentowanych miastach województwa śląskiego

* according to Polish State Regulations from 06.06.2002 [52]

bd – missing data, Voivodship Sanitary and Epidemiological Station in Katowice did not measure in those cities

Stężenia pyłu zawieszonego PM₁₀ w 2000 roku cechowały się bardzo wysokimi wartościami we wszystkich analizowanych punktach pomiarowych, znacznie przekraczając wartość dopuszczalną. Wysokie wartości dopuszczalnego poziomu stężenia PM₁₀ w 2007 roku odnotowano na stacjach pomiarowych w Katowicach, Bytomiu i Sosnowcu [6,54–56]. Stężenia pyłu wykazują generalną tendencję do obniżania się ich zawartości. Na jakość powietrza w regionie zasadniczy wpływ ma emisja zanieczyszczeń pyłowo-gazowych

z sektora komunalnego i gospodarstw indywidualnych. Najbardziej charakterystyczne dla zjawiska niskiej emisji pyłowo-gazowej jest wysokie stężenie benzo[a]pirenu, spowodowane spalaniem paliw stałych o niskiej jakości oraz „substytutów” tych paliw.

W tabeli V przedstawiono średnie stężenia roczne benzo[a]pirenu w latach 2000, 2007, 2009 w pyłach pobieranych w wybranych miastach analizowanego regionu (wg danych Wojewódzkiej Stacji Sanitaro-Epidemiologicznej (WSSE) w Katowicach).

Tabela V. Stężenie średnie roczne benzo[a]pirenu w latach 2000–2009 w wybranych miastach województwa śląskiego [wg danych Wojewódzkiej Stacji Sanitaro-Epidemiologicznej (WSSE) Katowice, 51, 54–57]

Table V. Mean benzo(a)pyrene concentration in 2000–2009 in selected cities in Silesian Region [data according to Voivodship Sanitary and Epidemiological Station in Katowice 51, 54–57]

Lp.	Stacja pomiarowa	Rok 2000 [µg/m ³]	Rok 2007 [µg/m ³]	Rok 2009 [µg/m ³]	Wartość dopuszczalna* [µg/m ³]
1	Katowice	21,0	1,7	5,6	1
2	Bytom	17,2	1,3	bd	
3	Sosnowiec	13,6	1,4	bd	
4	Częstochowa	13,5	1,1	bd	
5	Bielsko-Biała	9,2	1,2	bd	
6	Racibórz	14,9	1,3	6,4	

* wg obowiązującego w okresie poboru prób Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 6 czerwca 2002 r. [52]

bd – brak danych, WSSE Katowice nie wykonywało pomiarów w zaprezentowanych miastach województwa śląskiego

* according to Polish State Regulations from 06.06.2002 [52]

bd – missing data, Voivodship Sanitary and Epidemiological Station in Katowice did not measure in those cities

Stężenie benzo[a]pirenu w okresie poboru prób oraz w latach poprzednich przekraczały dopuszczalną wartość na wszystkich stacjach pomiarowych województwa śląskiego. Analizując dane z piśmiennictwa z lat poprzednich można stwierdzić bardzo duży spadek średniego stężenia tej substancji. Podobną tendencję wykazały 25-letnie analizy monitoringu stężenia B[a]P prowadzone na obszarze wybranych miast województwa śląskiego podczas których stwierdzono spadek jego stężenia o 1–2 rzędy wielkości [58]. Jednakże w Katowicach i Raciborzu stężenie B[a]P w 2009 roku było wyższe niż w 2007 roku i 5–6-krotne przekraczało wartość dopuszczalną. Benzo[a]piren, który uznawany jest za jedną z bardziej znaczących substancji kancerogennych przekracza dopuszczalne wartości, co przy stężeniach występujących w województwie śląskim stwarza istotne ryzyko zdrowotne dla mieszkańców tego regionu [51,54–56, 58, 59]. Należy podkreślić duże znaczenie analizy stężenia benzo[a]pirenu w powiet-

rze jako jednej z głównych substancji wskaźnikowych zanieczyszczenia powietrza.

W powietrzu występują także często niezidentyfikowane pod względem chemicznym substancje o dużej aktywności biologicznej, między którymi mogą zachodzić interakcje. W związku z tym prowadzi się poszukiwania nowych metod biomonitoringu zanieczyszczeń środowiska, których rutynowe zastosowanie ułatwi ocenę narażenia na substancje mutagenne w środowisku. Badanie mutagenności powietrza zostało przeprowadzone już przez wielu badaczy w Polsce i na świecie [1, 4, 5, 9–12, 24, 27, 38–41, 47]. Efekt mutageny pyłowych zanieczyszczeń powietrza związany jest głównie z zanieczyszczeniem wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi, co potwierdzają badania przeprowadzone we Wrocławiu, Krakowie i na Górnym Śląsku [4, 5, 9, 11, 12, 14, 19, 27, 30, 31, 44, 46]. Wielu naukowców stosowało połączenie szczepów testowych *Salmonella typhimurium*

TA98 i YG1041, co dało możliwość analizowania efektu mutagennego pyłów pod względem wrażliwości na mechanizm działania poszczególnych mutagenów. Pomimo tego, że na terenie prezentowanego województwa jakość powietrza atmosferycznego ulega stopniowej poprawie, jest ona nadal niezadowalająca, zwłaszcza w centralnej części aglomeracji. Występują tu znaczne przekroczenia wartości stężeń B[a]P oraz PM₁₀, które na wielu stanowiskach pomiarowych wielokrotnie przekraczają wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń [13]. Dalsze poprawienie stanu atmosfery i związane z tym zmniejszenie ryzyka zdrowotnego dla mieszkańców Górnego Śląska uwarunkowane jest koniecznością ograniczania w większym stopniu emisji zanieczyszczeń.

W badanych próbach powietrza we wszystkich miastach województwa śląskiego obecne były zarówno związki o charakterze promutagenów oraz mutagenów bezpośrednich. Mutageny zawarte w ekstraktach pyłów zawieszonych w powietrzu, wywoływały istotną statystycznie odpowiedź ze strony szczepu TA98, co oznacza, że były to głównie związki wywołujące mutacje punktowe typu zmiana ramki odczytu. Wyniki przeprowadzonych badań mutagenności wykazały, że aktywacja przy pomocy enzymów mikrosomalnych pochodzących z homogenatu wątroby ssaka powodowała istotny wzrost odpowiedzi mutagennej szczepu TA98 w odniesieniu do wszystkich testowanych ekstraktów. Stąd też można przypuszczać, że w powietrzu atmosferycznym w sezonie jesiennym występowała przewaga mutagenów działających pośrednio, w tym wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Bezpośrednie działanie mutagenów takich jak aminy aromatyczne, hydroksyloaminy, tlenowe pochodne WWA dały odpowiedź aktywności mutagennej powyżej 2 w pięciu miastach badanego obszaru. Tylko w Bielsku-Białej nie stwierdzono mutagenów działających bezpośrednio. Przeprowadzony test Ames wykazuje dużą czułość ze strony szczepu TA98 na wykrywanie mutagenów zawartych w ekstraktach pyłów.

Poziom aktywności mutagennej wykrywanej szczepem YG1041 zależał wyraźnie od miejsca poboru próby, oraz dawki testowanego ekstraktu. Wpływ dodatku mieszaniny S9 był zależny od miasta w którym zostały pobrane zanieczyszczenia powietrza. Ekstrakty pochodzące z miast Aglomeracji Górnośląskiej, należącej do najbardziej zanieczyszczonych w całym regionie wykazały dużo wyższą odpowiedź w wariancie +S9. Aktywność mutagenna badana szczepem YG1041 była wyższa w wariancie z frakcją mikrosomalną co świadczy o aktywowaniu substancji mutagennych ekstraktów pyłów zwieszonych. Potwierdza to fakt, że w składzie ekstraktów znajduje

się mniej nitrowych związków aromatycznych nie wymagających aktywacji metabolicznej, a szczep YG1041 jest bardzo czuły na wykrywanie NWWA. Uzyskanie niższej odpowiedzi AM dla szczepu YG1041+S9 w porównaniu z TA98+S9 świadczy o bardzo małej ilości amin aromatycznych i hydroksyloamin w badanych próbach powietrza.

Zastosowanie szczepu YG1041 razem ze szczepem standardowym TA98 pozwoliło na rozpoznanie związków odpowiedzialnych za efekt mutagenny pyłów zawieszonych w powietrzu na terenie konurbacji śląskiej. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano istotne różnicowanie aktywności mutagennej zanieczyszczeń pyłowych między miejscowościami na terenie województwa śląskiego. Najbardziej zanieczyszczone substancjami mutagennymi okazały się miejscowości położone w przemysłowym centrum województwa śląskiego.

Z przeprowadzonych badań wynika, że aktywnością mutagenną charakteryzują się węglowodory zawierające w swoim składzie 4–6 pierścieni benzenowych. Potwierdzają to wyniki analiz metodą HPLC. Podobnie wyniki uzyskano w Krakowie, gdzie podczas analizy profili WWA w pyłe pochodzącym z sezonu grzewczego zaobserwowano przewagę 3–5 pierścieniowych WWA [14]. Analizując stężenia B[a]P w sezonie jesiennym 2007 roku na wszystkich stanowiskach badawczych znacznie przekraczają one dopuszczalne wartości. Najniższą wartość zanotowano w Raciborzu, czyli regionie oddalonym od obszaru, na którym występuje duża koncentracja przemysłu. Stwierdzono również bardzo wysokie wartości sumy WWA we wszystkich miastach. Podobnie jak w przypadku B[a]P, najniższą sumę WWA stwierdzono w Raciborzu, a najwyższe wartości sięgające powyżej 600 ng/m³ odnotowano na terenie Aglomeracji Górnośląskiej. Wysoki stopień toksyczności i mutagenności WWA potwierdza fakt, iż stężenia WWA wyrażone są w ng/m³ oraz to, że Światowa Organizacja Zdrowia nie określiła sumarycznego stężenia WWA w powietrzu atmosferycznym. Mutagenność ekstraktów powietrza powiązana jest ze wzrastającym stężeniem w atmosferze benzo[a]pirenu oraz sumy wszystkich WWA. Można zatem wnioskować, że mutagenne działanie pyłowych zanieczyszczeń powietrza na bakterie szczepu *Salmonella typhimurium* w dużej mierze spowodowane jest wysoką zawartością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w badanym powietrzu. Wiele związków chemicznych o znacznej koncentracji w powietrzu atmosferycznym, może w różnorodny sposób oddziaływać na tkanki, narządy i układy budujące organizm człowieka, w konsekwencji powodując podwyższoną zachorowalność na choroby nowotworowe u osób zamieszkujących duże aglomeracje [13, 20].

W rutynowym monitoringu zanieczyszczeń atmosfery określone są stężenia wybranych zanieczyszczeń wskaźnikowych, między innymi pyłu zawieszonego PM₁₀, benzo(a)pirenu czy sumy WWA, co pozwala jedynie na przybliżoną ocenę zagrożenia środowiska. Wykorzystanie badań efektu mutagennego w monitoringu powietrza umożliwi rzeczywistą ocenę narażenia na czynniki mutagenne czy toksyczne.

Wnioski

1. Szczep TA98 był bardziej efektywny w wykrywaniu substancji mutagennych w ekstraktach pyłów w wariancie z aktywacją metaboliczną.
2. Stwierdzono, że efekt mutagenny wywołują związki o działaniu pośrednim, takie jak WWA, co odpowiada wynikom analizy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.
3. Szczep YG1041 o podwyższonym poziomie nitroreduktazy i O-acetylotransferazy okazał się słabszym indykatozem efektu mutagennego w porównaniu do szczepu TA98, co może świadczyć o tym, iż w testowanych ekstraktach znajduje się niewielka ilość nitrowych pochodnych WWA
4. Przeprowadzone badania wykazały jednoznacznie, że na terenie miast konurbacji śląskiej, w sezonie jesiennym mutagenność pyłu zawieszonego w atmosferze jest bardzo wysoka i w dużej mierze zależna od stężenia WWA.
5. Wyniki badań wskazują na konieczność uzupełnienia monitoringu powietrza o badania efektu mutagennego testem Ames

Wyniki zaprezentowane w niniejszej pracy zostały uzyskane w ramach działalności statutowej (temat nr ZTG-4) prowadzonej przez Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu

Podziękowania:

Szczególne podziękowania i wyrazy wdzięczności składamy pracownikom Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Katowicach za przygotowanie i udostępnienie filtrów z materiałem badawczym w postaci pyłowych zanieczyszczeń powietrza.

Wykaz piśmiennictwa

1. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Wpływ indukcji frakcji mikrosomalnej na wykrywalność mutagennych zanieczyszczeń powietrza frakcji PM₁₀ bakteryjnym testem Ames. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Anny Matusiak – Piotrowskiej i Jana Rutkowskiego: Ochrona powietrza atmosferycznego. Osiągnięcia w nauce, energetyce i przemyśle. Politechnika Wrocławska, 863: 175–180, Wrocław 2006.
2. Kleinowski K., Błaszczak J.: Zanieczyszczenie powietrza pyłem PM_{2,5} w Aglomeracji Górnośląskiej, ocena poziomu

narażenia na bazie indeksu AQI. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczńskiego. Ochrona powietrza w teorii i praktyce, 2: 147–156. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.

3. Adamiak W., Kołwzan B.: Bioindykatory zanieczyszczeń atmosfery. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, Środowisko, Zagrożenie, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 147–163, Wrocław 2002.
4. Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. Medycyna Środowiskowa, 10, 2: 68–75, Sosnowiec 2007.
5. Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.
6. Banasik S., Danecki R., Holecki A., Kiszka I., Pilich-Konieczny A., Szymańska-Kubicka L., Kucharczyk B., Piszczek S., Plewnia B., Radecki R., Rasała J., Straszak K., Szczygiel A., Szumowska A., Ślęzański M., Tsarczyk R., Dziekońska D., Głubiak-Witwicka E., Włoch D.: Krajowy Raport Mozaikowy o stanie środowiska – województwo śląskie. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska, Katowice 2009.
7. Gawlik M.B., Bilek M.: Możliwości obniżenia emisji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych ze źródeł antropogenicznych. Medycyna Środowiskowa, 9, 1: 73–76, Sosnowiec 2006.
8. Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165–181, Wrocław 2002.
9. Mielżyńska D., Siwińska., Kapka L.; Efekt mutagenny frakcji PM₁₀ pyłów zawieszonych na obszarze województwa śląskiego. Materiały konferencyjne V Krajowej Konferencji Polskiego Towarzystwa Medycyny Środowiskowej. Medycyna Środowiskowa, 5, 1: 57–58, Sosnowiec 2002.
10. Mielżyńska D., Siwińska., Kapka L.; Efekt mutagenny pyłów zawieszonych jako wskaźnik jakości powietrza. Wydawnictwo IMPiZS, Sosnowiec 2002.
11. Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczyńska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303–312, Wrocław 2008.
12. Piekarska K., Zaciera M.: Mutagenność zanieczyszczeń organicznych zaadsorbowanych na cząstkach pyłu frakcji PM₁₀ i PM_{2,5} pobranego na terenie Wrocławia. Medycyna Środowiskowa, 11, 1: 27–34, Sosnowiec 2008.
13. Kapka L., Zemła B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.; Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. PZH, Przegląd Epidemiologiczny, 63, 3: 437–442, Warszawa 2009.
14. Ćwiklak K. 2006.: Występowanie WWA w powietrzu wybranych miast Małopolski. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczńskiego. Ochrona powietrza w teorii i praktyce, 2: 43–52. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.
15. Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K.: Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń, Uniwersytet Warmiński Mazurski, 1–75, Olsztyn 2007.

16. Bezak-Mazur E.: Elementy toksykologii środowiskowej. Wydawnictwo Politechniki Świętokrzyskiej, 372: 69–80, Kielce 2001.
17. Bartosz G.: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo PWN, 289–290, Warszawa 2006.
18. Jarosińska D., Biesiada M., Dąbkowska B., Muszyńska-Graca M., Pastuszka J., Pawlas K., Powązka E., Skiba M.: Środowiskowe zagrożenia zdrowia w Polsce – wybrane zagadnienia. Informator dla administracji rządowej i samorządowej. 1–62, IMPiZŚ, Sosnowiec 2001.
19. Kapka L., Mielżyńska D., Siwińska E.: Ocena sezonowej i przestrzennej zmienności stężeń PM₁₀ oraz wybranych WWA w powietrzu atmosferycznym województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 7, 1: 25–31, Sosnowiec 2004.
20. Czarny A., Zaczyńska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na produkcję TNF- α przez ludzkie komórki płuc, in vitro. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 5627–44, Wrocław 2008.
21. Sadowska A., Obidoska G., Rumowska M.: Ekotoksykologia. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43–112, Warszawa, 2000.
22. Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16–179, Wrocław 2008.
23. Zaciera M.: Metoda oznaczania nitrowych pochodnych WWA w powietrzu. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczńskiego. *Ochrona powietrza w teorii i praktyce*, 2: 147–156. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.
24. Traversi D., Degan R., De Marco R., Gilli G., Pignata C., Villani S., Bono R.: Mutagenic properties of PM_{2.5} urban pollution in the Northern Italy: The nitro-compounds contribution. *Environment International*, 35: 905–910, 2009.
25. Zaciera M., Mniszek W., Smolik E.: Kryteria szkodliwości spalin z silników Diesla. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Marty Janosz-Rajczyk: *Mikrozanieczyszczenia w środowisku człowieka*. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, 141–149, Częstochowa 2002.
26. Zaciera M., Mniszek W.: Oznaczanie Nitrowych pochodnych WWA w powietrzu. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Marty Janosz-Rajczyk: *Mikrozanieczyszczenia w środowisku człowieka*. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, 385–391, Częstochowa 2004.
27. Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczyńska E.: Mutagenic and cytotoxic properties of extracts of suspended particulate matter collected in Wrocław city area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 37–48, 2009.
28. Karpińska-Smulikowska J., Piekarska K.: Obecność zanieczyszczeń genotoksycznych w powietrzu atmosferycznym na terenie miasta Wrocławia. *Medycyna Środowiskowa*, 7, 1: 25–31, Sosnowiec 2004.
29. Jadczyk P.: The effect of traffic in the Wrocław town centre on the mutagenicity of airborne particulate matter. *Acta Poloniae Toxicologica*, 9, 1: 57–67, 2001.
30. Jadczyk P.: Korelacje między mutagennością pyłu zawieszonego a stężeniami zanieczyszczeń w atmosferze. *Rocznik PZH*, 52, 1: 25–33, Warszawa 2001.
31. Mielżyńska D., Siwińska E., Bubak A.: Genotoksyczność 13 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wybranych systemach in vitro. Wydawnictwo IMPiZŚ, Sosnowiec 1998.
32. Sapota A.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (substancje smołowe rozpuszczalne w cykloheksanie). Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, 2, 32: 179–208, 2002.
33. Smolik Ewa Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne. http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/10-smolik.pdf.
34. PN-Z-04240-5:2006 Ochrona czystości powietrza? Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo[a]antracenu, chryzenu, benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzog,h,i]peryleny i indeno[1,2,3 c,d]pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, 2006.
35. Makuch B., Kamiński M.: Podstawowe parametry opisujące układ chromatograficzny. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją M. Kamińskiego i R. Kartanowicza. *Chromatografia cieczowa*, 7-15. Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego Wydawnictwo CEEAM Politechnika Gdańska, Gdańsk 2004.
36. Kartanowicz R.: Oznaczanie ilościowe w HPLC. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją M. Kamińskiego i R. Kartanowicza. *Chromatografia cieczowa*, 166–173. Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego Wydawnictwo CEEAM Politechnika Gdańska, Gdańsk 2004.
37. Witkiewicz Z.: Podstawy chromatografii, Wydawnictwo Naukowo Techniczne, Warszawa, 2005.
38. [47] Mertelmans K., Zeiger E.: The Ames Salmonella/microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 455: 29–60, 2000.
39. Claxton L.D., Matthews P.P., Warren S.H.: The genotoxicity of ambient outdoor air, a review: Salmonella mutagenicity. *Mutation Research*, 567: 347–399, 2004.
40. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Sezonowa zmienność w mutagenności pyłu zawieszonego w Wrocławiu. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 3B: 408–413, 2007.
41. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Mutagenic activity of environmental air samples from the area of Wrocław. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 5: 757–764, 2007.
42. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 lipca 2003 r. w sprawie metod przeprowadzania badań właściwości fizykochemicznych, toksyczności i ekotoksyczności substancji i preparatów chemicznych (Dz. U. Nr 232 z 2003 r. poz. 2343).
43. Traczewska T.M.: Metody biologiczne w kontroli jakości wody. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 435–442, Wrocław 2008.
44. Piekarska K.: Mutagenic effect of main groups of organic pollutants adsorbed on suspended particulate matter (PM₁₀ and PM_{2.5}) collected within Wrocław urban area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 23–35, 2009.
45. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Zastosowanie testu preinkubacyjnego jako metody zwiększenia wykrywalności mutagennych zanieczyszczeń powietrza aglomeracji miejskiej bakteryjnym testem Ames (testem Salmonella). *Medycyna Środowiskowa*, 9, 2: 87–95, Sosnowiec 2006.
46. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Effect of microsomal fraction induction on the detectability of mutagenic air pollutants by means of the Ames bacterial mutagenicity test. *Environment Protection Engineering*, 32, 4: 15–23, 2006.

47. Hagiwara Y., Watanabe M., Oda Y., Sofuni T., Noemi T.: Specificity and sensitivity of Salmonella typhimurium YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of nitroreductase and acetyltransferase activity. *Mutation Research*, 291: 171–180, 1993.
48. Maron D.M., Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173–215, 1983.
49. Zwoździak J., Zwoździak A.: Charakterystyka i zmienność stężeń pyłów PM₁₀ i PM_{2,5} w atmosferze we Wrocławiu. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Anny Matusiak – Piotrowskiej i Jana Rutkowskiego: *Ochrona powietrza atmosferycznego. Osiągnięcia w nauce, energetyce i przemyśle*. Politechnika Wrocławska, 863: 239–242, Wrocław 2006.
50. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian – microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31: 347–364, 1975.
51. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 3 marca 2008 r. w sprawie poziomów niektórych substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 47 z 2008 r. poz. 281).
52. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 6 czerwca 2002 r. w sprawie dopuszczalnych poziomów niektórych substancji w powietrzu, alarmowych poziomów niektórych substancji w powietrzu oraz marginesów tolerancji dla dopuszczalnych poziomów niektórych substancji (Dz. U. Nr 87 poz. 796).
53. Straszak K., Szymańska-Kubica L., Zbrojkiewicz R., Caban P., Kluba J.: Raport o stanie środowiska w 2007 roku. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska. Katowice 2007.
54. Praca pod redakcją Zbrojkiewicz E., Sosnowska M., Tyczyński A.: *Zanieczyszczenie atmosfery w województwie śląskim w latach 1999–2000*. Śląska Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna, Katowice 2001.
55. Sosnowska M., Tyczyński A.: Raport o stanie sanitarnym powietrza w województwie śląskim w 2007 roku. Śląska Wojewódzka Stacja Sanitarno – Epidemiologiczna, Katowice 2008.
56. Sosnowska M., Tyczyński A.: Raport o stanie sanitarnym powietrza w województwie śląskim w 2009 roku. Śląska Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna, Katowice 2010.
57. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 17 grudnia 2008 r. w sprawie dokonywania oceny poziomów substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 5 z 2009 r. poz. 31).
58. Sosnowska M., Pastuszka J.S.: Wstępne wyznaczenie ryzyka nowotworowego populacji generalnej na obszarze Górnośląskiego Okręgu Przemysłowego, generowanego inhalacją benzo(a)pirenu, z uwzględnieniem narażenia historycznego. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczńskiego. *Ochrona powietrza w teorii i praktyce*, 2: 283–293. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.
59. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 26 stycznia 2010 r. w sprawie wartości odniesienia dla niektórych substancji w powietrzu (Dz. U. Nr 16 z 2010 r. poz. 87).

Adres do korespondencji:
 mgr inż. Agnieszka Kozłowska
 Zakład Szkodliwości Chemicznych
 i Toksykologii Genetycznej
 Pracownia Toksykologii Genetycznej
 Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego
 ul. Kościelna 13, 41-200 Sosnowiec
 Tel: +48 32 6341194; fax: +48 32 2661124
 e-mail: a.kozłowska@imp.sosnowiec.pl