

Raport serii PRE 16/2000

**MUTAGENNOŚĆ
ZANIECZYSZCZEŃ ZAADSORBOWANYCH
NA PYLE ZAWIESZONYM W ATMOSFERZE
W ŚRODOWISKU MIEJSKIM**

Rozprawa doktorska

mgr Piotr Jadczyk

Promotor: prof. dr hab. inż. Jerzy Zwoździak

Projekt finansowany przez KBN – grant 6/P04G 083 16

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie atmosfery
 wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne
 nitroareny
 test Ames
 test drożdżowy
 GC-MS

Wrocław 2000

Redaktor Naukowy
Instytutu Inżynierii
Ochrony Środowiska
dr inż. Józef Kurońka

Autor dziękuje:

- Panu prof. dr hab. inż. Jerzemu Zwoździakowi za opiekę merytoryczną w trakcie wykonywania pracy
- Pani mgr inż. Izabeli Sówce za współpracę przy poborze prób pyłu zawieszonego
- Pani dr hab. inż. Grażynie Gryglewicz, Panu dr inż. Stanisławowi Gryglewiczowi oraz Panu inż. Jerzemu Kucharczykowi za wykonanie analiz GC-MS
- Pani Zofii Malcharek i Panu mgr Januszowi Dachowi za fachowe i sumienne przygotowanie podłoży mikrobiologicznych
- Pani mgr Marii Iwone Pawlik za ofiarną i fachową pomoc przy wykonywaniu testów Ames

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	7
1.1. Cel pracy	7
 2. STUDIA LITERATUROWE	9
2.1. Mutagenność a kancerogenność	9
2.2. Związki genotoksyczne zanieczyszczające atmosferę	10
2.3. Źródła zanieczyszczeń genotoksycznych w atmosferze	11
2.4. Czynniki kształtujące genotoksyczność zanieczyszczeń atmosfery	12
2.5. Metody badania genotoksyczności zanieczyszczeń pyłowych atmosfery	14
2.5.1. Pobór prób	14
2.5.2. Ekstrakcja prób	15
2.5.3. Oznaczenia fizykochemiczne	15
2.5.4. Potrzeba badań biologicznych	16
2.5.5. Przegląd biotestów stosowanych do oceny mutagenności zanieczyszczeń atmosfery	16
2.5.5.1. Test Amesa	16
2.5.5.2. Test na szczepie <i>Salmonella typhimurium</i> TM 677	19
2.5.5.3. SOS chromotest	19
2.5.5.4. Test umu	20
2.5.5.5. Test drożdżowy	20
2.5.5.6. Testy na trzykrotce <i>Tradescantia paludosa</i>	21
2.5.5.7. Indukcja mutacji letalnych pyłku <i>in vivo</i>	22
2.5.5.8. Test mikrojądrowy	22
2.5.5.9. Test SMART	23
2.5.5.10. Test wymiany chromatyd siostrzanych	23
2.5.5.11. Badanie aberracji chromosomowych	24
2.5.5.12. Aneuploidia	25
2.5.5.13. Test na kinazę tymidynową	25
2.5.5.14. Badanie adduktów DNA	26
2.5.5.15. Badanie transformacji nowotworowej	27
2.6. Podsumowanie	27

3. METODYKA BADAŃ	29
3.1. Pobór i przygotowanie prób	29
3.2. Chromatograficzny rozdział ekstraktów	29
3.3. Badania fizykochemiczne metodą GC-MS	30
3.3.1. Analiza jakościowa	30
3.3.2. Analiza ilościowa WWA	31
3.4. Badania bioindykacyjne	31
3.4.1. Test Ames	31
3.4.1.1. Szczepy bakteryjne <i>Salmonella typhimurium</i>	32
3.4.1.2. Metodyka wykonania testu Ames	33
3.4.2. Test drożdżowy	34
3.4.2.1. Szczep drożdżowy <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	34
3.4.2.2. Metodyka wykonania testu drożdżowego	35
3.4.3. Metodyka przedstawienia wyników	35
 4. WYNIKI	 37
4.1. Wyniki analiz fizykochemicznych	37
4.1.1. Sezonowa zmienność stężenia pyłu i jego składu	37
4.1.2. Zróżnicowanie składu frakcji chromatograficznych pyłu latem i zimą	37
4.1.2.1. Skład frakcji alifatycznych	38
4.1.2.2. Skład frakcji aromatycznych	38
4.1.2.3. Skład frakcji polarnych	39
4.1.2.4. Skład subfrakcji polarnych	39
4.1.3. Przestrzenne zróżnicowanie stężeń pyłu i zaadsorbowanych na nim zanieczyszczeń	40
4.1.3.1. Zróżnicowanie stężeń pyłu	40
4.1.3.2. Zróżnicowanie ilości i składu związków organicznych zaadsorbowanych na pyłach	41
4.2. Wyniki testu Ames	42
4.2.1. Wrażliwość szczepów testowych <i>Salmonella typhimurium</i>	42
4.2.2. Wpływ aktywacji metabolicznej na mutagenność pyłu	42
4.2.3. Sezonowa zmienność mutagenności pyłu w centrum Wrocławia	43

4.2.3.1. Zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny	43
4.2.3.2. Sezonowa zmienność udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu	45
4.2.3.3. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny od stężenia pyłu zwieszonego PM 10 i zaadsorbowanych na nim związków organicznych	46
4.2.4. Mutagenność frakcji chromatograficznych pyłu zawieszonego PM 10 w centrum Wrocławia	47
4.2.4.1. Mutagenność ekstraktów całkowitych	47
4.2.4.2. Mutagenność frakcji alifatycznych	47
4.2.4.3. Mutagenność frakcji aromatycznych	48
4.2.4.4. Mutagenność frakcji polarnych	48
4.2.4.5. Mutagenność subfrakcji polarnych	49
4.2.5. Przestrzenne zróżnicowanie mutagenności pyłów	50
4.2.5.1. Zróżnicowanie objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutagenny	51
4.2.5.2. Zróżnicowanie udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów	52
4.2.5.3. Zależność stężenia i mutagenności pyłu od natężenia ruchu samochodowego	53
4.2.5.4. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny od fizykochemicznych parametrów zanieczyszczenia atmosfery	54
4.3. Wyniki testu drożdżowego	54
5. DYSKUSJA	55
5.1. Mutagenność pyłu zawieszonego	55
5.1.1. Korelacja między dawką zanieczyszczonego powietrza wywołującą efekt mutagenny a fizykochemicznymi parametrami zanieczyszczenia atmosfery	55
5.1.2. Mutagenność frakcji chromatograficznych pyłów	56
5.1.3. Sezonowe i przestrzenne zróżnicowanie genotoksyczności pyłów w środowisku miejskim	57
5.1.4. Skutki aktywacji metabolicznej pyłu zawieszonego	58
5.1.5. Udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów	59
5.2. Przydatność stosowanych biotestów do oceny właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery	59

5.2.1. Przydatność testu Amesa	59
5.2.1.1. Dobór szczepów testowych	60
5.2.2. Przydatność testu drożdżowego	61
6. WNIOSKI	63
7. LITERATURA	65
8. ZAŁĄCZNIKI	81
8.1. Podłoża mikrobiologiczne i roztwory	81
8.2. Tabele	84
8.3. Ryciny	108
8.4. Spis tabel	158
8.5. Spis rycin	162

1. WSTĘP

Teza:

Szereg zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym jest mutagenna. Monitoring fizykochemiczny zanieczyszczeń atmosfery powinien być uzupełniony badaniem mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza testem Ames.

Zanieczyszczenia mutagenne mogą stanowić niewielką część wszystkich zanieczyszczeń. Występują w śladowych ilościach, a szkodliwe skutki ich działania ujawniają się po wielu latach [145]. Należą do nich przede wszystkim związki organiczne, głównie WWA i ich pochodne, zwłaszcza nitrowe i aminowe [123, 165]. Większość z nich zaadsorbowana jest na drobinach pyłu zawieszonego, występują także w postaci gazowej (lotnej i półlotnej) [23, 155]. Najwięcej związków mutagennych zaadsorbowanych jest na najdrobniejszej – respirabilnej frakcji pyłu [29, 146]. Nieorganiczne zanieczyszczenia gazowe: CO, NO_x, SO₂, O₃ wykazują jedynie aktywność komutagenną. Reagując z zanieczyszczeniami organicznymi tworzą z nimi mutagenne pochodne [105].

Badania dotyczące właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń powietrza prowadzone są od czasu wynalezienia i rozpowszechnienia testów na mutagenność, czyli od drugiej połowy lat 70-tych [24, 31, 118, 149]. Dotychczas prowadzono je głównie w miastach, czyli na obszarach o największym zanieczyszczeniu powietrza atmosferycznego i jednocześnie największej koncentracji ludności, dla której zanieczyszczenia te stanowią zagrożenie zdrowotne [11, 21, 24, 31, 43, 49, 53, 54, 87, 90, 121, 131, 149, 150, 155, 162, 171, 172]. Badania takie przeprowadzone były głównie w krajach Europy Zachodniej [11, 31, 49, 87, 121, 131, 171], Ameryki Północnej [24, 53, 54, 162, 172] oraz w Japonii [43, 90, 149, 150]. W Polsce badania nad właściwościami mutagennymi pyłowych zanieczyszczeń powietrza prowadzono dotychczas na Górnym Śląsku [101-107, 115, 143], w Warszawie [76] i we Wrocławiu [1-3, 73, 116].

1.1. Cel pracy

Celem pracy był dobór biotestu do oceny właściwości mutagennych zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym, wskazanie na potrzebę monitorowania sezonowego i przestrzennego zróżnicowania właściwości mutagennych pyłu zawieszonego w środowisku wielkiej aglomeracji miejskiej na przykładzie Wrocławia (640 000 mieszkańców). Dzięki zastosowaniu szczepów *Salmonella typhimurium* o podwyższonej wrażliwości na mutagenne

działanie nitrowych pochodnych WWA określono zróżnicowanie udziału tych zanieczyszczeń w mutagenności badanych pyłów. Metodą GC-MS określono jakościowy skład zanieczyszczeń odpowiedzialnych za mutagenne właściwości badanych pyłów. Ilościowo określona została zawartość 16 WWA z listy EPA uważanych za reprezentatywny wskaźnik zanieczyszczeń genotoksycznych. Powyższe dane pozwoliły na wskazanie części miasta i pory roku o największej aktywności genotoksycznej pyłowych zanieczyszczeń powietrza.

O wyborze testu Amesa zadecydowała jego wrażliwość i powszechność zastosowania w badaniach nad mutagennością zanieczyszczeń atmosfery [np. 21, 22, 43, 131] oraz wysoka zdolność prognozowania kancerogenności związków mutagennych [69]. Powszechnie stosowany szczep TA 98 wykazuje stosunkowo niewielką wrażliwość na działanie nitrowych pochodnych WWA. Dlatego też zastosowano szczepy YG 1021, YG 1024 o zwiększonej wrażliwości. Zawierają one plazmidy z dodatkowymi genami kodującymi enzymy metabolizujące nitrowe i aminowe pochodne WWA do form aktywnych mutagennie. Są to nitroreduktaza i *O*-acetylotransferaza. Enzymy te są wprawdzie obecne w komórkach szczepów macierzystych, lecz ich aktywność jest niewystarczająca do czulej indykacji wymienionych związków. Nitroareny i aminy aromatyczne jako takie nie działają na DNA lecz wymagają przemiany do odpowiednich hydroksyloamin, a następnie estryfikacji katalizowanej przez *O*-acetylotransferazę. Nitroreduktaza katalizuje redukcję grupy nitrowej do aminowej, przekształcając nitroareny w hydroksyloaminy. W celu ujawnienia aktywności czynników promutagennych zastosowano 10% frakcję mikrosomalną wątroby szczurzej S9.

Test drożdżowy dotychczas tylko raz [131] zastosowano w badaniach mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza stwierdzając, że zanieczyszczenia te w niewielkim stopniu powodują powstawanie u *Saccharomyces cerevisiae* D7 mutacji mitochondrialnego DNA, mitotycznej konwersji genowej w *locus trp5* i rewersji mutacji w *locus ilv1-92*. Podjęto więc próbę wywołania rewersji mutacji w *locus ade2* szczepu *Saccharomyces cerevisiae* XV 185-14C. O wyborze tego testu zadecydowała jego komplementarność do testu Amesa. W dotychczasowych badaniach [131] okazał się on wrażliwy na mutagenne działanie tych prób pyłu, które były niemutagenne w teście Ames.

2. STUDIA LITERATUROWE

2.1. Mutagenność a kancerogenność

Związki organiczne obecne w pyłach zanieczyszczających atmosferę powodują szereg typów mutacji stwierdzanych za pomocą rozmaitych organizmów testowych, od bakterii [123], poprzez drożdże [131], trzykroćkę *Tradescantia* [83, 86] i muszki owocowe *Drosophila melanogaster* [76] do komórek ssaczych hodowanych *in vitro* [26] i ssaków *in vivo* [73]. Są to także komórki ludzkie [10]. Mutacje te dotyczą zarówno DNA w nukleotydach organizmów prokariotycznych [123] jak jądrowego [10, 131] i mitochondrialnego [131] DNA organizmów eukariotycznych. Są to mutacje różnych typów: punktowe zmiany fazy odczytu i zmiany par zasad [123], postępujące i wsteczne [131], chromosomowe [10], zmiany liczby chromosomów [102], powstawanie mikrojąder [10].

Niektóre mutacje prowadzą do stopniowego rozchwiania i dezorganizacji genomu na skutek indukowania kolejnych mutacji. Komórka normalna stopniowo przekształca się w nowotworową. Nowotwory złośliwe rozwijają się w wyniku kumulacji specyficznych mutacji. Taki mechanizm powstawania nowotworów sprawia, że większość mutagenów jest równocześnie kancerogenami. Szacuje się, że 70-80% nowotworów powstaje w wyniku działania różnych czynników środowiskowych. Czas utajenia chorób nowotworowych jest długi i wynosi u człowieka od kilku do trzydziestu lat, w zależności od rodzaju nowotworu i czynnika inicjującego. W tym czasie następują pierwsze, stosunkowo nieliczne, drobne i mało znaczące mutacje, które w klinicznej fazie choroby doprowadzają do dezorganizacji genomu [170].

Kancerogenami są także związki mutagenne zanieczyszczające powietrze, np. WWA, fenole, związki heterocykliczne, dioksyny i furany [107, 1026]. WWA silniej mutagenne są też z reguły silniejszymi kancerogenami [148]. Zachorowalność i śmiertelność na nowotwory płuc wykazują korelację z aktywnością mutagenną pyłowych zanieczyszczeń atmosfery [162] oraz koncentracją benzo(a)pirenu i innych WWA w powietrzu [58, 92]. Pyłowe zanieczyszczenia atmosfery powodują transformację nowotworową komórek ssaków *in vitro* [47, 107, 136, 137, 140]. Ekstrakt organiczny pyłowych zanieczyszczeń atmosfery wstrzykiwany młodym myszom indukował u nich powstawanie nowotworów: gruczolaka płuc, raka gruczolowego płuc, chłoniaka oraz raka komórek mięsaszowych wątroby [38].

2.2. Związki genotoksyczne zanieczyszczające atmosferę

W atmosferze stwierdzono występowanie ok. 2000 różnych zanieczyszczeń [41]. Szereg z nich wchodzi w reakcje z DNA działając mutagennie i kancerogennie. Niektóre z tych zanieczyszczeń występują w postaci gazowej, inne ulegają adsorpcji na pyłe zawieszonym. Najgroźniejsze dla zdrowia ludzkiego są zanieczyszczenia zaadsorbowane na najdrobniejszej – respirabilnej frakcji pyłu zawieszonego (drobiny o średnicy poniżej 2,5 μm). Frakcja ta wnika w głąb dróg oddechowych człowieka i do jego płuc. Najdrobniejsze ziarna pyłu charakteryzują się też stosunkowo dużą powierzchnią adsorpcji, na nich osadza się najwięcej zanieczyszczeń [29, 146, 179].

Najpowszechniej znane są mutagenne i kancerogenne właściwości WWA [28, 79, 90, 122-124, 148], w atmosferze występuje jednak szereg innych zanieczyszczeń o takich właściwościach. Należą do nich aldehydy, fenole, alkiloazotyny, nitroaminy, nitrowe, aminowe i chlorowcowe pochodne WWA, związki heterocykliczne oraz dioksyny i furany [123, 126, 148, 165, Moller i Löfroth 1982 za 105, Sawicki 1977 za 105]. Do mutagenów i kancerogenów zaadsorbowanych na pyłach należą też metale ciężkie [116, 156]. Proporcje pomiędzy wymienionymi zanieczyszczeniami ulegają znacznym wahaniom. Różnią się one też stopniem aktywności mutagennej i kancerogennej. Np. mutagenność węglowodorów aromatycznych wzrasta na ogół z liczbą pierścieni [154], a nitrowe i aminowe pochodne WWA są znacznie bardziej mutagenne od niepodstawionych WWA, z których pochodne te powstały [36, 51]. Często też zanieczyszczenia te działają w śladowych ilościach, np. dioksyny i furany [126]. Z tych też powodów znaczenie grup zanieczyszczeń w ogólnej mutagenności prób pyłu jest zróżnicowane, przy czym najbardziej znane ze swej mutagenności i kancerogenności WWA nie zawsze muszą odgrywać dominującą rolę [31, 107, 160].

Analizowanie kilkuset zanieczyszczeń organicznych w atmosferze byłoby niemożliwe. Często poprzestaje się na analizie 16 WWA rekomendowanych przez EPA lub tylko benzo(a)pirenu [103, 161]. Innym związkiem mogącym pełnić funkcję wskaźnikową jest 2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna powszechnie występujący w pyłach zanieczyszczających atmosferę [88].

2.3. Źródła zanieczyszczeń genotoksycznych w atmosferze

Występujące w atmosferze związki o charakterze mutagennym, głównie o budowie pierścieniowej pochodzą ze źródeł naturalnych i antropogenicznych. Ze źródeł naturalnych pochodzi stosunkowo niewielka część tych zanieczyszczeń [141]. Naturalne mutageny i indukowane przez nie mutacje korzystne dla organizmów były i są motorem ewolucji w ciągu całej, liczącej ok. 3,5 miliarda lat historii życia na Ziemi. Mutacje są jednak zjawiskami stosunkowo rzadkimi, dlatego też naturalne mutacje szkodliwe mają stosunkowo niewielkie znaczenie. Gwałtowny wzrost emisji do atmosfery mutagenów pochodzenia antropogenicznego w ostatnich dziesięcioleciach przyczynił się do wzrostu częstotliwości mutacji w organizmach, także tych, które prowadzą do powstawania chorób nowotworowych.

Naturalnymi źródłami mutagenów organicznych w atmosferze są biosyntezy, procesy biologicznego rozkładu materii organicznej, naturalne pożary i wybuchy wulkanów [143]. Większość występujących w atmosferze związków mutagennych pochodzi jednak ze źródeł antropogenicznych. Powstają one głównie w wyniku spalania paliw stałych i płynnych w paleniskach przemysłowych i domowych oraz silnikach spalinowych. Ulatniają się też w trakcie procesów technologicznych i katastrof oraz podczas spalania odpadów [141, 177]. Badania biologiczne potwierdzają wyniki analiz chemicznych, wykazały one m. in. mutagenne działanie spalin emitowanych przez silniki pojazdów [33, 167], paleniska przemysłowe [77, 78] i domowe [109] oraz spalanie tworzyw sztucznych [173]. Mutagenne były też opary ulatniające się do atmosfery podczas rafinacji ropy naftowej [154].

Spaliny samochodowe są istotnym i stosunkowo najlepiej przebadanym źródłem antropogenicznym mutagenów w atmosferze. Badania na zwierzętach oraz badania epidemiologiczne populacji ludzkich wykazały, że indukują one powstawanie nowotworów, szczególnie płuc [111, 128]. Podobnie jak w przypadku innych zanieczyszczeń atmosfery większa część aktywności mutagennej spalin samochodowych związana jest z ich frakcją pyłową. Najgroźniejsza dla zdrowia jest najdrobniejsza, respirabilna frakcja tego pyłu (o drobinach poniżej 2,5 μm), na której też adsorbuje się najwięcej mutagenów i która najłatwiej dostaje się do dróg oddechowych i płuc. Frakcje lotna i półlotna zanieczyszczeń organicznych wykazują pod tym względem znacznie mniejszą aktywność [33, 52, 167, 178, 179].

Aerozole emitowane przez silniki samochodowe zawierają wiele związków organicznych o zróżnicowanej aktywności mutagennej [8, 9]. Znaczący udział w mutagenności tych pyłów mają nitrowe pochodne WWA. Wskazują na to wyniki badań fizykochemicznych oraz biologicznych testem Amesa z zastosowaniem szczepów *Salmonella*

typhimurium o obniżonej wrażliwości na ich działanie: TA 100 NR, TA 98 NR, TA 98 FR1 i TA 98 DNP [33, 68, 72, 128] oraz otrzymanymi niedawno szczepami *Salmonella typhimurium* o podwyższonej wrażliwości na działanie nitrowych i aminowych pochodnych WWA: YG 1021, YG 1024, YG 1026 [37, 68]. Pył emitowany przez silniki wysokoprężne zawiera też mutageny wysokoprężne, na wykrywanie których pozwala szczep *Salmonella typhimurium* TA 102 [9].

Mutagenność zanieczyszczeń emitowanych przez silniki samochodowe wykazuje korelację z ich ilością i składem. Te zaś zależne są od procesów spalania w silniku determinowanych m. in. przez regulację silnika i prędkość jazdy [114, 168, 169]. Mutagenność spalin rośnie wraz ze wzrostem emisji tlenków azotu [16]. Mutageny obecne w spalinach są nie tylko produktem niezupełnego spalania paliw, powstają też one w wyniku reakcji składników spalin w atmosferze, np. w wyniku iradiacji związków organicznych oraz tlenków siarki i azotu, szczególnie podczas występowania smogu [20].

2.4. Czynniki kształtujące genotoksyczność zanieczyszczeń atmosfery

Głównym czynnikiem kształtującym aktywność mutagenną zanieczyszczeń atmosfery jest skład jakościowy i ilościowy. Czynniki kształtujące skład jakościowy i ilościowy zanieczyszczeń określają też nasilenie ich mutagenności w przeliczeniu na jednostkową objętość powietrza.

Depozycja zanieczyszczeń pyłowych największa jest na obszarach silnie zurbanizowanych i uprzemysłowionych. Tam też aktywność mutagenów obecnych w jednostkowej objętości powietrza jest wyższa niż na obszarach rolniczych. Jednak zanieczyszczenia o charakterze mutagennym zaadsorbowane na pyłach zanieczyszczających powietrze mogą być transportowane wraz z masami powietrza na znaczne odległości od ośrodków przemysłowych, gdzie znajdują się źródła ich emisji [4].

Depozycja i mutagenność zanieczyszczeń atmosfery wykazują zmienność sezonową. W strefie klimatów umiarkowanych w sezonie grzewczym wzrasta emisja zanieczyszczeń, w tym także zanieczyszczeń mutagennych [4, 10, 131].

Wyraźna jest korelacja między mutagennością pyłu pobranego z jednostkowej objętości powietrza a temperaturą. Mutagenność ta jest wysoka przy niskich temperaturach, niska przy wyższych [101]. Wykazuje też ona związek z innymi czynnikami atmosferycznymi wpływającymi na wielkość jego zapylenia jak kierunek wiatru i intensywność opadów atmosferycznych [4, 158].

Na wzrost mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery wpływ ma także obecność w atmosferze innych, niemutagennych zanieczyszczeń, takich jak: tlenki azotu, dwutlenek siarki, tlenek węgla i ozon [77, 95, 117, 157, 158]. Wykazują one aktywność komutagenną. Zjawisko to może mieć dwie przyczyny. Zanieczyszczenia pyłowe i gazowe mają te same źródła emisji, stąd korelacja ich zawartości w atmosferze. Szereg związków organicznych reaguje w atmosferze z zanieczyszczeniami gazowymi, np. tlenkami azotu [117, 180, 181]. Dwutlenek azotu reaguje z rodnikami węglowodorowymi dając nitrowe pochodne węglowodorów, także aromatycznych. Ozon reaguje z węglowodorami, w wyniku tej reakcji powstają rodniki węglowodorowe. Utlenia on też tlenek azotu do dwutlenku azotu. W wyniku reakcji tlenku węgla i dwutlenku siarki z tlenem atmosferycznym powstaje ozon i odpowiednio dwutlenek węgla lub trójtlenek siarki. Wzrost zawartości ozonu w atmosferze wpływa zatem na zwiększenie stężenia rodników węglowodorowych i dwutlenku azotu, a więc substratów, z których powstają m. in. nitroareny [39, 46]. Dlatego wzrost stężenia NO_2 w atmosferze powoduje wzrost stężenia w niej nitropochodnych WWA [120]. Związki powstające w wyniku nitrowania związków aromatycznych są bardziej mutagenne od substratów, z których powstały [45, 97, 123, 151, 152].

Reakcje zanieczyszczeń zachodzące w atmosferze mogą prowadzić do powstawania bardziej lub mniej mutagennych produktów [76]. Czynnikiem sprzyjającym reagowaniu ze sobą poszczególnych zanieczyszczeń jest promieniowanie UV [125, 132]. Na ogół fotodekompozycja obniża jednak mutagenność zanieczyszczeń atmosfery [43]. Powstawanie wtórnych zanieczyszczeń atmosfery ma miejsce podczas smogu. Należą do nich m. in. nitrowe pochodne WWA.

Związki zanieczyszczające atmosferę wykazują też działanie synergistyczne (powodują łącznie efekt biologiczny wielokrotnie wyższy od sumy działania poszczególnych składników mieszaniny). Przykładem może być synergizm mutagenności niektórych WWA występujących w powietrzu [59]. Możliwe jest też wzajemne obniżanie aktywności mutagennej i rakotwórczej przez zanieczyszczenia występujące łącznie.

Zanieczyszczenia ulegają przemianom chemicznym nie tylko w atmosferze, ale także po wniknięciu do organizmów. Niektóre z nich ulegają detoksykacji katalizowanej u kręgowców przede wszystkim przez enzymy wątroby. Inne, zwane promutagenami czyli mutagenami pośrednimi ulegają pod wpływem tych enzymów aktywacji do mutagenów bezpośrednich. Przykładem może być benzo(a)piren ulegający przemianom enzymatycznym do mutagennego i kancerogennego 7,8-dihydrodiol-9,10-*trans*-epoksydu. Ulega on też

utlenianiu do chinonów, z których powstają 6-fenoksyrodniki wchodzące w reakcje z DNA [142, 174].

2.5. Metody badania genotoksyczności zanieczyszczeń pyłowych atmosfery

2.5.1. Pobór prób

Próby pyłowych zanieczyszczeń atmosfery do badania ich właściwości genotoksycznych pobiera się najczęściej na filtry szklane [4, 11, 43, 49, 50, 87, 101-104, 106, 107, 131, 162, 171, 172]. Zatrzymują one cząstki pyłu o mniejszych rozmiarach niż filtry wykonane z teflonu i teflonu powlekanego włóknem szklanym. Filtry szklane mają nawet zdolność zatrzymywania węglowodorów lotnych [122]. W celu poboru gazowej frakcji zanieczyszczeń organicznych część badaczy wykorzystuje żywicę Amberlite XAD-2 [96, 120, 167], rzadziej piankę poliuretanową [116] lub węgiel drzewny [44]. Materiały te umieszcza się zwykle za filtrami lub stosuje jako jedyny sposób poboru.

2.5.2. Ekstrakcja prób

Filtry z zaadsorbowanym na nich pyłem ekstrahuje się najczęściej w aparacie Soxhleta za pomocą rozpuszczalników organicznych, takich jak: benzen [43, 101-104, 106, 171], dichlorometan [1-3, 11, 49, 50, 54, 121, 172], metanol [4, 31, 87, 150], aceton [131], toluen [131], cykloheksan [87, 121]. Stosowane są też inne metody ekstrakcji, np. z użyciem łązni ultradźwiękowej [127]. Niewiele jest danych na temat wpływu użytego rozpuszczalnika na wielkość efektu mutagennego w biotestach. Stosowane są różne czasy ekstrakcji: np. 20 minut z zastosowaniem ultradźwięków [127], 6-48 godzin w aparacie Soxhleta [4, 27, 43, 44, 121].

Rozpuszczalniki stosowane do ekstrakcji mutagenów zaadsorbowanych na cząsteczkach pyłu nie zawsze mogą być wprowadzone do testów, gdyż są toksyczne dla organizmów testowych. Wówczas odparowuje się je na wyparce próżniowej a następnie zawiesza próbę w innym rozpuszczalniku, który może być wprowadzony do testu bez wpływu na jego wynik. Najczęściej jest to DMSO [4, 43, 49, 50, 101-104, 106, 150, 162], rzadziej etanol [31].

W celu precyzyjnego określenia grup związków chemicznych odpowiedzialnych za aktywność mutagenną uzyskany ekstrakt poddaje się frakcjonowaniu. Często stosowaną

metodą jest sekwencyjna chromatografia elucyjna (SESC) [31, 40, 49, 90, 101-104, 106, 107, 171, 172].

2.5.3. Oznaczenia fizykochemiczne

Uzyskane frakcje poddawane są analizie fizykochemicznej za pomocą chromatografii cieczowej HPLC [131], kapilarnej chromatografii gazowej [87, 106, 172] lub chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową [11, 155, 172]. Występowanie na pyłach wielu związków organicznych utrudnia ich analizę. Ponadto związki odpowiedzialne za aktywność mutagenną mogą nie dominować ilościowo w badanych ekstraktach. Dla ułatwienia analizy frakcja WWA bywa oddzielana za pomocą odpowiednich rozpuszczalników i badana dalej wymienionymi technikami analitycznymi.

Nieliczni badacze ograniczają analizę fizykochemiczną do badania zawartości benzo[a]pirenu w ekstrakcie traktując ten związek jako reprezentatywny wskaźnik obecności substancji mutagennych [43]. Jest to jednak uproszczenie, które pomija szereg innych związków mutagennych.

2.5.4. Potrzeba badań biologicznych

Badania fizykochemiczne wykazują obecność związków mutagennych w atmosferze, ale są niewystarczające do oceny stopnia aktywności genotoksycznej zawartych w niej zanieczyszczeń. Jest to możliwe wyłącznie na podstawie badań biologicznych. Reakcja organizmu testowego jest bowiem naturalną odpowiedzią na wypadkową aktywność badanej próby, która jest wynikiem wzajemnych interakcji jej składników.

Badanie aktywności genotoksycznej powietrza można prowadzić *in vitro* - poddając hodowle komórek lub organizmy doświadczalne działaniu ekstraktów zanieczyszczeń lub *in vivo* - badając organizmy narażone na działanie zanieczyszczonego powietrza w ich środowisku. W obu przypadkach bada się zmiany w materiale genetycznym ekspozowanych komórek [105]. Dotychczas stosowanych jest ponad 100 testów krótkoterminowych pozwalających na ocenę właściwości mutagennych badanej próby. Najpowszechniejszy w użyciu jest test Ames. Dla potwierdzenia wyników tego testu stosuje się szereg innych testów krótkoterminowych. Jednak zaledwie kilkanaście z nich zastosowano dotychczas w badaniu właściwości mutagennych zanieczyszczeń pyłowych. Wyniki testów krótkoterminowych dotyczą aktywności mutagennej badanej próby wobec stosowanego w

teście materiału biologicznego. Są one podstawą do prognozowania mutagennego wpływu próby na komórki ludzkie i ewentualnego działania kancerogennego.

Badania długoterminowe pozwalają na ocenę rzeczywistej kancerogenności u zwierząt doświadczalnych. Ich wadą jest jednak długi - dwuletni okres oczekiwania na odpowiedź. Czas ten można uznać za wystarczający w przypadku wprowadzania na rynek nowego preparatu, np. leku lub pestycydu, natomiast w przypadku badania prób środowiskowych, np. ekstraktów organicznych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery potrzebna jest szybka odpowiedź. Testy krótkoterminowe mogą dać odpowiedź w ciągu kilku dni od pobrania próby. Dlatego są one najczęściej stosowane w badaniach prób pobranych ze środowiska, mimo, że pozwalają tylko pośrednio wnioskować o wpływie badanych substancji na zdrowie ludzkie.

2.5.5. Przegląd biotestów stosowanych do oceny mutagenności zanieczyszczeń atmosfery

2.5.5.1. Test Ames

Jest to najpowszechniej stosowany test pozwalający na ocenę potencjalnych właściwości mutagennych badanych prób. Stosuje się w nim bakterie *Salmonella typhimurium* mające wadę genetyczną polegającą na niezdolności do wytwarzania histydyny [5, 89]. Objawia się ona brakiem wzrostu na podłożu bez tego aminokwasu. Pod wpływem mutagenu dodanego do podłoża dochodzi do mutacji powrotnej przywracającej komórkom zdolność wytwarzania histydyny. Przejawia się to wzrostem bakterii na podłożu bez tego aminokwasu. Test Ames charakteryzuje wysoka wrażliwość oraz wartość prognozowania kancerogenności związków mutagennych [69]. Wykazuje on też znaczną zgodność wyników z innymi testami, także w badaniu mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Np. Walker i wsp. [162] stwierdzili korelację między wynikami badania mutagenności powietrza testem Ames a zachorowalnością i śmiertelnością szczurów na nowotwory płuc. Z tych powodów jest on zalecany jako test "pierwszorutowy" w badaniu mutagenności. Jest on też najpowszechniej stosowany do badania właściwości mutagennych zanieczyszczeń atmosfery [1-4, 10, 11, 26, 31, 43, 49, 87, 90, 97, 101-, 103, 104, 106, 116, 118, 121, 131, 150, 155, 162, 171, 172]. Wg Instytutu Medycyny Środowiska w Sztokholmie test Ames powinien być stałym elementem badań monitoringowych atmosfery [144].

Procedura testu opracowana przez Maron i Ames [89] przewiduje możliwość stosowania tzw. preinkubacji. Umożliwia ona krótkotrwały kontakt komórek szczepu

testowego z dużym stężeniem badanej próby. Jednak tylko nieliczni badacze decydują się na tę modyfikację procedury [43]. Wyniki pozostałych autorów, uzyskujących w teście Amesa wyraźnie dodatnie wyniki bez stosowania inkubacji wskazują jednoznacznie, że jej zastosowanie w przypadku mutagenów obecnych w atmosferze nie jest konieczne [1-4, 11, 21, 22, 43, 67, 90, 96, 97, 101, 103, 104, 106, 116, 118, 123, 131, 150, 155, 162, 171, 172].

Tylko część związków mutagennych wykazuje bezpośrednią aktywność wobec DNA, część natomiast, nazywana promutagenami, wymaga wstępnej aktywacji. W organizmie człowieka proces ten katalizują enzymy tzw. frakcji mikrosomalnej, wytwarzane głównie w komórkach wątroby. Aby stworzyć *in vitro* warunki zbliżone do panujących w organizmie ludzkim stosuje się w teście aktywację metaboliczną frakcją mikrosomalną S9 otrzymywaną zwykle z wątroby szczurów. Uzyskanie w teście podwyższonej aktywności mutagennej po dodaniu tej frakcji świadczy o obecności w badanej próbce związków o charakterze promutagennym [89].

Spośród wielu szczepów *Salmonella typhimurium* stosowanych w teście Amesa do badania potencjalnych właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery najczęściej stosowane są szczepy TA 98 i TA 100 [1-4, 11, 21, 22, 43, 67, 90, 96, 97, 101, 103, 104, 106, 116, 118, 123, 131, 150, 155, 162, 171, 172]. Szczep TA 98 pozwala na wykrywanie mutacji zmiany fazy odczytu ("frame-shift"), natomiast szczep TA 100 na wykrywanie mutacji polegających na podstawianiu par zasad C-G i A-T. Szczepy te wykazują znaczną wrażliwość na działanie mutagenów zawartych w ekstraktach organicznych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Tylko nieliczni badacze, głównie autorzy starszych prac, stosowali w badaniach nad mutagennością ekstraktów organicznych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery inne szczepy: TA 1535 [31, 67, 118], TA 1537 [31, 67, 118], TA 1538 [24, 31, 67, 87, 118], TA 97 [123]. Pawlaczyk-Szpilowa i wsp. [116] zastosowali szczep TA 102 do badania potencjalnych właściwości mutagennych frakcji nieorganicznej pyłowych zanieczyszczeń atmosfery we Wrocławiu uzyskując wyniki dodatnie dla części prób.

Zastosowanie łącznie ze szczepami TA 98 szczepów TA 98NR [123, 125] i TA 98DNP [123] pozwala ocenić mutagenne działanie pochodnych nitrowych, wobec których szczepy te mają obniżoną wrażliwość. Szczep TA 98NR jest niezdolny do wytwarzania nitroreduktazy, szczep TA 98DNP jest odporny na mutagenne działanie nitropirenów. Obiecujące wydaje się zastosowanie w badaniach nad mutagennością powietrza szczepów TA 98 i TA 100 zmodyfikowanych przez Watanabe i wsp. [36, 51, 164-166]: YG 1021, YG 1024, YG 1026, YG 1029, YG 1041 oraz YG 1042. Szczepy te charakteryzuje wysoka wrażliwość w wykrywaniu mutagenności nitrowych i aminowych pochodnych związków aromatycznych. Są to typowe zanieczyszczenia atmosfery powstające głównie podczas spalania paliw.

Wrażliwość tych szczepów wynika z obecności plazmidów zawierających dodatkowe geny odpowiedzialne za syntezę nitroreduktazy (YG 1021, YG 1026), *O*-acetyltransferazy (YG 1024, 1029) lub obu tych enzymów równocześnie (YG 1041, YG 1042). Dzięki dodatkowym genom szczepy te stają się wielokrotnie bardziej wrażliwe na obecność nitrowych i aminowych pochodnych związków aromatycznych w porównaniu ze szczepami macierzystymi. Np. pod wpływem 1-nitropirenu, 2-nitropirenu i 2-nitrofluorantenu szczep YG 1021 ulega rewersji 20-50 krotnie wyższej niż TA 98. Ta podwyższona wrażliwość jest szczególnie użyteczna w wykrywaniu w atmosferze produktów reakcji transformacyjnych [99]. Zwiększona wrażliwość na nitroareny jest cechą bardzo pożądaną w badaniach mutagenności powietrza ponieważ związki te mają poważny udział w aktywności genotoksycznej zanieczyszczeń atmosfery. Są one wytwarzane podczas spalania oraz (jak 2-nitrofluoranten i 2-nitropiren) w trakcie procesów transformacyjnych w atmosferze w rodnikowych reakcjach nitrowania WWA [6].

Omawiane szczepy znalazły już pierwsze zastosowania w badaniu powietrza oraz zanieczyszczeń emitowanych do atmosfery. Morris i wsp. [99] wykorzystali szczep YG 1021 do badania pyłu zawieszonego w silnie uprzemysłowionym rejonie Kanady (Hamilton, Ontario) wykazując znaczną korelację między aktywnością mutageną frakcji respirabilnej a jej zachowaniem w polu magnetycznym. Depollock i wsp. [32] zastosowali szczepy YG 1021 i YG 1026 do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery przed, w trakcie i po huraganie stwierdzając mutagenną aktywność nitroarenów po ustaniu huraganu. Azuma i wsp. [7] stwierdzili, że mutagenność powietrza w zadymionych przez palaczy tytoniu pomieszczeniach zamkniętych wobec szczepów YG 1024, YG 1029, YG 1041 i YG 1042 jest wyższa w dzień niż w nocy. Szczep YG 1021 zastosowali Pruul i wsp. [119] w badaniu narażenia pracowników koksowni w pn.-wsch. Estonii, zaś szczep YG 1041 zastosowany został przez Cerną i wsp. [17] do oceny narażenia na działanie zanieczyszczeń środowiskowych kobiet pracujących na powietrzu w Bochemii (Czechy). Hughes i wsp. [68] zalecają stosowanie szczepów o zmienionej aktywności nitroreduktazowej, m. in. YG 1021 i YG 1026 do oceny właściwości mutagennych emisji samochodowych i zanieczyszczeń powietrza. Zastosowanie szczepu YG 1024 pozwoliło na stwierdzenie, że wyekstrahowany ze spalin samochodowych i pyłów zanieczyszczających atmosferę 3-nitro-7Hbenz(d,e)antracen-7-on jest bardziej mutageny od 1,8-dinitropirenu zauważanego przedtem za najbardziej aktywny mutagen bezpośredni obecny w spalinach samochodowych i zanieczyszczeniach pyłowych atmosfery, wynik ten potwierdzono testem mikrojądrowym [37].

2.5.5.2. Test na szczepie *Salmonella typhimurium* TM 677

Bakterie *Salmonella typhimurium* są też wykorzystywane w teście opartym na mutacji postępującej, w przeciwieństwie do testu Amesa opierającego się na mutacji wstecznej. Stosowany jest tu szczep *Salmonella typhimurium* TM 677 niezdolny do wzrostu w obecności 8-azaguaniny (8-AG). Pod wpływem mutagenów zawartych w badanej próbce dochodzi do mutacji w genie transferazy fosforybozylo-ksantynoguaninowej dzięki czemu szczep staje się odporny na toksyczne działanie 8-AG i zaczyna rosnąć. Próbkę uznaje się za mutagenną jeśli liczba kolonii rosnących na podłożu dodatkiem 8-AG i próby badanej jest statystycznie istotnie większa od liczby kolonii mutantów powstałych spontanicznie [35]. Test ten jest dosyć często wykorzystywany w badaniach mutagenności powietrza dając wyniki zbliżone do testu Ames [53, 54].

2.5.5.3. SOS chromotest

Test ten opiera się na indukcji procesu reperacji DNA zwanego systemem SOS. Jest to awaryjny system naprawczy uruchamiany przez komórki bakteryjne w przypadku zaburzeń replikacji DNA. Używa się w nim szczepu *Escherichia coli* K12 PQ37. Specyfiką genomu tej bakterii jest połączenie genu operatora systemu SOS (*sfi A*) z genem kodującym b-galaktozydazę (*lac Z*). Dzięki temu indukcja systemu naprawczego przez czynniki mutagenne obecne w badanej próbce uruchamia jednocześnie aktywność enzymatyczną b-galaktozydazy. Pomiar tej aktywności jest miarą genotoksyczności próby. Podobnie jak w innych testach *in vitro* stosuje się tu aktywację metaboliczną frakcją S9. Badając aktywność fosfatazy alkalicznej, enzymu nie związanego z systemem SOS, można określić toksyczność próby [30].

Test ten wykrywa tylko związki zaburzające proces replikacji DNA, bo tylko wówczas uruchamiany jest system SOS. Związki uszkadzające DNA, a nie wpływające na replikację nie mogą być wykrywane. Mimo to Nylund i wsp. [112] badając mutagenność ekstraktów powietrza oraz gazów spalinowych uzyskali dobrą korelację wyników SOS chromotestu z testem Ames dla szczepu TA 100. Zanim chromotest będzie mógł być stosowany rutynowo konieczne jest uzyskanie większej bazy danych doświadczalnych w celu optymalizacji procedury (21, 22, 26). Biorąc pod uwagę, że jest to test prosty w wykonaniu (potrzebny tylko jeden szczep), szybki (4-5 godzin) i tani można przewidywać, że znajdzie on szersze zastosowanie w badaniu genotoksyczności powietrza.

2.5.5.4. Test umu

Test umu jest odmianą SOS chromotestu. Organizmem testowym jest tutaj szczep *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 [113]. Uszkodzenie systemu naprawy błędów w replikacji DNA powoduje ekspresję genu odpowiedzialnego za syntezę galaktozydazy. Mutacje objawiają się wzrostem aktywności tego enzymu. Test ten został opracowany stosunkowo niedawno, znalazł już jednak pierwsze aplikacje w ocenie potencjalnych właściwości mutagennych zanieczyszczeń atmosfery. Wasserkort i wsp. [163] stwierdzili za pomocą tego testu korelację pomiędzy ilością WWA zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym a jego mutagennością. Kołwzan i wsp. [73] porównując wyniki badania mutagenności tych samych prób zanieczyszczeń atmosfery różnymi testami stwierdzili zgodność wyników uzyskanych w teście umu i teście Ames.

2.5.5.5. Test drożdżowy

Test drożdżowy [175] pozwala na badanie powstawania mutacji różnego typu. W teście tym stosuje się szczepy drożdży *Saccharomyces cerevisiae* i *Schizosaccharomyces pombe*, które mają wady genetyczne polegające na niezdolności wytwarzania niektórych aminokwasów. Objawiają się one niezdolnością wzrostu na podłożach bez tych aminokwasów. W czasie inkubacji drożdży w obecności mutagenu następuje naprawa tych wad genetycznych u części populacji. Objawia się to zdolnością kolonii do wzrostu na podłożu bez tych aminokwasów. Indukcja mutacji, która prowadzi do defektów w funkcjonowaniu mitochondriów u drożdży może być wykryta poprzez badanie powstawania drobnych kolonii, które nie są zdolne do oddychania tlenowego. Defektywne kolonie charakteryzuje mała wielkość i niezdolność wzrostu w obecności źródeł węgla, które nie ulegają fermentacji, takich jak glicerol.

Rossi i wsp. [131] badali powstawanie niektórych mutacji w szczepie *Saccharomyces cerevisiae* D7 pod wpływem mutagenów wchodzących w skład pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Była to mutacja mitochondrialnego DNA, mitotyczna konwersja genowa w *locus* *trp5*, rewersja mutacji w *locus* *ilv1-92*. Autorzy ci stwierdzili komplementarność zastosowanych testów drożdżowych wobec testu Ames, wykazywały one bowiem mutagenność prób niemutagennych wobec *Salmonella*. Testy drożdżowe były jednak zdecydowanie mniej wrażliwe od testu Ames wobec mutagenów zawartych w większości badanych prób.

Przyczyną mniejszej wrażliwości *Saccharomyces cerevisiae* w porównaniu z *Salmonella typhimurium* może być występowanie błony jądrowej u organizmów eukariotycznych jakimi są drożdże. Błona ta chroni skuteczniej ich materiał genetyczny przed mutagennym działaniem ksenobiotyków. Poza tym zastosowano tu diploidalny szczep drożdżowy, w którym każdy gen występuje w dwóch homologicznych chromosomach. Ewentualna mutacja w jednym genie może być maskowana przez aktywność genu niezmutowanego. Inna jest też struktura ściany komórkowej, która u organizmów eukariotycznych przepuszcza do wnętrza komórki związki o innej budowie.

2.5.5.6. Testy na trzykrotce *Tradescantia paludosa*

Testy te umożliwiają monitorowanie genotoksyczności bezpośrednio w miejscu badania (*in situ*), przez wystawienie roślin na działanie badanego powietrza. Badaniu poddane jest rzeczywiste zanieczyszczenie atmosfery, a nie ekstrakt zanieczyszczeń.

Stosowane są tu łącznie dwa testy: na indukcję mikrojąder w komórkach macierzystych pyłku i na powstanie mutacji we włoskach pręcikowych [82, 83, 159]. Do badań używa się klonów *Tradescantia* BNL 4430, które są heterozygotami w *locus* genowym odpowiedzialnym za kolor włosków. Oznacza to, że w *locus* odpowiedzialnym za barwę włosków pręcikowych występują obydwie odmiany genu, czyli allele. Allel warunkujący barwę niebieską jest dominujący, allel odpowiedzialny za barwę różową - recesywny. Heterozygota ma włoski niebieskie gdyż allel odpowiedzialny za powstawanie tego koloru dominuje nad allelem odpowiedzialnym za powstawanie barwy różowej. W wyniku mutacji allelu dominującego tworzy się homozygota recesywna, u której występują dwa allele recesywne odpowiedzialne za powstawanie barwy różowej. Fenotypowym przejawem takiej mutacji jest zmiana koloru pręcików, a przez to i kwiatów z niebieskiej na różową.

Oba testy tworzą unikalny zestaw umożliwiający określenie na tym samym materiale biologicznym zarówno aktywności klastogennej (indukcja mikrojąder) jak i mutagennej (zmiana zabarwienia). Niezależnie od tego duża wrażliwość sadzonek trzykrotki na działanie chemicznych i fizycznych czynników środowiskowych czyni tę roślinę dobrym wskaźnikiem toksyczności [86].

Testy na *Tradescantia* są stosowane głównie w warunkach polowych do badania jakości powietrza w pobliżu punktowych źródeł zanieczyszczeń, np. wysypisk i spalarni śmieci [83, 86], parkingów-garaży [81], elektrowni jądrowych [108], a także w badaniach *in vitro* w komorach hodowlanych do oceny aktywności genotoksycznej wybranych

zanieczyszczeń [69, 84]. Wyniki badań porównawczych z zastosowaniem innych testów roślinnych wskazują, że trzykrotka jest idealną rośliną do monitorowania mutagenności zanieczyszczeń atmosfery [48].

2.5.5.7. Indukcja mutacji letalnych pyłku *in vivo*

Inną metodą pozwalającą na ocenę genotoksycznego działania zanieczyszczeń atmosfery *in vivo* jest badanie powstawania mutacji letalnych u pyłków roślin rosnących na skażonych terenach. Na wykrywanie tak poważnych wad genetycznych pozwala analiza mikroskopowa pyłków zebranych na badanym obszarze. Kryterium oceny stopnia zanieczyszczenia atmosfery jest tu odsetek mutacji letalnych w badanych próbach pyłków. Autorzy metody zastosowali ją z powodzeniem do oceny właściwości mutagennych zanieczyszczeń atmosfery wokół tradycyjnych zakładów przemysłowych emitujących zanieczyszczenia chemiczne jak i elektrowni jądrowych [93, 108].

2.5.5.8. Test mikrojądrowy

Publikacje dotyczące badania mutagenności zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego testem mikrojądrowym są nieliczne. Badania takie prowadzone są nie tylko na trzykrotce, o czym wspomniano wcześniej, ale i na komórkach ssaków: najczęściej szpiku kostnego [56] i komórkach krwi obwodowej [55], *in vitro* [10] i *in vivo* [73, 101].

Autorzy tych prac donoszą zarówno o uzyskaniu wyników dodatnich [101, 105], jak i ujemnych [14, 73]. W teście tym wynik ujemny jest mniej wiarygodny niż dodatni [56]. Wiele kancerogenów nie powoduje powstawania mikrojąder. Jedną z ważniejszych przyczyn tego zjawiska jest powinowactwo tkankowe niektórych mutagenów i związana z tym ewentualność indukowania zmian genetycznych w tkankach innych niż użyte w teście [73]. Np. nitrozoaminy przenikają w pierwszej kolejności do wątroby tam są szybko metabolizowane przez co nie docierają do szpiku kostnego i nie wywołują w nim zmian. Test mikrojądrowy nie reaguje też, lub reaguje słabo, na aminy aromatyczne i związki chloropochodne [98]. Niektóre mutageny nie działają ponadto w warunkach toksyczności ostrej, z jaką mamy do czynienia w teście mikrojądrowym. Wyniki dodatnie w tym teście są natomiast wysoce istotne.

2.5.5.9. Test SMART

Test pozwala na badanie mutacji somatycznej i rekombinacji na muszkach owocowych *Drosophila melanogaster*. Objawiają się one deformacjami włosków na skrzydłach. Test ten został już zaadaptowany do badania mutagenności substancji smołowych zawartych w pyłe zawieszonym [75]. Jego zaletą jest to, że przy kosztach porównywalnych do testów bakteryjnych pozwala oceniać mutagenne działanie substancji na organizmy eukariotyczne, jest on też stosunkowo prosty w wykonaniu i nie wymaga prowadzenia kultur tkankowych. Pozwala to przewidywać, że test ten może w najbliższym czasie znaleźć kolejne aplikacje w ocenie genotoksyczności zanieczyszczeń atmosfery.

Badanie mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery w Warszawie wykazało, że wyższa zawartość pyłu w atmosferze zimą niż latem pociąga za sobą wyższą mutagenność powietrza w przeliczeniu na m³ powietrza. Mutagenność pyłu w centrum jest wyższa niż na obrzeżach miasta [76].

2.5.5.10. Test wymiany chromatyd siostrzanych

Badanie to pozwala wykryć wymianę fragmentów chromatyd siostrzanych w obrębie chromosomu. Komórki przez 2 pokolenia hodowane są w obecności 5-bromodeoksyurydyny. Zostaje ona wbudowana w powstające nici DNA w miejscu tyminy. Po kolejnych podziałach wzrasta liczba nici DNA zawierających 5-bromodeoksyurydynę. Po pierwszej replikacji jedna nić DNA w jednej chromatydzie zawiera ten związek, po dwóch podziałach obie nici DNA jednej z chromatyd oraz jedna nić DNA drugiej chromatydy. Technika wybarwiania fluorescencyjnego pozwala na odróżnienie chromatyd oraz obserwację indukowanych przez badany mutagen wymian fragmentów chromatyd siostrzanych [49, 50].

Badanie wymiany chromatyd siostrzanych jest najczęściej po teście Amesa stosowanym sposobem oceny potencjalnych właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery [4, 10, 13, 25, 26, 49, 50, 74, 80, 121, 134, 135, 138, 139, 155]. Test ten jest wrażliwy na działanie mutagenów ekstrahowanych z pyłu zawieszonego i wykazuje zgodność wyników z testem Amesa [10, 121, 155], testem aberracji chromosomowych [4, 10, 50] i testem mikrojądrowym *in vitro* [10]. Wysoka była też zgodność pomiędzy zdolnością indukowania wymiany chromatyd siostrzanych *in vitro* a kancerogennością u gryzoni przez 73 badane związki chemiczne [147].

Do badania indukcji wymiany chromatyd siostrzanych przez mutageny wchodzące w skład pyłowych zanieczyszczeń atmosfery najczęściej stosowane są limfocyty ludzkie [10, 13, 49, 50, 61, 74, 80, 134, 135, 138, 139], rzadziej komórki tkanki płucnej V79 [4, 25], komórki nabłonka oskrzeli [60-64] i komórki jajowe chomika chińskiego [26, 121, 155]. Wydaje się jednak, że do badania mutagenności zanieczyszczeń atmosfery najbardziej odpowiednie są komórki tkanek budujących narządy układu oddechowego człowieka. Komórki te w największym stopniu narażone są na działanie tej grupy zanieczyszczeń, najlepiej też odzwierciedlają działanie zanieczyszczeń na organizmy ludzkie.

2.5.5.11. Badanie aberracji chromosomowych

Test ten pozwala wykryć zmiany w strukturze i liczbie chromosomów powodowane działaniem badanych substancji. Czynniki indukujące zmiany tego typu określane są mianem klastogenów. Do testu wykorzystuje się hodowle tkankowe komórek ssaczych, najczęściej są to fibroblasty pochodzące z komórek jajowych chomika chińskiego (CHO) i limfocyty obwodowej krwi ludzkiej. Komórki hoduje się w obecności badanego mutagenu przez okres potrzebny do zajścia jednego lub dwóch podziałów. Następnie liczy się aberracje chromosomowe (dotyczące obu chromatyd) i chromatydowe (dotyczące jednej z nich).

Test aberracji był jak dotąd sporadycznie wykorzystywany w badaniach mutagenności zanieczyszczeń atmosfery. Stosowano w tym celu limfocyty ludzkie [10, 13, 49, 50, 74] i komórki tkanki płucnej V79 [104]. Wyniki indukowania aberracji chromosomowych przez różne frakcje ekstraktu benzenowego zanieczyszczeń pyłowych były zgodne z wynikami testu Amesa [104]. Test ten okazał się jednak mniej wrażliwy na działanie mutagenów zanieczyszczających atmosferę na Górnym Śląsku. Tylko niektóre z frakcji mutagennych w teście Amesa indukowały powstawanie aberracji chromosomowych. Przyczyną tego zjawiska może być inna organizacja materiału genetycznego u organizmów prokariotycznych (bakterie) i eukariotycznych (ssaki). Stwierdzono natomiast zgodność wyników testu aberracji chromosomowych z indukowaniem wymiany chromatyd siostrzanych [4, 10, 50].

2.5.5.12. Aneuploidia

Aneuploidia polega na nierównomiernym rozdziale chromosomów podczas podziału komórkowego - powinny się one rozdzielić równomiernie, tak aby każda z komórek potomnych otrzymała równą ich liczbę. Prowadzi to do poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu komórek, a nawet całych organizmów. Tak poważne wady genetyczne często są mutacjami letalnymi. Aneuploidię najłatwiej jest obserwować pod mikroskopem w czasie podziałów komórkowych, kiedy to chromosomy są ukształtowane i wyraźnie widoczne.

Motykievicz i wsp. [102] wykazali, że benzenowy ekstrakt pyłów zanieczyszczających atmosferę na Górnym Śląsku indukował powstawanie aneuploidii w komórkach tkanki płucnej V79. Wyniki tego testu były zgodne z wynikami indukcji aresztu mitotycznego przez badany ekstrakt.

2.5.5.13. Test na kinazę tymidynową

W teście tym bada się powstawanie mutacji w komórkach ssaków. Często stosuje się hodowle komórek mysich [66], a w badaniu mutagenności zanieczyszczeń atmosfery - ludzkich komórek płucnej tkanki nabłonkowej [54].

Kinaza tymidynowa (TK) jest enzymem katalizującym fosforylację tymidyny i jej analogów, które w postaci ufosforylowanej mogą być wbudowane w łańcuch DNA. Jeżeli hodowle prowadzi się na pożywce zawierającej toksyczne analogi tymidyny (np. BrdU) wówczas zostaną one dzięki kinazie wbudowane w DNA powodując śmierć komórek. Jeżeli jednak komórki zostaną poddane działaniu próby badanej, to w przypadku obecności w niej związków mutagennych dojdzie do mutacji w genie kinazy tymidynowej i zaprzestania produkcji enzymu. Umożliwi to zmutowanym komórkom wzrost na pożywce z toksycznym analogiem tymidyny pełniącym funkcję czynnika selekcyjnego. Wzrost komórek świadczy o mutagennej aktywności próby. W teście stosuje się komórki będące heterozygotami w *locus* TK (TK +/-). Mutacja w tym *locus* powoduje powstanie homozygoty (TK/-) i utratę zdolności do wytwarzania kinazy. Niezdolność do wytwarzania tego enzymu nie jest cechą letalną. W ten sposób można wykrywać różne typy mutacji m. in. delecję i zmianę fazy odczytu [69]. Komórki testowe mogą być wzbogacone o dodatkowe geny zwiększające ich wrażliwość na obecność mutagenów.

Hannigan i wsp. [54] zastosowali do badania mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery w miastach południowej Kalifornii komórki ludzkie płucnej tkanki nabłonkowej

h1A1v2. Zawierają one plazmid pH SRAA z genami enzymu CYP1A1. Enzym ten, należący do grupy cytochromu P-450 wykazuje wysoką aktywność wobec WWA i innych promutagenów przekształcając je w bezpośrednio działające związki genotoksyczne. Test na kinazę tymidynową okazał się wrażliwszy od testu Ames, wskazując na występowanie mutagenów w powietrzu na peryferiach miasta od strony zawiętrznej. Test Ames dawał tam odpowiedzi negatywne [53, 54]. Na mutagenne działanie mutagenów pośrednich obecnych w atmosferze, np. zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym WWA wrażliwe są także inne komórki ze zwielokrotnionymi genami kodującymi enzym PYP1A1, np. hepatocyty i wyróżnicowane komórki wątroby szczurów [18]. Wysoka mutagenność niektórych nitrowych pochodnych WWA obecnych w atmosferze miejskiej w teście kinazy tymidynowej na ludzkich limfoblastoidach B potwierdza, że wcześniejsze stwierdzenie podobnego zjawiska w testach bakteryjnych można odnosić także do organizmu człowieka [34]. Wykorzystanie hodowli komórek ludzkich w badaniach genotoksyczności powietrza stwarza nadzieję na uzyskiwanie bardziej wiarygodnych wyników niż w pozostałych testach. Stosowany układ biologiczny jest tu bowiem maksymalnie zbliżony do organizmu człowieka.

2.5.5.14. Badanie adduktów DNA

Mianem adduktu określa się mutagen połączony wiązaniem chemicznym z nukleotydem DNA. Przy ich ilościowym oznaczaniu korzysta się często z chromatograficznych technik rozdzielania mieszanin, a następnie radiometrycznych, immunologicznych lub spektrofotometrycznych metod detekcji adduktów. Przy badaniu adduktów w organizmach ludzkich istotnym ograniczeniem jest nieinwazyjność nowotworów. Często korzysta się z materiału zastępczego, badając obecność adduktów DNA w moczu lub limfocytach krwi obwodowej, nie zaś w tkankach dotkniętych chorobą nowotworową. Badania bezpośrednie możliwe są tylko na tkankach usuniętych w wyniku interwencji chirurgicznych. Mimo tych ograniczeń metoda badania adduktów DNA pozwala potwierdzić związki przyczynowo-skutkowe między ekspozycją na wybrane zanieczyszczenia a zachorowalnością na nowotwory [126]. Dotychczasowe badania nad tworzeniem adduktów DNA przez zanieczyszczenia atmosfery, takie jak WWA wskazują, że częstotliwość ich powstawania jest wyższa zimą niż latem [12, 57], addukty DNA stanowią około połowy adduktów tworzonych przez zanieczyszczenia atmosfery, częściej powstają one u mieszkańców obszarów przemysłowych niż rolniczych [153]. Liczba aromatycznych adduktów w krwinkach mieszkańców Górnego Śląska wykazywała pozytywną korelację z

liczbą mutacji chromosomalnych powodowanych przez te zanieczyszczenia w testach wymiany chromatyd siostrzanych i aberracji chromosomowych [13].

2.5.5.15. Badanie transformacji nowotworowej

Jest to jedyny rodzaj testu, który pozwala na wykazanie bezpośredniej aktywności kancerogennej zanieczyszczeń atmosfery, nie zaś samej genotoksyczności. Komórki ssaków wzrastają na zagaryzowanym podłożu odżywczym jako jedna warstwa. Przy zetknięciu sąsiadujących ze sobą kolonii złożonych z normalnych komórek następuje zahamowanie ich wzrostu. Pod wpływem kancerogenu dodanego do podłoża komórki mogą ulec uzłośliwieniu czyli transformacji. Ich podziały nie ulegają wówczas zahamowaniu przy zetknięciu się z innymi komórkami. Brak miejsca nie pozwala na rozmnażanie się komórek w płaszczyźnie horyzontalnej, komórki przekształcone układają się wielowarstwowo. W ten sposób kolonia uzłośliwionych komórek jest łatwa do identyfikacji. Wstrzyknięcie zmienionych komórek zwierzętom doświadczalnym powoduje u nich powstanie guzów.

Ekstrakty organiczne pyłowych zanieczyszczeń atmosfery powodowały transformację nowotworową komórek tkanki płucnej V79 [107], komórek zarodków szczurów, myszy i chomików [19, 42, 47] oraz komórek nerek chomików [136, 137, 140].

Niekiedy badania kancerogenezy *in vivo* przybierają postać tzw. testów skórnych, w których ekstrakt pyłu lub jego frakcje nanosi się na skórę zwierząt doświadczalnych i obserwuje powstawanie zmian nowotworowych. W ten sposób Chouroulinoulinkov [19] wykazał aktywność kancerogenną ekstraktu pyłu pochodzącego ze spalin silnika dieslowskiego, a szczególnie jego frakcji aromatycznej.

2.6. Podsumowanie

Genotoksyczność zanieczyszczeń atmosfery jest dobrze udokumentowana. Fakt ten stwierdzano wielokrotnie, w różnych częściach świata stosując różne metody badawcze. Zauważalna jest potrzeba ujednolicenia metod badawczych i opracowywania wyników w sposób umożliwiający ich porównywanie.

Niemal wszystkie opisane wyżej biotesty są wrażliwe na działanie mutagenów i kancerogenów zanieczyszczających atmosferę i nadają się do badania genotoksycznych właściwości tych zanieczyszczeń. Przydatność testu drożdżowego do tego celu jest dyskusyjna i wymaga dalszych badań. Analiza porównawcza zebranych dotychczas wyników

badania genotoksyczności atmosfery wskazuje, że wymienione tu testy bakteryjne dość dobrze odzwierciedlają szkodliwość ekstraktów zanieczyszczeń organicznych dla zdrowia ludzkiego, mimo, że ich materiał genetyczny znacznie różni się od materiału genetycznego organizmów eukariotycznych, w tym człowieka. Ze względu jednak na krótki czas trwania generacji bakterii wyniki uzyskiwane są tu w stosunkowo krótkim czasie. Możliwe jest szybkie podjęcie działań mających na celu poprawę stanu środowiska.

Testy z zastosowaniem organizmów eukariotycznych lepiej odzwierciedlają szkodliwość badanych prób dla ludzi od testów prowadzonych na bakteriach, wymagają one jednak na ogół kosztownego specjalistycznego wyposażenia laboratoriów do prowadzenia kultur tkankowych. Badanie indukowania nowotworów przez próby środowiskowe, w tym próby powietrza wymaga długotrwałej hodowli zwierząt. Wiąże się to z wysokimi kosztami, a wyniki uzyskiwane są po długim czasie. Ze względów humanitarnych w coraz większym stopniu ogranicza się testy związane z zadawaniem cierpień zwierzętom.

Można przypuszczać, że w najbliższych latach nadal będzie rosła baza informacji o mutagenności zanieczyszczeń atmosfery oparta na wynikach testów bakteryjnych, przede wszystkim najbardziej rozpowszechnionego z nich – testu Amesa. Stosowanie powszechnie przyjętej metodyki badawczej ułatwia znacznie porównywanie wyników uzyskanych przez różnych badaczy.

Dlatego też zdecydowano się na zastosowanie testu Amesa do badania sezonowego i przestrzennego zróżnicowania mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery w środowisku wielkiej aglomeracji miejskiej na przykładzie Wrocławia. Uzyskane przez licznych badaczy wyniki dodatnie w tym teście świadczące o mutagennej aktywności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery zostały potwierdzone wieloma innymi, mniej rozpowszechnionymi biotestami. Cytowana wyżej literatura świadczy o wiarygodności tych wyników i przydatności testu Amesa do oceny właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery.

3. METODYKA BADAŃ

3.1. Pobór i przygotowanie prób

Do określenia sezonowej zmienności mutagenności pyłu zawieszonego zastosowano pył zawieszony PM 10 pobrany w centrum Wrocławia (ul. Wierzbowa) w okresie VIII 1997 - VII 1998 (tab. 1 → rozdz. 8.2). Pobierano go na filtry z włókna szklanego STAPLEX TFAG 10 Glass Filters o wymiarach 8" × 10" przy użyciu wysokoobjętościowego aspiratora PM-10 firmy STAPLEX o wydajności 67,8 m³/godz. Przed filtrami umieszczano separator zatrzymujący frakcje pyłu o średnicy większej niż 10 µm. Filtry zmieniano co 24 godziny. W jedną próbę połączono pył zebrany na ok. 20 filtrach z każdego miesiąca.

Do określenia zróżnicowania mutagenności pyłu zawieszonego zastosowano pył pobrany metodą wysokowydajnej aspirometrii w wybranych punktach miasta (ryc. 1 → rozdz. 8.3). Pył pobierano na filtrach szklanych firmy Schleicher & Schuell GS9 o wymiarach 200 × 250 mm bez użycia separatora zatrzymującego frakcje pyłu o średnicy większej niż 10 µm. Filtry zmieniano co 24 godziny. Stosowano aspirometr o wydajności 100 m³/godz. W jedną próbę łączono pył zebrany w każdym punkcie na kilku filtrach (tab. 2 i 3).

Filtry z zatrzymanym na nich pyłem poddano 8 godzinnej ekstrakcji dichlorometanem (Lab-Scan) w aparatach Soxhleta. Części prób przeznaczone do badań fizykochemicznych i rozdziału chromatograficznego pozostawiano w dichlorometanie. Część każdego z ekstraktów przeznaczoną do badań biologicznych odparowywano do sucha i rozpuszczano w dimetylosulfotlenku - DMSO (Fluka), tak aby 0,1 cm³ zawierało ekstrakt 3,2, 1,6, 0,8, 0,4, 0,2 i 0,1 mg pyłu zawieszonego. Tak przygotowane próby wprowadzano do testu Amesa i testu drożdżowego.

3.2. Chromatograficzny rozdział ekstraktów

Metodą chromatografii kolumnowej rozdzielono na frakcje o różnym składzie pył zawieszony PM 10 pobrany przy ul. Wierzbowej. W jedną próbę połączono połowę ekstraktu pyłu pobranego w sierpniu i wrześniu 1997 oraz maju, czerwcu i lipcu 1998 na 122 filtrach (99259,2 m³ powietrza), połowa pyłu zebranego na 106 filtrach (86241,6 m³ powietrza) w listopadzie i grudniu 1997 oraz styczniu, lutym i marcu 1998 stanowił

drugą próbę. Filtry z zatrzymanym na nich pyłem poddano 8 godzinnej ekstrakcji dichlorometanem (Lab-Scan) w aparatach Soxhleta.

Z 3275,4 mg pyłu zawieszonego zebranego w cieplejszej porze roku uzyskano 348,4 mg ekstraktu (10,6%), z 5017,6 mg pyłu zebranego w chłodniejszej części roku uzyskano 1023,6 mg ekstraktu (20,4%).

Połowę tak przygotowanych ekstraktów rozdzielono na frakcje metodą chromatografii kolumnowej przy zastosowaniu sekwencji rozpuszczalników (Lab-Scan) o wzrastającej stopniowo polarności [40, 70]. Badaną próbę osadzano na kulkach szklanych o średnicy 107 μm (Sigma) i umieszczano w szklanej prekolumnie o średnicy 2 cm i długości 30 cm. Pod nią umieszczano kolumnę szklaną o średnicy 2 cm i długości 1 m. Do wydzielenia frakcji węglowodorów alifatycznych użyto heksanu, węglowodorów aromatycznych 15% toluenu w heksanie. Pozostałość określaną mianem frakcji polarnych wypłukano dichlorometanem. Część frakcji polarnych poddano dalszemu frakcjonowaniu. Wypłukiwano je kolejno: chloroformem, 10% eterem dietylowym w chloroformie, 3% etanolu w eterze dietylowym, metanolem, 3% etanolu w chloroformie, 3% etanolu w tetrahydrofuranie. Część ekstraktów pozostających nadal na żelu krzemionkowym wypłukano dichlorometanem. Uzyskane ekstrakty, zwane dalej subfrakcjami polarnymi oznaczono numerami 3-9.

Ekstrakty odparowywano do sucha i rozpuszczano w niewielkiej ilości dichlorometanu do badań fizykochemicznych, a do badań biologicznych w DMSO. Roztwór w DMSO rozcieńczano tak, aby 0,1 cm^3 odpowiadało 6,4, 3,2, 1,6, 0,8, 0,4, 0,2 i 0,1 mg pyłu zawieszonego. Dawka 0,1 mg pyłu pobranego latem odpowiadała 3,0 m^3 a zimą 1,7 m^3 powietrza przepompowanego przez filtr szklany. Tak przygotowane próby wprowadzano do testu Ames.

3.3. Badania fizykochemiczne metodą GC-MS

3.3.1. Analiza jakościowa

Badanie prowadzono na chromatografie gazowym HP 6890 firmy Hewlett-Packard sprzężonym z detektorem masowym HP 5973 z kolumną HP 5 długości 50 m i średnicy wewnętrznej 0,2 mm. Gazem nośnym był hel (prędkość przepływu 0,6 $\text{cm}^3/\text{min.}$). Identyfikację jakościową prowadzono w oparciu o porównanie uzyskanych widm masowych pików chromatograficznych z widmami wzorcowymi z bazy danych NIST-NBS75K.

3.3.2. Analiza ilościowa WWA

Próbkę 16 wzorcowych WWA (Radian International LLC nr katalogowy ERS-011) o stężeniu każdego składnika $2000 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ rozcieńczono mieszaniną benzenu i dichlorometanu (1:1) tak, aby w 1 cm^3 znajdowało się $240 \mu\text{g}$ każdego składnika. Tak przygotowaną próbkę stosowano jako zewnętrzny wzorzec chromatograficzny (tab. 4).

Analizy ekstraktów pyłu zawieszonego metodą GC-MS zostały wykonane przy zastosowaniu aparatu firmy Hewlett-Packard składającego się z chromatografu gazowego HP 680 sprzężonego z selektywnym detektorem mas HP 5973. Chromatograf gazowy wyposażony był w kolumnę kapilarną HP-5 o średnicy $0,25 \text{ mm}$ i długości 30 m . Gaz nośny: hel ($1,4 \text{ cm}^3/\text{min.}$). Próby w ilości $1 \mu\text{l}$ wstrzykiwano do dozownika nagrzanego do temperatury 50°C , w którym po odparowaniu ulegały rozcieńczeniu gazem nośnym w stosunku 1:5. Przez 1 minutę od chwili rozpoczęcia analizy temperatura była stała i wynosiła 50°C . Następnie narastała w ciągu 10 minut do temperatury 310°C . W tej temperaturze kolumna pozostawała przez 35 minut.

Wykonano chromatogram wzorca 16 WWA typu *scan*. Na podstawie uzyskanych danych doświadczalnych oraz danych literaturowych wybrano dla każdego związku charakterystyczne jony fragmentacyjne. W ten sposób wyeliminowano w znacznym stopniu sygnały pochodzące od substancji przeszkadzających obecnych w próbce, które nie były oznaczane. W przypadku prób środowiskowych czynią one chromatogram bardzo złożonym i trudnym do interpretacji. Przy wykonaniu analiz wzorca i badanych ekstraktów pyłu zawieszonego zastosowano opcję SIM (*selective ion mass*) pracy GC-MS. Porównanie uzyskanych danych z wzorcem pozwoliło obliczyć zawartość poszczególnych WWA w analizowanych ekstraktach.

3.4. Badania bioindykacyjne

3.4.1. Test Ames

Zmodyfikowane genetycznie bakterie *Salmonella typhimurium* poddaje się działaniu próby badanej w celu sprawdzenia, czy ulegną one mutacji. Bakterie te, w wyniku celowej mutacji, zostały pozbawione zdolności do syntezy histydyny. Mogą one rosnąć tylko na podłożu zawierającym ten aminokwas. W teście stosuje się pożywkę ze znikomą ilością histydyny co uniemożliwia wzrost bakterii. Jeśli w badanej próbce, dodawanej do pożywki, znajdują się związki mutagenne, to spowodują one tzw.

mutację powrotną (rewersję), która przywróci zmutowanym bakteriom (rewertantom) zdolność syntezy histydyny i umożliwi wzrost. Szczepy stosowane w teście Ames są dodatkowo zmodyfikowane genetycznie w celu zwiększenia wrażliwości na obecność czynników mutagennych. Bakterie te mają uszkodzoną ścianę komórkową (mutacja rfa) co ułatwia wnikanie do komórek dużych cząsteczek mutagenów organicznych. Ich system reperacji DNA jest uszkodzony (Δ uvrB). Sprzyja to ujawnianiu większej liczby przypadków mutacji.

Nie wszystkie związki genotoksyczne wykazują bezpośrednie działanie mutagenne. Część z nich, zwana promutagenami, przejawia aktywność dopiero po uprzedniej modyfikacji chemicznej pod wpływem enzymów wytwarzanych głównie w wątrobie. W celu stworzenia warunków zbliżonych do panujących w organizmie człowieka, stosuje się w teście frakcję enzymatyczną uzyskaną z wątroby szczurzej (S9). Frakcja ta aktywizuje obecne w próbie promutageny.

Miarą aktywności mutagennej badanej próby jest liczba kolonii rewertantów rosnących na płycie. Próbę uznaje się za mutagenną, jeżeli indukuje ona powstanie dwukrotnie większej liczby rewertantów niż w kontroli bez próby badanej [5, 89].

3.4.1.1. Szczepy bakteryjne *Salmonella typhimurium*

Do badań użyto szczep *Salmonella typhimurium* TA 98 otrzymany od prof. B. Ames z Ames Laboratory Department of Biochemistry University of California oraz szczepy YG 1021 i YG 1024 otrzymane od prof. M. Watanabe z Division of Mutagenesis National Institute of Hygienic Science w Tokio.

Szczep TA 98 posiada następujący zestaw markerów genetycznych: his⁻, rfa, Δ uvrB, +R. Szczepy wykorzystywane w teście Ames są mutantami żywieniowymi nie posiadającymi zdolności syntezy histydyny (his⁻). Dodanie do podłoża mutagenu powoduje wzrost częstotliwości reversji i powrót do prototrofii. Przejawia się to wzrostem rewertantów na podłożu minimalnym bez histydyny. Szczepy te mają uszkodzoną ścianę komórkową (rfa), co ułatwia wnikanie do ich komórek dużych cząsteczek mutagenów organicznych. Są one jednak wrażliwe na działanie ampicyliny (+R) oraz promieniowania UV (Δ uvrB). Uszkodzenie systemu reperacji DNA zapobiega naprawie mutacji podczas eksperymentu i powoduje ujawnianie się wszystkich przypadków reversji niezdolności do wytwarzania histydyny.

Szczepy YG 1021, YG 1024, otrzymano w wyniku wprowadzenia do genomu szczepu TA 98 plazmidów zawierających geny odpowiedzialne za syntezę

nitroreduktazy (pYG216) lub *O*-acetylotransferazy (pYG219): YG 1021 = TA 98 (pYG216), YG 1024 = TA 98 (pYG 219) [36, 164-166].

Szczepy testowe przechowywano w postaci hodowli bulionowych z dodatkiem DMSO w temperaturze -70°C. Przed przystąpieniem do wykonania testu bulion (Oxoid) zaszczipiano rozmrożoną hodowlą i inkubowano 12 godzin w temperaturze 37°C. Aby zapobiec utracie plazmidów przez szczepy YG 1021 i YG 1024 do bulionu dodawano ampicilinę i tetracyklinę [51, 164-166].

3.4.1.2. Metodyka wykonania testu Ames

Stosowano procedurę oraz podłoża i roztwory (→ rozdz. 8.1) opisane przez Ames i wsp. [5] oraz Maron i Ames [89]. Do sterylnej probówki (ryc. 2) wlewano 0,5 cm³ buforu fosforanowego (jeżeli nie stosowano aktywacji metabolicznej frakcją S-9) albo taką samą ilość frakcji S-9. Następnie dodawano: 0,1 cm³ badanej próby, 0,1 cm³ całocennej hodowli bulionowej szczepu testowego oraz 2 cm³ TOP-agaru o temperaturze 45°C zawierającego 0,2 cm³ 0,5 mM histydyny i biotyny. Zawartość probówki mieszano i w ciągu 20 sek. wylewano na płytkę Petriego z podłożem minimalnym Vogel i Bonnera. Wszystkie próby wykonywano w 5 powtórzeniach. Płytki inkubowano 48 godzin w temperaturze 37°C. Po tym czasie liczono rewertanty wyrosłe na płytkach. Średnie liczby rewertantów powstałych spontanicznie były zbliżone do podawanych przez Maron i Ames [89], Watanabe i wsp. [164-165] oraz Hagiwara i wsp. [51]. W celu aktywacji metabolicznej promutagenów obecnych w badanych próbach użyto 10% frakcji S9.

W celu sprawdzenia wrażliwości stosowanych szczepów wykonano kontrolę pozytywną poddając bakterie działaniu mutagenu kontrolnego (0,2 µg 2,4,7-trinitro-9-fluorenonu na płytkę bez aktywacji metabolicznej frakcją S9, 10 µg 2-aminofluorenu na płytkę z aktywacją metaboliczną frakcją S9). Wykonano też kontrolę aktywności mutagennej stosowanego rozpuszczalnika (CH₂Cl₂) oraz materiału, z którego wykonane były filtry.

3.4.2. Test drożdżowy

W teście drożdżowym stosuje się szereg różnych szczepów drożdżowych *Saccharomyces cerevisiae* i *Schizosaccharomyces pombe* posiadających markery genetyczne objawiające się niezdolnością do wytwarzania wybranych aminokwasów. Pozwala to na badanie indukowania przez testowane próby różnych rodzajów mutacji.

Zastosowany tutaj haploidalny szczep *Saccharomyces cerevisiae* nie posiada m. in. zdolności syntezy adeniny. Objawia się to czerwonym zabarwieniem kolonii. Niezdolność do wytwarzania adeniny może ulec naprawie w wyniku mutacji punktowej wstecznej. Kolonie drożdży, które odzyskały zdolność wytwarzania tego aminokwasu mają normalne - białe zabarwienie.

Test polega na inkubacji drożdży w obecności badanej substancji. Jeżeli próba powoduje dwukrotny wzrost powrotności do prototrofii w stosunku do kontroli uznaje się ją za mutagenną.

Możliwe jest badanie mutagenności w stosunku do dzielących się komórek drożdży, jeśli inkubacja odbywa się w podłożu odżywczym jak też w stosunku do komórek w fazie stacjonarnej jeżeli inkubacja odbywa się w buforze, roztworze fizjologicznym lub wodzie.

3.4.2.1. Szczep drożdżowy *Saccharomyces cerevisiae*

Stosowano haploidalny szczep *Saccharomyces cerevisiae* XV185-14C [15] pozwalający na badanie mutacji wstecznych otrzymany od dr R. C. von Borstel (Department of Genetics, University of Alberta, Edmonton, Canada). Ma on następujący zestaw markerów genetycznych: MAT a, trp5-48, arg4-17, lys1-1, ade2-1, his1-7, hom3-10. Mutacje występujące w tym szczepie pozwalają na badanie różnych efektów genetycznych. Powodują one niezdolność do samodzielnego wytwarzania tryptofanu, argininy, adeniny, histydyny i homoseryny. Mutacje ade2-1, arg4-17, lys1-1 i trp5-48 są kodonami terminacyjnymi typu ochre (5'-TAA-3'). Pierwsze trzy są rewertowalne przede wszystkim przez supresory ^{tyr}tRNA, Mutacja trp5-48 jest rewertowalna przez wiele supresorów ochre. Mutacja his1-7 jest mutacją z podstawioną zasadą w obrębie *locus* his1. Rewertuje ona przez wewnętrzną supresję bezsensowną, albo przez mutację powrotną. Mutacja arg4-17, używana zwykle do badań rewersji, rewertuje przez traswersję od 5'-TAA-3' do 5'-TAC-3' albo 5'-TAT-3' lub przez traswersję antykodonu ^{tyr}tRNA od 5'-GTA-3' do 5'-TTA-3'. Mutacja hom3-10 jest

mutacją polegającą na dodaniu jednej zasady w obrębie kodonu. Rewersja tej mutacji zachodzi w drodze delekcji lub insercji jednej zasady.

3.4.2.2. Metodyka wykonania testu drożdżowego

Stosowano procedurę testu drożdżowego oraz podłoże YPG (> rozdz. 8.1) opisane przez Zimmermanna [175]. Po inkubacji wstępnej odrzucano hodowle drożdży z wysoką częstotliwością rewersji spontanicznej. Przygotowywano zawiesinę drożdży o gęstości 2×10^8 komórek/cm³ w wodzie destylowanej. Do probówek wprowadzano po 4,5 cm³ płynnej pożywki YPG, 0,5 cm³ zawiesiny drożdży oraz ekstrakt 0,4, 0,8, 1,6 i 3,2 mg pyłu rozpuszczony w 0,1 cm³ DMSO (ryc. 3). Kontrolą obejmowano też bufor, rozpuszczalniki i ekstrakt z czystego filtra szklanego. Mutagenem kontrolnym było 10 µl EMS. Ekspozycja trwała 24 godziny, odbywała się w temperaturze 30°C przy wytrząsaniu hodowli.

Ekspozycję przerywano przez odwirowanie zawiesiny w temperaturze 4°C. Supernatant zlewano, drożdże zawieszano ponownie w 5 cm wody destylowanej. Zawiesinę rozcieńczano, a z rozcieńczeń 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} posiewano dywanowo po 0,1 cm³ na zagaryzowane podłoże YPG (po 5 powtórzeń). Po 4-6 dniach inkubacji liczono kolonie na płytkach, osobno białe, osobno czerwone.

4.4.3. Metodyka przedstawienia wyników

Wyniki przedstawiono w postaci współczynnika mutagenności MR, będącego ilorazem średniej liczby rewertantów indukowanych przez badaną próbę na płytce i średniej liczby rewertantów powstałych spontanicznie, tzn. w kontroli. Zgodnie z procedurą za mutagenne uznawano te próby, dla których współczynnik mutagenności MR był większy lub równy 2,0 i które wykazywały liniową zależność dawka - odpowiedź [5, 89, 175].

Na podstawie przebiegu krzywych dawka-odpowiedź obliczano dla poszczególnych prób masę pyłu powodującą w teście Ames efekt mutageny (MR=2,0) bez aktywacji frakcją S9. Obliczano też objętość zanieczyszczonego powietrza powodującą w teście Ames efekt mutageny (MR=2,0). Odpowiadała ona objętości powietrza zawierającej masę pyłu powodującą efekt mutageny. Wartości te przyjęto jako wskaźnik aktywności genotoksycznej pyłu i jakości zdrowotnej powietrza. Aktywność genotoksyczna jednostkowej masy pyłu jest tym wyższa, im niższa jest

masa potrzebna do uzyskania efektu mutagennego. Narażenie ludności na mutagenne i kancerogenne działanie pyłowych zanieczyszczeń atmosfery jest odwrotnie proporcjonalne do objętości zanieczyszczonego powietrza powodującej w teście Ames efekt mutagenny.

Za pośredni wskaźnik udziału nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów przyjęto iloraz objętości zanieczyszczonego powietrza powodujących efekt mutagenny wobec szczepów TA 98 i YG 1024 z aktywacją frakcją S9. Za pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów przyjęto iloraz objętości zanieczyszczonego powietrza powodujących efekt mutagenny wobec szczepów TA 98 i YG 1021 oraz TA 98 i YG 1024 bez aktywacji frakcją S9.

4. WYNIKI

4.1. Wyniki analiz fizykochemicznych

4.1.1. Sezonowa zmienność stężenia pyłu i jego składu

Średniomiesięczne stężenie pyłu zawieszonego PM 10 (o średnicy mniejszej niż 10 μm) w centrum Wrocławia wahało się w ciągu roku w zakresie 24-70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Najwyższe wartości osiągało ono zimą - w szczycie sezonu grzewczego, najniższe w lecie (ryc. 4). Także ilość związków organicznych zaadsorbowanych na pyłe osiągała najwyższe wartości zimą a najniższe latem (ryc. 5). Zawartość pyłu zawieszonego w atmosferze i jego skład miały wpływ na stężenie w atmosferze związków organicznych, w tym związków o właściwościach mutagennych i kancerogennych (ryc. 6). Stężenie związków organicznych wahało się w zależności od pory roku w zakresie 1,9-17,0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Metodą GC-MS w badanych próbach pyłu zawieszonego pobranego w centrum Wrocławia w różnych porach roku stwierdzono występowanie szeregu związków znanych ze swej promutagennej i mutagennej aktywności (tab. 5-7). Były to WWA z listy EPA, inne WWA oraz ich pochodne nitrowe i aminowe oraz inne związki o budowie pierścieniowej, także zawierające atomy azotu w pierścieniach aromatycznych. Związki te występowały w badanych ekstraktach w znikomych ilościach. W próbach dominowały ftalany, powszechne było występowanie plastyfikatorów.

Próby z miesięcy późnojesiennych, zimowych i wczesnowiosennych zawierały więcej różnych związków niż próby późnowiosenne, letnie i wczesnojesienne. Dotyczy to także związków promutagennych i mutagennych. Może to mieć związek ze zwiększoną emisją zanieczyszczeń w sezonie grzewczym oraz przechodzeniem części zanieczyszczeń do fazy gazowej przy wyższych temperaturach panujących w cieplejszym okresie roku.

4.1.2. Zróżnicowanie składu frakcji chromatograficznych pyłu latem i zimą

Udział procentowy poszczególnych frakcji uzyskanych w wyniku rozdziału ekstraktów metodą chromatografii kolumnowej był w obu próbach podobny, z tym tylko, że w próbce pobranej latem było znacznie mniej węglowodorów aromatycznych (ryc. 7 i 8). Metodą GC-MS zidentyfikowano znacznie więcej związków chemicznych we frakcjach chromatograficznych ekstraktu pyłu pobranego zimą i niż latem.

4.1.2.1. Skład frakcji alifatycznych

Frakcja alifatyczna (rozpuszczalna w heksanie) pyłu pobranego latem zawierała głównie alkany (tetradekan, heksadekan, oktadekan, tetrametyloheksadekan, ejkonozan, henejkozan, dekozan, trikozan, tetrakozan) i alkeny (tetradecen, heksadecen, oktadecen, ejkonozen). W heksanie rozpuściły się ponadto węglowodory aromatyczne: fenantren, fluoren, fluoranten, benzo(ghi)fluoranten) i ich chloropochodne (dichloronaftalen, trichloronaftalen).

Frakcja alifatyczna pyłu pobranego zimą zawierała głównie alkany (dodekan, tridekan, pentadekan, heksadekan, heptadekan, oktadekan, nonadekan, ejkozan, tetrametyloheksadekan, henejkozan, dokozan) i alkeny (tetradecen, tetradecen, heksadecen, oktadecen, dodecen). Obecne były w niej także węglowodory aromatyczne (antracen, metylonaftalen, dimetylonaftalen, etylonaftalen, dibutylohydroksynaftalen) i ich pochodne chlorowcowe (chloronaftalen, dichloronaftalen, trichloronaftalen, tetrachloronaftalen), a także bifenyl i ejkonozol.

4.1.2.2. Skład frakcji aromatycznych

We frakcji aromatycznej (rozpuszczalnej w mieszaninie 85% heksanu i 15% toluenu) wykryto metodą GC-MS tylko jeden węglowodór aromatyczny – benzo(e)piren. Występowały w niej ponadto węglowodory alifatyczne, które nie rozpuściły się w heksanie i przeszły do frakcji rozpuszczalnej w heksanie z dodatkiem 15% toluenu.

Frakcja aromatyczna pyłu pobranego w zimie zawierała przede wszystkim węglowodory aromatyczne (dibutylohydroksytoluen, naftalen, metylonaftalen, dimetylonaftalen, trimetylonaftalen, etylonaftalen, binaftalen, benzofluoren, metylofluoren, antracen, metyloantracen, dimetylofentren, etylofenantren, cyklopentafenatren, fluorantren, benzofluorantren, benzoperylen, chryzen, metylochryzen, dibenzochryzen, piren, metylopiren, dimetylopiren, benzo(a)piren, benzo(e)piren, indeno(1,2,3-cd)piren). Przeszły do niej ponadto węglowodory alifatyczne, które nie rozpuściły się w heksanie oraz eter difenylowy, bifenyl, dimetyloetylofenol, pirydynetion, benzonaftotiofen, benzonaftofuran.

4.1.2.3. Skład frakcji polarnych

Frakcja polarna (zawierająca związki nierozpuszczalne w heksanie i mieszaninie 85% heksanu i 15% toluenu) pyłu pobranego latem zawierała węglowodory aromatyczne (butylohydroksytoluen, naftalen, metylonaftalen, dimetylonaftalen, antracen) oraz pochodne fenolu (nonylofenol, dimetyloetylofenol), ketony aromatyczne (izobenzofuranon, difenylopranedion), pochodną pirazyny, piperonyloaminę, izochinolinę, butylan benzoilu i trifenyloglokol. Występowały w niej ponadto kwasy organiczne i węglowodory alifatyczne.

Frakcja polarna pyłu pobranego zimą zawierała węglowodory aromatyczne (fenantren, dibutylohydroksy toluen, binaftalen), pochodne pirydyny (metylo-pirolidyno-pirydyna), pochodne chinoliny, związki organiczne zawierające siarkę (pochodna tiofenu), metylowe i etylowe pochodne fenolu, ketony (benzofuranon, antron, aminofluorenon, naftacenodion, benzoantracenon), oraz pochodną naftalenu, fenantrenol, kaprolaktam, indolol, piperonol, butalan benzoilu. Występowały w niej ponadto kwasy organiczne i węglowodory alifatyczne.

4.1.2.4. Skład subfrakcji polarnych

Subfrakcja 3 pyłu pobranego latem (rozpuszczalna w chloroformie) zawierała naftalen, metylonaftalen, izobenzofuran, butylan benzoilu, nonylofenol pochodną pirazyny i piperonyloaminę. Subfrakcja 4 tego pyłu (rozpuszczalna w mieszaninie 3% eteru dietylowego i 97% chloroformu) zawierała izochinolinę izobenzofuranon, dimetylonaftalen, nonylofenol i butylan benzoilu. Subfrakcja 5 (rozpuszczalna w 3% etanolu w eterze dietylowym) zawierała nonylofenol, subfrakcja 6 (rozpuszczalna w metanolu) zawierała fenantren, subfrakcja 7 (rozpuszczalna w mieszaninie 3% etanolu i 97% chloroformu) zawierała nonylofenol, subfrakcja 8 (rozpuszczalna w tetrahydrofuranie) zawierała butylohydroksytoluen, subfrakcja 9 (pozostałość rozpuszczalna w dichlorometanie) zawierała antracen. Wszystkie subfrakcje polarne pyłu pobranego latem zawierały ponadto węglowodory alifatyczne, które nie przeszły do wcześniejszych frakcji i kwasy organiczne.

Subfrakcja 3 pyłu pobranego zimą zawierała binaftalen, dimetylonaftalen, dibutylohydroksytoluen, hydroksypiren, naftacenodion, benzoantracenon, cyklopentafenantrenon, izobenzofuranon, aminofluorenon, antron, fenantrenol, nonylofenol, dimetylopropylofenol, metylową i indenową pochodną chinoliny i trimetylodihydropirydynę. Subfrakcja 4 zawierała antracen, nonylofenol, metyloetylidenofenol, tetrametylofenol. Subfrakcja 5 zawierała fenantren, indolol, nonylofenol i tetrametylobutylofenol. Subfrakcja 6

zawierała metylopirrolidyno pirydynę. Subfrakcja 7 zawierała dibutylohydroksytoluen, nonylofenol, tetrabutylofenol, tetrametytobutylofenol, dimetyloetylofenol i metylopirrolidynopirydynę. Subfrakcja 8 zawierała trimetoksychinolinę oraz alifatyczne pochodne fenolu. Subfrakcja 9 zawierała etylonaftalenopropanol oraz alifatyczne pochodne fenolu. Wszystkie subfrakcje polarne pyłu pobranego zimą zawierały ponadto węglowodory alifatyczne, które nie rozpuściły się we wcześniej stosowanych rozpuszczalnikach oraz kwasy organiczne. Metodą GC-MS zidentyfikowano więcej różnych związków organicznych w subfrakcjach polarnych pyłu pobranego zimą niż latem.

4.1.3. Przestrzenne zróżnicowanie stężeń pyłu i zaadsorbowanych na nim zanieczyszczeń

4.1.3.1. Zróżnicowanie stężeń pyłu

Stwierdzone we Wrocławiu stężenia pyłu zawieszonego bez separacji frakcji PM 10 wahały się w zakresie 17-67 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ latem (ryc. 9) i 32-144 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ zimą (ryc. 10). Były one niższe od dopuszczalnego stężenia dla okresu 24 godzinnego [Dz. U. 55/98, poz. 355]. Zróżnicowanie stężenia pyłu w atmosferze na terenie miasta latem i zimą kształtowało się podobnie. Najwyższe wartości wykazywało w centrum miasta, w miejscach o znacznym natężeniu ruchu samochodowego i gęstej zabudowie. Stężenie pyłu było także wysokie przy ul. Chełmońskiego – na willowym osiedlu Biskupin położonym w odległości kilku kilometrów na wschód od centrum miasta. Najniższe stężenia pyłu stwierdzono na peryferiach Wrocławia, gdzie dominuje zabudowa niska, a ruch samochodowy jest znacznie mniejszy niż w centrum.

Stężenia pyłów zimą były na ogół większe niż latem (ryc. 11). Przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze stężenia pyłu latem i zimą były jednakowe. Głównym źródłem zanieczyszczeń atmosfery przy Pl. Grunwaldzkim w dni powszednie były włączone silniki samochodów oczekujących na wjazd na skrzyżowanie przed sygnalizacją świetlną. Emisja ta wydaje się pozostawać na zbliżonym poziomie przez cały rok. Zapylenie atmosfery na osiedlu willowym Biskupin oraz przy Pl. Grunwaldzkim w dni wolne od pracy było niższe zimą niż latem.

4.1.3.2. Zróżnicowanie ilości i składu związków organicznych zaadsorbowanych na pyłach

Ilość związków organicznych zaadsorbowanych na pyłach była zróżnicowana, więcej ich było zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą niż latem, na próbach pobranych w centrum było ich więcej niż w próbach pobranych na peryferiach miasta (ryc. 12-14).

Na badanych pyłach zaadsorbowanych było szereg związków organicznych uważanych za genotoksyczne: wszystkie 16 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z listy EPA (tab. 8-11), inne wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (tab. 12 i 14) oraz szereg innych związków o budowie pierścieniowej (tab. 13 i 15). Były wśród nich nitrowe i aminowe pochodne WWA, fenole i nitrofenole oraz furany i ich pochodne nitrowe. Metodą GC-MS zidentyfikowano więcej związków w próbach pobranych zimą niż latem. Także na pyłach pobranych w centrum miasta zaadsorbowanych było więcej różnych związków organicznych niż na pyłach pobranych na jego peryferiach. W ekstraktach powszechnie występowały plastyfikatory (głównie ftalan dibutyli i bisfenol a).

Zawartość 16 WWA z listy EPA w 1 g pyłu pobranego latem wahała się w zakresie 356-1797 μg (ryc. 15), zimą w zakresie 2627-11383 μg (ryc. 16). Stężenia WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach wahały się w zakresie 8,3-65,7 ng/m^3 latem (ryc. 18) i 75,8-1211,6 ng/m^3 zimą (ryc. 19). Na pyłach pobranych zimą było więc zaadsorbowanych wielokrotnie więcej WWA niż na pyłach pobranych latem (ryc. 17 i 20). Mogło to być spowodowane przechodzeniem większej ilości WWA do fazy gazowej przy wyższych temperaturach panujących w lecie oraz zwiększoną emisją zanieczyszczeń w sezonie grzewczym. Sezonowe zróżnicowanie stężeń w atmosferze było dodatkowo potęgowane przez wzrost zapylenia atmosfery zimą. Sezonowe zróżnicowanie zawartości WWA w 1 g pyłu i ich stężenie w atmosferze było na ogół większe w punktach położonych w centrum miasta niż na jego peryferiach (ryc. 17 i 20). Stężenia WWA w centrum miasta były z reguły wyższe niż na jego obrzeżach.

W każdej z badanych prób wykryto 9-15 różnych WWA z listy EPA. Zarówno latem jak zimą ponad połowę z nich stanowił benzo(a)piren. Zróżnicowanie jego zawartości w pyle i stężenia w atmosferze w zależności od pory roku i miejsca poboru próby wykazywało podobne tendencje jak zawartość w pyle i stężenie w atmosferze sumy WWA z listy EPA (ryc. 21-26). W próbach pobranych latem nie wykryto obecności dibenzo(a,h)antracenu i benzo(g,h,i)peryleny. Występowanie acenaftalenu i acenaftenu stwierdzono zaledwie w jednej

próbie. Acenaftalenu nie wykryto też w próbach pobranych zimą. Benzo(g,h,i)perylen i dibenzo(a,h)antracen występowały sporadycznie (tab. 4-7).

4.2. Wyniki testu Amesa

4.2.1. Wrażliwość szczepów testowych *Salmonella typhimurium*

Wszystkie badane ekstrakty pyłu zawieszonego PM 10 zebrane w centrum Wrocławia w różnych okresach roku (VIII 1997 – VII 1998) oraz pyłu zawieszonego pobranego w różnych punktach Wrocławia (lato 1998 i zima 1998/99) były mutagenne wobec wszystkich użytych szczepów testowych *Salmonella typhimurium* (tab. 16-27 i 50-69). Mutagenne były także ekstrakty całkowite prób pyłu zawieszonego PM 10 pobranych latem i zimą w centrum Wrocławia (tab. 28-29). Pozwala to wnioskować, że w badanych próbach występowały mutageny powodujące mutacje zmiany fazy odczytu, na wykrywanie których pozwala szczep TA 98 i jego pochodne: YG 1021 i YG 1024.

Zastosowane szczepy testowe znacznie różniły się wrażliwością na działanie mutagenów obecnych w badanych ekstraktach. Szczepy YG 1021 i YG 1024 będące pochodnymi TA 98 o podwyższonej aktywności nitroreduktazowej (YG 1021) i *O*-acetylotransferazowej (YG 1024) były zdecydowanie bardziej wrażliwe od szczepu macierzystego TA 98. Świadczy to o znaczącym udziale nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu zawieszonego i pyłu zawieszonego PM 10. Szczep YG 1021 okazał się wrażliwszy od szczepu YG 1024 na działanie mutagenów obecnych w części prób. W innych przypadkach było odwrotnie. Świadczy to o zróżnicowanej skuteczności ich aktywacji przez dwa różne enzymy, katalizujące różne reakcje w zależności od składu poszczególnych prób.

4.2.2. Wpływ aktywacji metabolicznej na mutagenność pyłu

Aktywacja metaboliczna frakcją S9 zwiększała mutagenność badanych ekstraktów pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia w różnych okresach roku wobec szczepu TA 98. Świadczy to o obecności promutagenów w pyłe zawieszonym PM 10. Mogą to być związki grupy WWA wykryte metodą GC-MS.

Aktywacja metaboliczna prób pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia w różnych okresach roku powodowała zróżnicowaną reakcję szczepów YG 1021 i YG 1024. Część prób wykazywała spadek mutagenności świadczący o częściowej

detoksykacji zawartych w nich mutagenów, część wzrost mutagenności świadczący o aktywacji zawartych w nich promutagenów. Niektóre próby wykazywały spadek aktywności w niższych i wzrost w wyższych stężeniach. Przyczyną tak zróżnicowanych efektów aktywacji metabolicznej były prawdopodobnie jakościowe i ilościowe różnice składu chemicznego badanych prób. Frakcja S9 jest mieszaniną wielu enzymów. Badane ekstrakty były mieszaniną wielu związków chemicznych. W każdej z prób pod wpływem enzymów wątroby szczurzej zawartych we frakcji S9 następowały zapewne procesy aktywacji promutagenów i detoksykacji mutagenów. Odpowiedź uzyskiwana w teście była wypadkową tych procesów. Szczepy YG 1021 i YG 1024 mają własne systemy aktywacji metabolicznej nitrowych pochodnych WWA w postaci zwiększonej zdolności wytwarzania nitroreduktazy i *O*-acetylotransferazy. *O*-acetylotransferaza w połączeniu z utleniającym działaniem cytochromu P-450 obecnego we frakcji S9 aktywuje też aminowe i hydroksyloaminowe pochodne WWA do form aktywnych mutagennie. W przypadku prób pyłu pobranego we Wrocławiu efekt mutagennego działania amin aromatycznych mógł być maskowany przez inne promutageny aktywowane przez frakcję S9. Odrębnych badań, wykraczających poza zakres i cel tej pracy wymaga stężenie frakcji do testów z zastosowaniem szczepu YG 0124. Uzyskane wyniki badań biologicznych i fizykochemicznych wskazują ponadto na większy udział nitroarenów niż amin aromatycznych w mutagenności pyłów pobranych we Wrocławiu. Dlatego też w dalszym toku badań (mutagenność frakcji chromatograficznych pyłu i przestrzenne zróżnicowanie jego mutagenności) zrezygnowano ze stosowania aktywacji metabolicznej frakcją S9 w testach ze szczepami YG 1021 i YG 1024. System aktywacji tych szczepów jest wystarczający do indykacji udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu zawieszonego.

Większość prób pyłu pobranego w różnych punktach Wrocławia latem i zimą była bardziej mutagenna wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej frakcją S9 niż z aktywacją. Świadczy to o dominacji w nich mutagenów bezpośrednich. Metodą GC-MS wykryto w ekstraktach tych pyłów także szereg mutagenów pośrednich z grupy WWA.

4.2.3. Sezonowa zmienność mutagenności pyłu w centrum Wrocławia

4.2.3.1. Zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny

Obliczone na podstawie wyników testu Ames objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutageny ($MR=2,0$) wykazywały znaczne zróżnicowanie w zależności od wrażliwości użytego szczepu i pory roku, kiedy pobrany został badany pył (ryc. 27-29).

W przypadku szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 objętości te wahały się od $1,2 \text{ m}^3$ w grudniu 1997 do $16,6 \text{ m}^3$ w lipcu 1998. Objętości te były najmniejsze zimą, wzrastały stopniowo w okresach przejściowych, a największe wartości osiągały w miesiącach letnich. Przyczyny tego zjawiska były złożone. Na pyłe pobranym w zimie zaadsorbowanych było najwięcej związków organicznych (ryc. 5). Ilość tych związków stopniowo malała w okresach przejściowych (wiosna, jesień), najmniej było ich latem. Świadczy o tym ilość ekstraktu uzyskiwanego z prób pyłu pobieranego w różnych miesiącach. Pył pobierany zimą był najsilniej mutageny, latem najmniej. Także stężenie pyłu w atmosferze osiągało najwyższe wartości zimą a najniższe latem (ryc. 4). Wzrost aktywności mutagennej zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym PM 10 w zimie i jej spadek latem mógł mieć trzy przyczyny. Przy wyższych temperaturach panujących latem część zanieczyszczeń przechodzi do fazy gazowej, zimą są one zaadsorbowane na pyłach. Emisja pyłu i zaadsorbowanych na nich mutagenów wzrasta w sezonie grzewczym i wiąże się ze zwiększonym zużyciem paliw stałych. Zimą zwiększa się też o kilkanaście procent zużycie paliw płynnych w pojazdach samochodowych.

Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu YG 1021 bez aktywacji frakcją S9 także była najmniejsza w zimie ($0,2 \text{ m}^3$ w XI 1997), stopniowo wzrastała w okresach przejściowych a największe wartości osiągała latem ($2,9 \text{ m}^3$ w VIII 1997).

Mniejsze wahania sezonowe wykazywała objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu YG 1024 bez aktywacji frakcją S9 ($0,3 \text{ m}^3$ w XII 1997 i $1,4 \text{ m}^3$ w VIII 1997). Szczep ten dzięki podwyższonej aktywności *O*-acetylotransferazowej posiada zwiększoną wrażliwość na mutagenne działanie nitrowych, a w obecności frakcji S9 także aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA. Głównym źródłem emisji tego rodzaju zanieczyszczeń do atmosfery są silniki spalinowe. Zimą spalają one wprowadzić o kilkanaście procent paliwa więcej ale natężenie ruchu

samochodowego w centrum miasta utrzymuje się przez cały rok na zbliżonym, wysokim poziomie.

Wzrost mutagenności powietrza w zimie i jej spadek w lecie widoczny był także w testach z zastosowaniem aktywacji metabolicznej frakcją S9. Dotyczy to wyników uzyskanych z zastosowaniem wszystkich trzech użytych tutaj szczepów *Salmonella*. Enzymy frakcji S9 zmieniały wprawdzie aktywność badanych prób powodując aktywację lub detoksykację zawartych w nich mutagenów, ale nie zmieniało to ogólnego obrazu zmian sezonowych.

4.2.3.2. Sezonowa zmienność udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu

Aby umożliwić porównywanie tego udziału w różnych miejscach i okresach roku wprowadzono w prezentowanej pracy pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu. Wskaźnik ten jest ilorazem objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutageny wobec szczepu TA 98 i YG 1021 oraz TA 98 i YG 1024.

Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA dla szczepu YG 1021 w mutagenności pyłów PM 10 pobranych w centrum miasta w różnych okresach roku wahał się w zakresie 3,4-20,2 (ryc. 31) i był w większości przypadków wyższy od pośredniego wskaźnika udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024. Jego wartość wahała się w zakresie 2,4-13,8 (ryc. 30). Udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu był najwyższy latem, najniższy zimą. W przypadku szczepu YG 1024 wahania sezonowe tego wskaźnika były mniejsze. Świadczy to o większej skuteczności nitroreduktazy niż *O*-acetyltransferazy w aktywacji metabolicznej nitroarenów obecnych w badanych próbach. Indywidualna odpowiedź poszczególnych prób może być zależna od ich składu.

Niższe wartości wskaźnika udziału nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów (iloraz objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutageny wobec szczepu TA 98 i YG 1024 z aktywacją metaboliczną) świadczą o mniejszym udziale aminowych i hydroksyloaminowych niż nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów pobranych w centrum Wrocławia (ryc. 32.). Udział aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA mógł też być maskowany przez inne promutageny obecne w badanych próbach, np. WWA. Także one ulegają aktywacji

przez enzymy obecne we frakcji S9. Frakcja S9 powodowała zróżnicowaną odpowiedź *Salmonella* na działanie badanych prób. Aktywność tych prób malała w niskich a rosła w wysokich stężeniach. Utrudniało to interpretację wyników. Dobór odpowiedniego stężenia frakcji S9 do testów z zastosowaniem szczepu YG 1024 wykraczał poza ramy i cel tej pracy. Dlatego też w dalszym toku badań zrezygnowano z analizowania łącznego udziału nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu, porzeczając na badaniu udziału samych nitroarenów.

4.2.3.3. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny od stężenia pyłu zawieszonego PM 10 i zaadsorbowanych na nim związków organicznych

Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutageny wykazywały zależność od stężenia pyłu zawieszonego PM 10 w atmosferze (ryc. 33). Objętości te były największe przy najniższych stężeniach pyłu w miesiącach letnich, malały w miesiącach przejściowych (wiosennych i jesiennych), a najniższe wartości osiągały zimą, w szczycie sezonu grzewczego, kiedy stężenie pyłu zawieszonego w atmosferze było najwyższe. Wyróżniał się sierpień 1997. Stężenie pyłu w atmosferze było wówczas porównywalne z miesiącami wiosennymi i jesiennymi. Mutagenność zanieczyszczonego powietrza była jednak mimo to niska, podobnie jak w innych miesiącach letnich. Prawidłowości te dotyczyły wszystkich zastosowanych tu szczepów *Salmonella* zarówno bez jak i z aktywacją metaboliczną.

Jeszcze większą zależność stwierdzono między objętością zanieczyszczonego powietrza wywołującą efekt mutageny a stężeniem w atmosferze związków organicznych zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym (ryc. 34). Zimą stężenie pyłu zawieszonego było najwyższe, na pyłe tym zaadsorbowana była też największa ilość związków organicznych rozpuszczalnych w dichlorometanie. Dlatego też stężenie związków organicznych, a wśród nich zapewne mutagenów i kancerogenów rosło w sezonie grzewczym w większym stopniu niż stężenie pyłu zawieszonego.

Stężenie pyłu zawieszonego ani zaadsorbowanych na nim związków organicznych nie było jednak dokładnym odzwierciedleniem aktywności mutagennej powietrza. Wynikało to zapewne z różnic w składzie poszczególnych prób. Różnice takie zostały stwierdzone metodą GC-MS. Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy wielkością aktywności mutagennej zanieczyszczeń atmosfery przypadających na jednostkową objętość powietrza a stężeniami nieorganicznych zanieczyszczeń gazowych.

4.2.4. Mutagenność frakcji chromatograficznych pyłu zawieszonego PM 10 w centrum Wrocławia

4.2.4.1. Mutagenność ekstraktów całkowitych

Obydwie badane próby pyłu były mutagenne wobec wszystkich zastosowanych szczepów *Salmonella typhimurium* (tab. 28-29). Próba zimowa była bardziej mutagenna od letniej. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej wynosiła 6,2 m³ zimą i 21,2 m³ latem.

Aktywacja metaboliczna próby zimowej powodowała wzrost jej aktywności mutagennej. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu TA 98 z aktywacją metaboliczną potrzebny był pył z 1,7 m³. Świadczy to o występowaniu w pyłe zimowym związków o charakterze promutagenów. Aktywacja metaboliczna próby letniej powodowała spadek jej aktywności mutagennej. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny w teście z zastosowaniem szczepu TA 98 i aktywacji metabolicznej wynosiła 30,3 m³. Wskazuje to na częściową detoksykację mutagenów zaadsorbowanych na pyłe pobranym latem.

Szczepy o podwyższonej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej okazały się bardziej wrażliwe na działanie mutagenne badanych prób niż szczep macierzysty TA 98. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu YG 1021 wynosiła 1,3 m³ zimą i 3,3 m³ latem. W przypadku szczepu YG 1024 objętości te wynosiły 0,4 m³ zimą, a 2,5 m³ latem. Świadczy to o znaczącym udziale nitrowych pochodnych WWA w mutagenności zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym.

Współczynniki mutagenności (MR) ekstraktów całkowitych były niższe od sumy MR poszczególnych frakcji. Na pyłe zawieszonych zaadsorbowanych jest wiele różnych zanieczyszczeń aktywnych biologicznie. Ich działanie może się nawzajem wzmacniać albo osłabiać. Odpowiedź uzyskana w teście jest wypadkową tych interakcji.

4.2.4.2. Mutagenność frakcji alifatycznych

Frakcje węglowodorów alifatycznych (tab. 30-31) obydwu prób okazały się niemutagenne w badanym zakresie stężeń wobec wszystkich zastosowanych tu szczepów testowych.

4.2.4.3. Mutagenność frakcji aromatycznych

Frakcja węglowodorów aromatycznych pyłu pobranego latem w badanym zakresie stężeń była niemutagenna wobec wszystkich użytych szczepów testowych (tab. 32). Próba ta w porównaniu z próbą zimową była jednak bardzo uboga w związki chemiczne. Metodą GC-MS wykryto w niej jeden związek z grupy WWA – benzo(e)piren. Stanowiła ona 13 krotnie mniejszą część całej próby latem niż zimą (0,3% i 3,9%).

Frakcja węglowodorów aromatycznych pyłu pobranego w zimie była mutagenna wobec wszystkich zastosowanych szczepów *Salmonella* (tab. 33). Mutagenność tej frakcji wzrastała pod wpływem aktywacji metabolicznej. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu TA 98 wynosiła 31,0 m³ bez i 6,5 m³ z aktywacją metaboliczną. Liczne węglowodory aromatyczne są znanymi mutagenami pośrednimi. W trakcie przemian enzymatycznych w organizmach kręgowców, katalizowanych głównie przez enzymy mikrosomalne wątroby powstają z nich związki o bezpośrednim działaniu genotoksycznym. Klasycznym przykładem jest benzo(a)piren ulegający przemianom enzymatycznym do mutagennego i kancerogenego 7,8-dihydrodiol-9,10-*trans*-epoksydu. Ulega on też utlenianiu do chinonów, z których powstają 6-fenoksyrodniki wchodzące w reakcje z DNA [174]. Szczepy YG 1021 i YG 1024 były bardziej wrażliwe od szczepu macierzystego TA 98 na działanie mutagenne węglowodorów aromatycznych zaadsorbowanym na pyłe pobranymi zimą. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu YG 1021 wynosiła 3,3 m³, a wobec szczepu YG 1024 3,7 m³. Świadczy to o występowaniu w tej frakcji śladowych ilości nitrowych pochodnych WWA. Ze względu na występowanie w znikomych ilościach były maskowane przez inne związki i dlatego nie zostały wykryte metodą GC-MS.

4.2.4.4. Mutagenność frakcji polarnych

Aktywność mutagenna frakcji polarnych (tab. 34-35) była zbliżona do aktywności mutagennej nierozfrakcjonowanych ekstraktów pyłu zawieszonego. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej wynosiła 5,2 m³ zimą i 28,8 m³ latem. Przy zastosowaniu aktywacji metabolicznej objętość ta wynosiła: 3,0 m³ zimą i 31,8 m³ latem. Umiarkowany wzrost mutagenności frakcji polarnej pyłu pobranego zimą wobec szczepu TA 98 pod wpływem aktywacji metabolicznej świadczy o występowaniu w niej niewielkich ilości promutagenów.

Mogą to być polarne WWA, których obecność stwierdzono metodą GC-MS. W skład tych frakcji wchodziło ponadto wiele innych związków, które można podejrzewać o aktywność genotoksyczną. Podobnie jak w przypadku próby nierozfrakcjonowanej i opisanych wyżej frakcji składających się głównie z węglowodorów aromatycznych frakcja polarna pyłu pobranego zimą okazała się bogatsza pod względem chemicznym i bardziej mutagenna. Większa wrażliwość szczepów YG 1021 i YG 1024 w porównaniu ze szczepem macierzystym TA 98 świadczy o znaczącym udziale nitrowych pochodnych WWA w aktywności mutagennej frakcji polarnych zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny wobec szczepu YG 1021 wynosiła zimą 0,4 m³, latem 2,4 m³. W przypadku szczepu YG 1024 objętości te wynosiły: 0,5 m³ zimą i 2,5 m³ latem.

4.2.4.5. Mutagenność subfrakcji polarnych

Subfrakcje polarne pyłu zawieszonego w centrum Wrocławia pobranego latem i zimą różniły się aktywnością mutageną (tab. 36-49). Subfrakcje 3, 5 i 6 były bardziej mutagenne zimą, subfrakcja 4 latem, subfrakcje 7 i 8 wykazywały aktywność mutageną tylko w lecie. Latem najbardziej mutagenne były subfrakcje 3 i 4, subfrakcje 5-8 były mutagenne w znacznie mniejszym stopniu. Subfrakcje Z3 i Z6 (subfrakcje pyłu pobranego zimą oznaczono „Z”, latem „L”) wykazywały znacznie większą mutagenność od innych subfrakcji pyłu pobranego w zimie.

Wszystkie subfrakcje polarne pyłu pobranego latem były niemutagenne wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9. Subfrakcje L3 i L4 wykazywały aktywność mutageną po aktywacji metabolicznej. Świadczy to o występowaniu w tych subfrakcjach promutagenów ulegających pod wpływem enzymów wątroby aktywacji do związków o bezpośrednim działaniu mutagennym. Subfrakcje L3-L8 były mutagenne wobec szczepu YG 1021 o podwyższonej wrażliwości na działanie nitroarenów. Subfrakcje L5, L7 i L8 były mutagenne tylko wobec szczepu YG 1021. Pozwala to wnioskować, że za aktywność tych subfrakcji odpowiedzialne są wyłącznie nitrowe pochodne WWA. Subfrakcje L3, L4 i L6 były mutagenne wobec szczepu YG 1024 o podwyższonej wrażliwości na działanie nitroarenów. Pochodne nitrowe odgrywały obok mutagenów pośrednich istotną rolę w aktywności mutagennej związków polarnych zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym pobranym w lecie. Subfrakcja L9 była niemutagenna wobec wszystkich zastosowanych szczepów testowych.

Subfrakcje Z3, Z5 i Z6 były mutagenne wobec szczepu TA 98 bez i z aktywacją metaboliczną. W subfrakcjach tych występowały związki o bezpośredniej aktywności mutagennej. Spadek aktywności tych subfrakcji pod wpływem aktywacji metabolicznej świadczy o częściowej detoksykacji zawartych w nich mutagenów pod wpływem enzymów wątroby. Subfrakcje Z3, Z5 i Z6 były mutagenne wobec szczepów YG 1021 i YG 1024. Szczepy te były bardziej wrażliwe na działanie mutagenów obecnych we subfrakcji Z3 od szczepu macierzystego TA 98. Świadczy to o znaczącym udziale nitrowych pochodnych aromatycznych w mutagenności tych subfrakcji. Subfrakcja Z4 była mutagenna wobec szczepu YG 1021 i niemutagenna wobec szczepu TA 98. Wskazuje to, że za jej aktywność mutagenną odpowiadają wyłącznie pochodne nitrowe związków aromatycznych, na działanie których szczep ten ma podwyższoną wrażliwość. Subfrakcja Z5 wykazywała zbliżoną mutagenność wobec szczepów TA 98 i YG 1021. Szczep YG 1024 był wyraźnie wrażliwszy na działanie mutagenów zawartych w tej subfrakcji. Subfrakcje Z7-Z9 były niemutagenne wobec wszystkich zastosowanych szczepów testowych.

Współczynniki mutagenności (MR) frakcji zawierających wszystkie związki polarne zaadsorbowane na pyłe zawieszonym były niższe od sumy prezentowanych tutaj MR siedmiu subfrakcji związków organicznych różniących się polarnością. Wyjątek stanowiła mutagenność pełnej frakcji polarnej pyłu pobranego latem wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej. Szczep ten był niewrażliwy na działanie zanieczyszczeń polarnych zaadsorbowanych na pyłe pobranym latem po ich rozdzieleniu na siedem subfrakcji. Wyrównowe badanie kontrolne mutagenności subfrakcji połączonych ponownie po rozdzielu chromatograficznym, wskazuje, że nie było to spowodowane stratami mutagenów w trakcie frakcjonowania i odparowywania rozpuszczalników. Na pyłe zawieszonym PM 10 zaadsorbowanych jest wiele różnych zanieczyszczeń aktywnych biologicznie. Ich działanie może się nawzajem wzmacniać albo osłabiać. Odpowiedź uzyskana w teście jest wypadkową tych interakcji.

4.2.5. Przestrzenne zróżnicowanie mutagenności pyłów

Pyły pobrane w różnych punktach Wrocławia różniły się znacznie mutagennością (ryc. 35 i 36). Masa pyłu wywołująca efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej wahała się w zakresie 0,15-1,7 mg latem i 0,025 – 0,4 mg zimą.

Latem brak było zależności między masą pyłu wywołującą efekt mutagenny, a odległością punktu poboru pyłu od centrum miasta. W niektórych punktach położonych w

centrum miasta (np. przy ul. Krowiej) pył był silnie mutageny, w innych (np. przy Pl. Grunwaldzkim) słabo mutageny. Zróżnicowaną mutagenność wykazywał też pył pobrany w różnych miejscach na peryferiach miasta. Np. przy ul. Zwycięskiej był on słabo mutageny a przy ul. Skarżyńskiego (Port Lotniczy) silnie mutageny. Słabo mutageny okazał się pył pobrany na terenie osiedla willowego Biskupin (ul. Chełmońskiego). Masa pyłu wywołująca efekt mutageny była jego cechą zależną od uwarunkowań lokalnych.

Zimą najbardziej mutageny był pył pobrany w centrum, najmniej na peryferiach miasta. Pył pobrany na willowym osiedlu Biskupin (ul. Chełmońskiego) wykazywał średnią mutagenność.

Masy pyłu wywołujące efekt mutageny były na ogół znacznie (3,8-50 razy) mniejsze zimą niż latem (ryc. 37). Świadczy to o znacznie większej mutagenności pyłu w sezonie zimowym. W pyłach pobranych zimą stwierdzono też występowanie większej liczby związków pierścieniowych, z których wiele ma działanie mutagenne i kancerogenne. Wyższe też były stężenia w atmosferze WWA z listy EPA. Iloraz masy pyłu potrzebnej do uzyskania efektu mutagennego najwyższy był na Biskupinie (ul. Chełmońskiego) i w centrum miasta, najniższy na jego peryferiach. Pył pobrany latem i zimą przy ul. Stabłowickiej (na peryferiach miasta) wykazywał podobną aktywność genotoksyczną latem i zimą. Pył pobrany na Biskupinie zimą był silnie mutageny, latem słabo mutageny. Stąd duży iloraz masy pyłu wywołującej efekt mutageny latem i zimą.

4.2.5.1. Zróżnicowanie objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutageny

Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny ($MR=2,0$) wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej frakcją S9 (ryc. 38 i 39) wykazywała zróżnicowanie w różnych punktach miasta. Wahala się ona w zakresie 4-42,5 m³ latem i 0,25-11,4 m³ zimą. Objętości te były 1,8-50,9 razy mniejsze zimą niż latem (ryc. 40). Zagrożenie zdrowotne genotoksyczną aktywnością zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłach jest tym większe, im mniejsza jest ta objętość. Objętości te wykazywały zależność z odległością punktu poboru pyłu od centrum miasta. Najmniejsze były w centrum, największe na peryferiach. Zimą zależność ta była wyraźniejsza. Niewielka była też objętość powietrza zawierająca zimą pył potrzebny do wywołania efektu mutagennego na położonym o kilka kilometrów od centrum osiedlu willowym Biskupin (ul. Chełmońskiego).

Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny zależała od dwóch czynników: stężenia pyłu w atmosferze i mutagenności jednostkowej jego masy. Ta zaś zależała od rodzaju i ilości zaadsorbowanych na nim zanieczyszczeń. Np. latem stężenie pyłu zawieszonego w atmosferze przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze było stosunkowo duże (ryc. 9). Pył ten jednak charakteryzował się stosunkowo niewielką mutagennością (ryc. 35). Dlatego też objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny była (w porównaniu z innymi punktami) średnia (ryc. 38). Na osiedlu Biskupin (ul. Chełmońskiego) stężenie pyłu zimą było umiarkowane, jednak pył ten był stosunkowo silnie mutagenny. Dlatego też objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny była niewielka, podobnie jak w centrum miasta.

4.2.5.2. Zróznicowanie udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów

Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny wobec szczepów YG 1021 i YG 1024 o podwyższonej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej były wielokrotnie niższe niż w przypadku szczepu macierzystego TA 98. Szczep YG 1024 okazał się znacznie bardziej wrażliwy na działanie mutagenów obecnych w badanych pyłach od szczepu YG 1021.

Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 wynosił 3,7-150 latem (ryc. 41) i 3-40 zimą (ryc. 42). W przypadku szczepu YG 1021 wahał się on w zakresie 2,9-17,0 latem (ryc. 43) i 1-20 zimą (ryc. 44).

Latem udział nitroarenów w mutagenności nie wykazywał związku z odległością punktu poboru pyłu od centrum miasta. Zimą udział nitrowych pochodnych WWA najwyższy był na obrzeżach miasta, gdzie stężenie pyłu było stosunkowo niewielkie, a objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny relatywnie duża. Na osiedlu willowym Biskupin (ul. Chełmońskiego) udział nitroarenów w mutagenności pyłów w porównaniu z innymi punktami wysoki był latem, niski zimą.

W centrum i na willowym osiedlu Biskupin (ul. Chełmońskiego) udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 był z reguły wyższy latem, na peryferiach miasta zimą (ryc. 45 i 46). Wartości przedstawione na ryc. 45 otrzymano w wyniku dzielenia pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA latem (ryc. 41) i zimą (ryc. 42). Wartości przedstawione na ryc. 46 otrzymano w wyniku dzielenia pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności latem (ryc. 43) i zimą (ryc. 44). W przypadku wartości większych od 1 uznawano, że udział nitrowych

pochodnych WWA w mutagenności pyłów jest większy latem, w przypadku wartości mniejszych od 1, że jest mniejszy. Udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów pobranych na peryferiach miasta był zbliżony latem i zimą.

4.2.5.3. Zależność stężenia i mutagenności pyłu od natężenia ruchu samochodowego

Stężenie pyłu zawieszonego w pobliżu jednego z węzłowych skrzyżowań w centrum Wrocławia (Pl. Grunwaldzki) było wyższe w dni robocze niż w dni wolne od pracy – latem o 40%, zimą o 200% (ryc. 9 i 10). Zimą w dni wolne od pracy było ono zbliżone do poziomu odnotowanego na peryferiach. Pył pobrany w soboty i niedziele był o 10% latem i o 20% zimą mniej mutageny od pyłu pobranego w dni robocze (ryc. 35 i 36). Wyższe natomiast były w nim zawartości WWA z listy EPA (ryc. 15 i 16) oraz ich stężenia w atmosferze (ryc. 18 i 19). Spadek stężenia pyłu w atmosferze i jego mutagenności spowodowały znaczną poprawę jakości zdrowotnej powietrza. Objętość powietrza potrzebna do uzyskania efektu mutagennego wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej była wyższa (o 90% latem i o 70% zimą) w dni wolne od pracy niż w dni robocze (ryc. 38 i 39). Narażenie ludzi przebywających w tej okolicy na działanie zaadsorbowanych na pyłe związków genotoksycznych było o połowę niższe w dni wolne od pracy niż w dni robocze. Latem w dni wolne od pracy spadł też znacznie udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA dla szczepu YG 1024 o 250% wyższy w dni robocze niż w dni wolne od pracy (ryc. 41). Zimą różnica ta wynosiła zaledwie 20% (ryc. 42). Różnica pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 latem wynosiła 130% (ryc. 43). Zimą udział ten wzrósł w dni wolne od pracy o 70% (ryc. 44). Przyczyną zaobserwowanych zjawisk może być sobotnio-niedzielny spadek intensywności ruchu samochodowego w centrum miasta.

4.2.5.4. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny od fizykochemicznych parametrów zanieczyszczenia atmosfery

Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutageny w teście Amesa zależy od dwóch czynników: stężenia pyłu w atmosferze i jego mutagenności. Korelacja pomiędzy stężeniem pyłu zawieszonego w atmosferze a objętością zanieczyszczonego powietrza wywołującą efekt mutageny była jednak umiarkowana, współczynnik korelacji wynosił -0,3 (ryc. — 47). Lepszymi odzwierciedleniami zagrożenia zdrowotnego powodowanego przez zaadsorbowane na pyłe zawieszonym mutageny okazały się stężenia: zaadsorbowanych na pyłe związków organicznych rozpuszczalnych w dichlorometanie (ryc. 48), WWA z listy EPA (ryc. 49) i benzo(a)pirenu (ryc. 50). Współczynniki korelacji wynosiły: -0,6 dla związków organicznych, -0,5 dla sumy WWA z listy EPA i dla samego benzo(a)pirenu. Stężenie wszystkich związków organicznych w atmosferze jest więc lepszym odzwierciedleniem aktywności mutagenów zaadsorbowanych na pyłe zawieszonych od stężenia sumy WWA z listy EPA czy benzo(a)pirenu.

4.3. Wyniki testu drożdżowego

Niemal wszystkie ekstrakty okazały się niemutagenne wobec drożdży w badanym zakresie stężeń (tab. 70). Wynik próby pobranej w lipcu 1998 należy uznać za wątpliwy ze względu na brak zależności liniowej dawka-odpowiedź. Próby pobrane w okresie wiosenno-letnim powodowały nieznaczny wzrost współczynnika rewersji. Był on jednak zbyt niski by próby te uznać za mutagenne wobec drożdży. Próby z okresu wiosenno-letniego charakteryzowały się stosunkowo najmniejszą aktywnością mutagenną wobec *Salmonella*.

5. DYSKUSJA

5.1. Mutagenność pyłu zawieszonego

Wszystkie badane próby pyłu zawieszonego pobranego w różnych punktach miasta i różnych okresach roku były mutagenne. Powodowały one mutacje typu zmiany fazy odczytu, na wykrywanie których pozwalają szczep TA 98 i jego pochodne YG 1021 i YG 1024. We wcześniejszych badaniach stwierdzono, że pyły zawieszone pobrane we Wrocławiu powodują ponadto mutacje zmiany par zasad [1-3, 73, 116]. Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń atmosfery w teście Amesa została stwierdzona przez wielu autorów badających pyły pobrane w różnych częściach świata [43, 131, 162]. Wiarygodność tych wyników potwierdzono wieloma innymi biotestami na organizmach pro- i eukariotycznych, także na kulturach komórek ludzkich [10, 76, 83, 86, 131]. Oprócz punktowej mutacji wstecznej typu zmiany fazy odczytu, co wykazano w prezentowanej pracy mutageny zaadsorbowane na pyłach zawieszonych indukują także powstawanie innych typów mutacji: zmiany par zasad [123], postępujące [131], chromosomowe [10], zmiany liczby chromosomów [102], powstawanie mikrojąder [10]. Zaadsorbowane na pyłach związki indukują także mutacje prowadzące do powstawania nowotworów, przede wszystkim płuc [47, 107, 136, 140]. Prezentowane tutaj wyniki są pod tym względem zbieżne z obserwacjami innych autorów.

5.1.1. Korelacja między objętością zanieczyszczonego powietrza wywołującą efekt mutageny a fizykochemicznymi parametrami zanieczyszczenia atmosfery

Zależność mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza od stężenia w atmosferze benzo(a)pirenu stwierdzili, podobnie jak we Wrocławiu, inni autorzy badający to zjawisko na Górnym Śląsku [103] i w Atenach [161]. Dotyczyło to także sumy WWA zaadsorbowanych na pyłach zawieszonych w Zurichu w Szwajcarii [163]. Korelację ze stężeniem w atmosferze benzo(a)pirenu, a także innych WWA wykazywała też zachorowalność i śmiertelność na nowotwory płuc [58, 92].

Mutagenność zanieczyszczeń powietrza we Wrocławiu nie wykazywała natomiast wyraźnych korelacji ze stężeniami zanieczyszczeń gazowych, mimo, że inni autorzy wykazali komutagenne działanie tych zanieczyszczeń [78, 95, 117, 157, 158]. Głównym czynnikiem decydującym o mutagenności powietrza jest obecność w nim zaadsorbowanych na pyłach mutagenów, nie zaś zanieczyszczeń gazowych, które wchodzi w reakcje ze związkami

organicznymi w atmosferze dając produkty bardziej lub mniej mutagenne od substratów organicznych.

5.1.2. Mutagenność frakcji chromatograficznych pyłów

Węglowodory alifatyczne uważane są za zanieczyszczenia atmosfery znacznie mniej aktywne biologicznie od węglowodorów aromatycznych i ich pochodnych [46]. Frakcje węglowodorów alifatycznych wydzielone z pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia były niemutagenne. Jest to zgodne z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi przy badaniu mutagenności prób pyłu pobranego na Górnym Śląsku z zastosowaniem szczepu TA 100 [104]. Potwierdza to także wcześniejsze doniesienia o szczególnej wrażliwości szczepów YG 1021 i YG 1024 jedynie na wybrane grupy mutagenów [36, 51].

WWA zaadsorbowane na pyłach zanieczyszczających atmosferę powodują mutacje zmiany fazy odczytu, na wykrywanie których pozwalają zastosowane we Wrocławiu szczepy *Salmonella typhimurium* TA 98, YG 1021 i YG 1024 oraz mutacje podstawiania par zasad, na wykrywanie których pozwala szczep TA 100 zastosowany na Górnym Śląsku. Podobnie jak w przypadku frakcji aromatycznej pyłu pobranego zimą we Wrocławiu mutagenność frakcji aromatycznych pyłu pobranego na Górnym Śląsku wzrastała po aktywacji frakcją S9 [106]. Aktywność mutagenną wykazywały też frakcje WWA wydzielone z pyłu pobranego przez innych badaczy [31, 150]. Na Górnym Śląsku dotyczyło to zarówno pyłu pobranego w lecie jak w zimie, z tym że mutagenność WWA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą była wyższa. Frakcja pyłu pobranego we Wrocławiu latem była niemutagenna.

Znaczną mutagenność wykazują frakcje polarne pyłu zawieszonego, zawierające obok WWA inne mutageny, jak nitroareny, aminy aromatyczne, związki heterocykliczne, fenole, furany i dioksyny [31, 106, 150]. Mutagenność tych frakcji może być nawet wyższa od frakcji zawierającej głównie WWA [31, 107]. We Wrocławiu frakcja polarna była odpowiedzialna za całą aktywność mutagenną pyłu pobranego w lecie. Zimą wykazywała większą aktywność bezpośrednią wobec szczepu TA 98 niż frakcja aromatyczna. Uzyskane we Wrocławiu wysokie odpowiedzi dodatnie szczepów YG 1021 i YG 1024 świadczą, że w tej właśnie grupie zanieczyszczeń znajdowało się najwięcej związków podstawionych grupami nitrowymi. Wzrost mutagenności tych frakcji pyłów pod wpływem aktywacji metabolicznej frakcją S9 pobranych zimą we Wrocławiu, na Górnym Śląsku i w Duisburgu (RFN) świadczy o występowaniu w nich mutagenów pośrednich [31, 106]. Podobnie jak ekstrakt całkowity

pyłu zawieszonego i jego frakcja aromatyczna mutagenność frakcji polarnej jest wyższa zimą niż w lecie. Prawdopodobnie taka została stwierdzona we Wrocławiu i na Górnym Śląsku [106].

5.1.3. Sezonowe i przestrzenne różnicowanie genotoksyczności pyłów w środowisku miejskim

Zróżnicowana metodyka badania mutagenności pyłów i przedstawiania wyników, jakie stosują różni autorzy niemal uniemożliwia porównanie jakości zdrowotnej powietrza we Wrocławiu i w innych miastach. W ogóle nie można porównywać ze sobą wyników uzyskanych przy zastosowaniu różnych biotestów, które często znacznie różnią się wrażliwością. Także procedura testu Amesa daje badaczom możliwość wyboru szczepów testowych. Charakteryzuje je zróżnicowana wrażliwość na działanie poszczególnych grup mutagenów. Brakuje jednolitej metodyki przedstawiania wyników. Wielu autorów podaje je w postaci liczby rewertantów netto (różnica między liczbą rewertantów indukowanych przez badaną próbę i powstałych spontanicznie) w przeliczeniu na masę pyłu lub objętość powietrza, w której ten pył znajdował się w atmosferze. Zakresy dopuszczalnych rewersji spontanicznych dla poszczególnych szczepów mają jednak dość znaczne zakresy, np. 30-50 w przypadku szczepu TA 98 [89]. Wyniki uzyskiwane przez różnych autorów są więc porównywalne tylko pod względem tendencji.

Dotychczas jedynie Walker i wsp. [162] badali zróżnicowanie mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery w środowisku miejskim stwierdzając korelację pomiędzy mutagennością pyłów w teście Amesa a zachorowalnością i śmiertelnością na nowotwory płuc u szczurów. Brakuje danych literaturowych na temat rozmieszczenia w miastach obszarów o największym narażeniu mieszkańców na mutagenne i kancerogenne działanie pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Brak też danych na temat sezonowego i przestrzennego zróżnicowania stopnia zagrożenia zdrowotnego związanego z poszczególnymi grupami związków mutagennych, np. nitrowych pochodnych WWA. Są to elementy nowości tej pracy.

Rozpiętość sezonowego i przestrzennego zróżnicowania mutagenności pyłów zanieczyszczających atmosferę jest znaczna. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej wahały się we Wrocławiu w zakresie 0,25-42,5 m³. Analogiczne objętości obliczone na podstawie wyników podawanych przez Alink i wsp. [4] dla nieuprzemysłowionego obszaru Holandii wahały się w zakresie 2-40 m³.

Badacze są zgodni, że w strefie klimatów umiarkowanych mutagenność pyłu zawieszonego w atmosferze wzrasta zimą, maleje latem. Prawidłowość taką poza Wrocławiem zaobserwowano na nieuprzemysłowionych obszarach Holandii [4] nieuprzemysłowionym i uprzemysłowionym obszarze Republiki Czeskiej [12], w Duisburgu w Niemczech [61, 62] oraz w północnych Włoszech [131, 133]. Na Górnym Śląsku oraz w północnych Włoszech stwierdzono występowanie korelacji pomiędzy temperaturą a mutagennością pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Mutagenność ta jest odwrotnie proporcjonalna do temperatury [101, 133]. W sezonie zimowym zauważa się też wzrost stężenia WWA, co stwierdzone zostało m. in. we Wrocławiu i w pobliżu zakładów petrochemicznych na Tajwanie [154]. Przyczyny tego zjawiska mogą być następujące. Latem, ze względu na wyższą temperaturę powietrza część zanieczyszczeń przechodzi do fazy gazowej, zimą większa ich część jest zaadsorbowana na pyłach. Zimą wzrasta emisja zanieczyszczeń pyłowych ze względu na sezon grzewczy w wzrost zużycia paliw w silnikach samochodowych.

Wyniki badań nad mutagennością pyłu zawieszonego prowadzone dotychczas we Wrocławiu i w innych miastach wskazują na wzrost narażenia mieszkańców na genotoksyczne działanie zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pył zawieszonym zimą. Można je ograniczyć poprzez redukcję niskiej emisji zastępując paleniska domowe ogrzewaniem gazowym lub energią ciepłą wytwarzaną przez dużych producentów. Mieszkańcy centrum miasta są bardziej narażeni na genotoksyczne działanie zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pył zawieszonym niż osoby zamieszkałe na jego peryferiach. Znajduje to odzwierciedlenie w wynikach pomiarów zanieczyszczenia atmosfery pyłami i komutagennymi gazami [71]. Tam też, ze względu na większe narażenie środowiskowe należałoby koncentrować działania z zakresu profilaktyki i wczesnego wykrywania nowotworów, szczególnie płuc.

5.1.4. Skutki aktywacji metabolicznej pyłu zawieszonego

Aktywacja metaboliczna frakcją S9 prób pyłu pobranych we Wrocławiu powodowała zróżnicowane skutki – wzrost lub spadek ich mutagenności. Podobne rezultaty uzyskali inni autorzy stosujący aktywację metaboliczną frakcją S9 w badaniu mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery testem Ames. Frakcja ta w zależności od składu badanej próby podwyższała lub obniżała jej aktywność mutagenną wobec bakterii użytych w teście Ames [91, 131]. Obniżanie aktywności mutagennej niewielkich dawek ekstraktów zanieczyszczeń

powietrza i jej wzrost w przypadku dużych dawek stwierdzili także już wcześniej Walker i wsp. [162].

5.1.5. Udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów

Na znaczącą rolę nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery wskazują też wyniki testów Amesa na pyłach pobranych w innych miastach z zastosowaniem szczepów *Salmonella typhimurium* o podwyższonej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej [7, 32, 68, 99, 100, 119]. Do tych samych wniosków w odniesieniu do nitrowych pochodnych WWA prowadzą badania z łącznym zastosowaniem szczepu TA 98 oraz szczepu TA 98 NR pozbawionego genu odpowiedzialnego za syntezę nitroreduktazy [123, 130]. Do tej grupy związków chemicznych należą najbardziej mutagenne ze związków chemicznych wyekstrahowanych z pyłów zanieczyszczających atmosferę i spalin samochodowych - 3-nitro-7Hbenzo(d,e)antracen-7-on i 1,8-dinitropiren [37].

5.2. Przydatność stosowanych biotestów do oceny właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń atmosfery

5.2.1. Przydatność testu Amesa

Wyniki badań biologicznych wskazują, że samo tylko stężenie pyłu w atmosferze nie odzwierciedla w pełni zagrożenia zdrowotnego powodowanego przez aktywność genotoksyczną zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłach. Także stężenia w atmosferze wybranych mutagenów jak np. 16 WWA z listy EPA czy benzo(a)pirenu pozwala tylko na przybliżoną ocenę. Uproszczenie takie stosuje się ze względu na wysokie koszty i znaczną pracochłonność biotestów pozwalających na bezpośrednią ocenę genotoksyczności. Metodami analitycznymi można jedynie zmierzyć stężenie wybranych zanieczyszczeń. Nie można określić ich rzeczywistej aktywności biologicznej. Związki te ulegają wzajemnym interakcjom, przemianom chemicznym w atmosferze i biochemicznym w organizmach. Tylko biotesty pozwalają na pełną ocenę ich łącznej aktywności biologicznej wszystkich zaadsorbowanych na pyłach zanieczyszczeń.

Wyniki badań nad mutagennością pyłowych zanieczyszczeń atmosfery przedstawione w prezentowanej pracy, jak i prowadzone wcześniej we Wrocławiu [1-3, 73] w konfrontacji z rezultatami badań wielu cytowanych wyżej autorów pozwalają rekomendować test Ames do badania mutagenności pyłowych zanieczyszczeń atmosfery jako uzupełnienie powszechnie stosowanych parametrów zanieczyszczenia atmosfery, takich jak stężenie pyłu zawieszonego, stężenia WWA z listy EPA, benzo(a)pirenu oraz metali ciężkich. Pozwoli to na pełniejszą ocenę zagrożeń zdrowotnych związanych z obecnością w atmosferze zanieczyszczeń genotoksycznych. Zaletami metody są w tym przypadku: powszechność jej zastosowania, wrażliwość na działanie mutagenów obecnych w powietrzu, krótki w porównaniu z innymi biotestami czas oczekiwania na wynik, stosunkowo niska pracochłonność, a co za tym idzie stosunkowo niewielki koszt. Pracochłonność ta jest jednak wyższa od automatycznie wykonywanych analiz instrumentalnych. Powszechność zastosowania testu Ames może znacznie ułatwić porównywanie wyników różnych badaczy i przyjęcie standardów mutagenności podobnych do najwyższych dopuszczalnych stężeń. Aby było to możliwe konieczne jest jednak ujednolicenie niektórych szczegółów techniki wykonania testu, a przede wszystkim metodyki przedstawiania wyników, tak by umożliwić ich obiektywne porównywanie. Wydaje się, że zaproponowana w prezentowanej pracy metodyka przedstawiania wyników najlepiej odpowiada temu wymogowi.

5.2.1.1. Dobór szczepów testowych

Spośród wielu szczepów *Salmonella typhimurium* stosowanych w teście Ames do badania potencjalnych właściwości mutagennych pyłowych zanieczyszczeń powietrza najczęściej stosowane są szczepy TA 98 i TA 100 [1-4, 11, 21, 22, 43, 67, 90, 96, 97, 101, 103, 104, 116, 118, 123, 131, 150, 155, 162, 171, 172]. Szczep TA 98 pozwala na wykrywanie mutacji zmiany fazy odczytu ("frame-shift"), natomiast szczep TA 100 na wykrywanie mutacji polegających na zmianie par zasad C-G i A-T. W zależności od tego, czy w pyłach zawieszonych w danej okolicy przeważają mutageny powodujące mutacje zmiany fazy odczytu, czy zmiany par zasad wrażliwszy okazuje się szczep TA 98 lub TA 100. Szczepy YG 1021 i YG 1024 otrzymano na przełomie lat 80/90, stąd też liczba ich dotychczasowych zastosowań jest stosunkowo niewielka. Znalazły one już jednak pierwsze aplikacje w badaniu zanieczyszczeń atmosfery [7, 32, 68, 99, 119]. Na znaczącą rolę nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza wskazują też wyniki testów Ames z łącznym zastosowaniem szczepu TA 98 oraz szczepów TA 98NR

[123, 125] i TA 98DNP [123] pozbawionymi wrażliwości na mutagenne działanie nitrowych pochodnych WWA.

Ze względu na znaczący udział nitrowych pochodnych WWA w mutagenności zanieczyszczeń atmosfery oraz spalin samochodowych Hughes i wsp. [68] zalecają stosowanie szczepów o zmienionej aktywności nitroreduktazowej do oceny ich właściwości mutagennych. Pozwalają one ocenić łączny udział nitroarenów w mutagenności pyłów. Analogiczną ocenę w odniesieniu do nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA łącznie można dokonać przy użyciu szczepów o zmienionej aktywności *O*-acetylotransferazowej z zastosowaniem aktywacją frakcją S9. Podobna ocena przy użyciu metod instrumentalnych, np. GC-MS byłaby bardzo trudna i kosztowna. W mieszaninie wielu związków chemicznych jaką jest ekstrakt pyłu zawieszonego sygnały pochodzące od poszczególnych związków chemicznych maskują się nawzajem. Możliwości różnego podstawiania grupami nitrowymi i aminowymi poszczególnych WWA jest dużo. Wszystkie te związki mogą znaleźć się w atmosferze w wyniku procesów spalania i reakcji zanieczyszczeń w atmosferze. Do ilościowego określenia zawartości samych tylko nitrowych i aminowych pochodnych WWA trzeba by zatem użyć wielu wzorców. Koszt takiej analizy byłby ogromny. Jak dotąd nie udało się bowiem wyłonić reprezentacji tej grupy zanieczyszczeń podobnej do 16 WWA z listy EPA, które powszechnie uważane są za reprezentację wszystkich WWA.

Wyniki uzyskane w trakcie wykonywania badań pozwalają rekomendować szczepy *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100 oraz ich pochodne o zmienionej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej do oceny potencjalnych właściwości mutagennych zanieczyszczeń atmosfery. Pierwszym etapem takich badań powinno być ustalenie, czy w badanej okolicy przeważają mutageny powodujące mutacje zmiany fazy odczytu na wykrywanie których pozwala szczep TA 98 i jego pochodne, czy zmiany par zasad, na wykrywanie których pozwala szczep TA 100 i jego pochodne. Pozwoli to na właściwy dobór szczepów testowych.

5.2.2. Przydatność testu drożdżowego

W pracy stwierdzono niewrażliwość drożdży na mutagenne działanie zanieczyszczeń zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym PM 10 mimo wysokich odpowiedzi pozytywnych w teście Ames. Dotychczas tylko Rossi i wsp. [131] próbowali zastosować test drożdżowy do oceny mutagennych właściwości pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Uzyskali oni wyniki

zbliżone do prezentowanych tutaj. Większość badanych przez nich prób pyłu nie wykazywała aktywności mutagennej wobec drożdży, wykazując równocześnie wyraźną aktywność mutagenną wobec *Salmonella typhimurium* w teście Ames. Aktywność mutagenną wobec drożdży wykazywały jedynie nieliczne próby nieaktywne wobec *Salmonella typhimurium* w teście Ames. Uzyskane tutaj wyniki i wyniki Rossiego i wsp. [131] z północnych Włoch wskazują, że test drożdżowy może być stosowany jako komplementarny do testu Ames w celu potwierdzania wyników ujemnych na *Salmonella typhimurium*. Do potwierdzania wyników dodatnich w teście Ames należałoby stosować inne testy.

We wcześniejszych badaniach stwierdzono także niewrażliwość drożdży na działanie niektórych związków uważanych powszechnie za mutagenne, występujących w badanych tutaj ekstraktach organicznych pyłu zawieszonego: benzo(a)pirenu, benzo(e)pirenu, benzo(a)antracenu, chryzenu. Bezpośredniej aktywności mutagennej wobec drożdży nie wykazywał także dym tytoniowy [176]. Test drożdżowy jest z powodzeniem stosowany w badaniu mutagenezy środowiskowej, często jako uzupełnienie testu Ames. Przebadano nim kilkaset związków chemicznych podejrzewanych o mutagenność i kancerogenność, w tym wiele pestycydów i leków.

Przyczyną mniejszej wrażliwości *Saccharomyces cerevisiae* w porównaniu z *Salmonella typhimurium* może być występowanie błony jądrowej u organizmów eukariotycznych jakimi są drożdże. Błona ta chroni skuteczniej ich materiał genetyczny przed mutagennym działaniem ksenobiotyków. Inna jest też struktura ściany komórkowej, która u organizmów eukariotycznych przepuszcza do wnętrza komórki związki o innej budowie.

Dotychczasowe wyniki badań nad mutagennością pyłu zawieszonego prowadzone we Wrocławiu i we Włoszech [131] oraz wyniki badania związków modelowych wskazują, że test drożdżowy i test Ames są wrażliwe na działanie innych typów mutagenów. Dotychczasowe wyniki wskazują, że w atmosferze przeważają na ogół mutageny, na które wrażliwy jest test Ames. Rossi i wsp. [131] stwierdzili jednak, że test drożdżowy daje odpowiedzi dodatnie wobec prób, które były niemutagenne w teście Ames. Test ten może być więc przydatny w badaniu mutagenności zanieczyszczeń atmosfery do potwierdzania wyników ujemnych w teście Ames.

6. WNIOSKI

1. Wszystkie badane próby pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia w różnych okresach roku (VIII 1997 – VII 1998) oraz próby pyłu zawieszonego pobrane w różnych punktach Wrocławia latem 1998 i zimą 1998/99 były mutagenne wobec wszystkich użytych szczepów testowych *Salmonella typhimurium*.
2. Uzyskane wyniki pozwalają rekomendować test Amesa do oceny mutagennego działania pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Pozwoli to na pełniejszą ocenę zagrożeń zdrowotnych związanych z występowaniem w niej mutagenów zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym. Na szczególną rekomendację zasługują szczepy *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100 oraz ich pochodne o zwiększonej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej. Aby ułatwić porównywanie wyników otrzymywanych przez różnych badaczy wskazane jest ujednolicenie metodyki przedstawiania wyników.
3. Test drożdżowy okazał się mało wrażliwy na działanie mutagenów obecnych w badanych ekstraktach pyłu zawieszonego, jedna próba dała wynik wątpliwy, pozostałe próby były niemutagenne wobec drożdży.
4. Aby zmniejszyć ryzyko zachorowań na nowotwory wśród najbardziej narażonych na genotoksyczne działanie pyłowych zanieczyszczeń powietrza mieszkańców centrum miast należałoby tam skoncentrować działania z zakresu profilaktyki nowotworów. Ograniczenie niskiej emisji przyczyniłoby się do zmniejszenia aktywności mutagennej pyłowych zanieczyszczeń powietrza zimą.
5. Aktywacja metaboliczna frakcją S9 w teście Amesa powodowała wzrost aktywności mutagennej części prób, co świadczy o występowaniu w nich promutagenów. Analiza GC-MS wykazała obecność w badanych ekstraktach mutagenów pośrednich z grupy WWA. Wyższa mutagenność pozostałych prób bez aktywacji metabolicznej niż z aktywacją wskazuje na występowanie w nich przede wszystkim mutagenów bezpośrednich.
6. Szczepy YG 1021 i YG 1024 o podwyższonej wrażliwości na mutagenne działanie nitrowych pochodnych WWA okazały się bardziej wrażliwe na działanie mutagenów zawartych w badanych pyłach od szczepu macierzystego TA 98. Świadczy to o znaczącym udziale nitroarenów w mutagenności pyłów. Był on większy latem niż zimą. Zimą był większy na peryferiach niż w centrum, latem nie wykazywał związku z odległością punktu poboru pyłu od centrum.

7. Frakcje węglowodorów alifatycznych pyłu pobranego latem i zimą były niemutagenne w badanym zakresie stężeń.
8. Frakcja węglowodorów aromatycznych pyłu pobranego latem była niemutagenna w badanym zakresie stężeń. Frakcja aromatyczna pyłu pobranego zimą była mutagenna. Aktywność genotoksyczna tej frakcji wobec szczepu TA 98 wzrastała pod wpływem aktywacji metabolicznej.
9. Frakcje polarne pyłu pobranego zimą i latem były mutagenne. Aktywacja metaboliczna powodowała wzrost ich aktywności mutagennej wobec szczepu TA 98. Większa wrażliwość szczepów YG 1021 i YG 1024 w porównaniu ze szczepem TA 98 świadczy o znaczącym udziale nitrowych pochodnych WWA w mutagenności związków polarnych zaadsorbowanych na pyłe zwieszonym.
10. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutagenny w teście Amesa zależały od stężenia pyłu i jego mutagenności. Były one niższe zimą niż latem oraz w centrum miasta niż na jego peryferiach. W przypadku szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej objętości te wahały się w zakresie 4-42,5 m³ latem i 0,25-11,4 m³ zimą.
11. Masy pyłu wywołujące efekt mutagenny były większe latem niż zimą. Zimą były one wyższe na peryferiach miasta niż w jego centrum. Latem była to cecha lokalna badanych pyłów nie wykazująca związku z oddaleniem punktu poboru pyłu od centrum miasta. W przypadku szczepu TA 98 bez aktywacji metabolicznej wahały się one w zakresie 0,15-1,7 mg latem i 0,025-0,4 mg zimą.
12. Objętość zanieczyszczonego powietrza wywołująca efekt mutagenny w teście Amesa wykazywała korelację ze stężeniem w atmosferze związków organicznych (współczynnik korelacji -0,6), WWA z listy EPA (współczynnik korelacji -0,5) i benzo(a)pirenu (współczynnik korelacji -0,5). Korelacja ze stężeniem pyłu była mniejsza (współczynnik korelacji -0,3). Mutagenność zanieczyszczeń atmosfery we Wrocławiu nie wykazywała natomiast korelacji ze stężeniem komutagennych zanieczyszczeń gazowych. Ilość mutagenów zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym jest głównym czynnikiem decydującym o mutagenności zanieczyszczeń powietrza. Wyniki biotestów lepiej odzwierciedlają zagrożenie zdrowotne powodowane przez zaadsorbowane na pyłe mutageny, które ulegają wzajemnym interakcjom, niż wyniki analiz fizykochemicznych.

7. LITERATURA

1. Adamiak W., Jadczyk P., Kucharczyk J. 1997. Badanie mutagenności zanieczyszczeń pyłowych powietrza testem Ames. POL-IMIS'97. II Sympozjum "Ocena wielkości emisji zanieczyszczeń powietrza": 220-228.
2. Adamiak W., Jadczyk P., Kucharczyk J. 1998. Zastosowanie szczepów *Salmonella* o podwyższonej aktywności nitroreduktazowej i *O*-acetylotransferazowej do oceny mutagenności pyłu zawieszonego. III Konferencja "Problemy ochrony powietrza w aglomeracjach miejsko-przemysłowych": 5-13.
3. Adamiak W., Jadczyk P., Kucharczyk J. 1999. Application of *Salmonella* Strains with Altered Nitroreductase and *O*-acetyltransferase Activities to the Evaluation of the Mutagenicity of Airborne Particles. *Acta Microbiol. Polon.* 48: 131-140.
4. Alink G. M., Smit H. A., van Houdt J. J., Kolkman J. R., Boleij J. S. M. 1983. Mutagenic activity of airborne particulates at non-industrial locations. *Mutation Res.* 116: 21-34.
5. Ames B. N., McCann J., Yamasaki E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity test. *Mutation Res.* 31: 347-364.
6. Arey J., Zielińska B., Atkinson R., Winer A. M., Ramdahl T., Pitts J. N. 1986. The formation of nitroPAH from the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the gas-phase reactions of fluoranthene and pyrene with the OH radical in the presence of NO_x. *Atmos. Environ.* 20: 2339-2345.
7. Azuma S., Kishino S., Katayama S., Akahori Y., Matsushita H. 1997. Highly sensitive mutation assay for mutagenicity monitoring of indoor air using *Salmonella typhimurium* YG1041 and a microsuspension method. *Mutagenesis* 12: 373-377.
8. Ball J. C., Greene B., Young W. C., Richert J. F. O., Salmeen I. T. 1990. S9-Activated Ames Assay of Diesel-Particle Extracts. Detecting Indirect-Acting Mutagens in Samples That Are Direct-Acting. *Environ. Sci. Technol.* 24: 890-894.
9. Ball J. C., Young W. C. 1992. Evidence for a New Class of Mutagens in Diesel Particulate Extracts. *Environ. Sci. Technol.* 26: 2181-2186.
10. Barale R., Migliore L., Cellini B., Franconi L., Giogelli F., Barrai L., Loprieno N. 1990. Genetic Toxicology of Airborne Particulate Matter Using Cytogenetic Assays and Microbial Mutagenicity Assay. *Genetic Toxicol of Complex Mixtures (Plenum)*: 57-72.

11. Bayona J. M., Casellas M., Fernandez P. P., Solanas A. M., Albaiges J. 1994. Sources and seasonal variability of mutagenic agents in the Barcelona city aerosol. *Chemosphere* 29: 441-450.
12. Binkova B., Vesely D., Vesela D., Jelinek R., Sram R. J. 1999. Genotoxicity and embryotoxicity of urban air particulate matter collected during winter and summer period in two different districts of the Czech Republic. *Mutation Res.* 440: 45-58.
13. Blaner W., Tsai W.-Y., Choraży M., Motykiewicz G., Michalska J., Santella R. M., Young T.-L. Molecular and Genetic Damage in Humans from Environmental Pollution in Poland. *Nature* 360: 256-258.
14. Bolognesi G., Merlo F., Rabboni R., Valerio F., Abbondandolo A. 1997. Cytogenetic Biomonitoring in Traffic Police Workers - Micronucleus Test in Peripheral - Blood Lymphocytes. *Environ. Molecular Mutagenesis* 30: 396-402.
15. von Borstel R. C. 1981. The yeast *Saccharomyces cerevisiae*, In Short-term Tests for Chemical Carcinogens (Stich H., San R. H. C., eds.). Springer Verlag Berlin, New York.: 161-174.
16. Carraro E., Locatelli A. L., Ferrero C., Fea E., Gilli G., 1995. Biological activity of exhaust emissions from two aftertreatment device-equipped light-duty diesel engines. *J. Environ. Sci. Health.* A30: 1503-1514.
17. Cerna M., Pastorkova A., Myers S. R., Rossner P., Binkova B. 1997. The use of urinary mutagenicity assay in the monitoring of environmental exposure to genotoxins. *Mutation Res.* 391: 99-110.
18. Chiarolini A., Donato M. T., Gómez-Lechón M. J., Pala M., Valerio F. 1997. Comparison of rat hepatocyte and differentiated hepatoma cell line cultures as bio-indicators of CYP 1A1 inducers in urban air. *Biomarkers* 2: 279-285.
19. Chouroulinkov I. 1990. Carcinogenicity of Complex Mixtures in Air Using in Vitro and in Vivo Assays. *Genetic Toxicol of Complex Mixtures (Plenum)*: 113-126.
20. Claxton L. D., Barnes H. M. 1981. The mutagenicity of diesel-exhaust particle extracts collected under smog-chamber conditions using the *Salmonella typhimurium* test system. *Mutation Res.* 88: 255-272.
21. Claxton L. D., Creason J., Leroux B., Agurell E., Bagley S., Bryant D. W., Courtois Y. A., Douglas G., Clare C. B., Goto S., Quillardet P., Jagannath D. R., Kataoka K., Mohn G., Nielsen P. A., Ong T., Pederson T. C., Shimizu H., Nylund L., Tokiwa H., Vink G. J., Wang Y., Warshawsky D. 1992a. Results of the IPCS collaborative study on complex mixtures. *Mutation Res.* 276: 23-32.

22. Claxton L. D., Douglas G., Krewski D., Lewtas J., Matsuhita H., Rosenkranz H. 1992b. Overview, conclusions, and recommendations of the IPCS collaborative study on complex mixtures. *Mutation Res.* 276: 61-80.
23. Claxton L. D., Kleindienst T. E., Perry E., Cupitt L. T. 1990. Assessment of the Mutagenicity of Volatile Organic Air Pollutions Before and After Atmospheric Transformation. *Genetic Toxicol of Complex Mixtures (Plenum)*: 103-112.
24. Commoner B., Madyastha P., Bronsdon A., Vithayathil A. J. 1978. Environmental mutagens in urban air particulates. *J. Toxicol. Environ. Health* 4: 59-77.
25. Coulumb H. M., Courtois Y. A., Callais F. B., Festy B., Chourolinkov I. 1983. Biological activity of air particulate extracts (APE) in short-term tests. [W]: Waters M. D., Sandhu S. S., Lewtas J., Claxton L., Chernoff N., Nesnow S. (Eds.), *Short-Term Bioassays in the Analysis of Complex Environmental Mixtures III*, Plenum, New York: 485-497.
26. Courtois Y. A., Min S., Lachenal C., Jacquot-Deschamps J. M., Callais F., Festy B. 1988. Genotoxicity of Organic Extracts from Atmospheric Particles. *NY Acad of Sci Annals: Living in Chem World Conf. Bologna Italy*: 534: 724-741.
27. Crebelli R., Fuselli S., Baldassarri L. T., Ziemacki G., Carere A., Banigni R. 1995. Genotoxicity of urban air particulate matter: correlations between mutagenicity data, airborne micropollutants, and meteorological parameters. *Int. J. Environment. Health Res.* 5: 19-34.
28. Crespi C. L., Liber H. L., Behymer T. D., Hites R. A., Thilly W. G. 1985. A human cell line sensitive to mutation by particle-borne chemicals. *Mutation Res.* 157: 71-75.
29. Cupitt L., Zweidinger R. 1988. Mutagenicity of Organic Associated with PM_{2.5} and PM₁₀ H1V61 Particles from a Wood Smoker Impacted Residential Area. *EPA/APCA Measurement of Toxic & Related Air Pollut Int. Symp., Res. Triangle Park, NC*: 879-885.
30. Czczot H., Rahden-Staroń I. 1997. Wybrane krótkoterminowe testy bakteryjne i na organizmach eukariotycznych stosowane do oceny genotoksyczności środowiskowych zanieczyszczeń chemicznych. *Roczn. PZH* 48: 317-336.
31. Dehnen W., Pitz N., Tomingas R. 1977. The mutagenicity of airborne particulate pollutants. *Cancer Lett.* 4: 5-12
32. Depollok F. S., Aneja V. P., Hughes T. J., Claxton L. D. 1997. Chemical and mutagenic analysis of volatile Organic Compounds in Raleigh air samples at 3 different elevations before, during and after Hurricane Gordon. *Chemosphere* 35: 879-893.

33. Dorle L. D., Bagley S. T., Leddy D. G., Johnson J. H. 1987. Characterization of Mutagenic Subfractions of Diesel Exhaust Modified by Ceramic Particulate Traps. *Environ. Sci. Technol.* 21: 757-765.
34. Durant J. L., Busby W. F., Lafleur A. L., Penman B. W., Crespi C. L. 1996. Human cellm mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstitutetd polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Res.* 371: 123-157.
35. Durant J. L., Mochamp P. A., Lafleur A. L., Hemond H. F. 1994. Combined Filtration-Solid-Phase Extraction Method for Recovering Organic Substances from Natural Waters in Preparation for Mutagenicity Testing. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1819-1828.
36. Einistö P., Watanabe M., Ishidate Jr. M., Nohmi T. 1991. Mutagenicity of 30 chemicals in *Salmonella typhimurium* strains possessing different nitroreductase or *O*-acetyltransferase activites. *Mutation Res.* 259: 95-102.
37. Enya T., Suzuki H., Watanabe T., Hirayama T., Hisamatsu Y. 1997. 3-Nitrobenzanthrone, a Powerful Bacterial Mutagen and Suspected Human Carcinogen Found in Diesel Exhaust and Airborne-Particulates. *Environ. Sci. Technol.* 31: 2772-2776.
38. Epstein S. S., Fujii K., Asahina S. 1979. Carcinogenicity of Compposite Organic Extract of Urban Particulate Atmospheric Pollutants following Subcutaneous Injection in Infant Mice. *Environ. Res.* 19: 163-176.
39. Falkowska L., Korzeniewski K. 1995. *Chemia atmosfery*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego. Gdańsk.
40. Farcasiu M. 1976. Fractionation and structural characterization of coal liquids. *Fuel* 56: 9-14.
41. Fishbein L. 1990. Sources, nature and levels of air pollutants. W: Tomatis L. *Air Pollution and Human Cancer*. Springer Verlag Berlin: 9-34
42. Freeman A. E., Price P. J., Bryan R. J., Gordon R. J., Gilden R. V., Kelloff G. J., Huebner R. J. 1971. Transformation of rat and hamster embryo cells by extracts of city smog. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 68: 445-449.
43. Fukino H., Mimura S., Inoure K., Yamane Y. 1982. Mutagenicity of airborne particles. *Mutation Res.* 102: 237-247.
44. Fuselli S., Begigni R., Conti L. Carere A., Crebelli R. 1995. Volatile organic compounds (VOCs) and air mutagenicity: results of one year monitoring at an urban site. *Int. J. Health Res.* 5: 123-132.

45. Gibson T. L. 1983. Sources of direct-acting nitroarene mutagens in airborne particulate matter. *Mutation Res.* 122: 115-121.
46. Gomółka E., Szaynok A. 1997. *Chemia wody i powietrza*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej. Wrocław.
47. Gordon R. J., Bryan R. J., Rhim J. S., Demoise C., Wolford R. G., Freeman A. E., Huebner R. J. 1973. Transformation of rat and mouse embryo cells by a new class of carcinogenic compounds isolated from particles in city air. *Int. J. Cancer.* 12: 223-232.
48. Grant W. F. 1998. Higher plant assay for the detection of genotoxicity in air polluted environments. *Ecosystem Health* 4: 210-229.
49. Hadnagy W., Seemayer N. H., Tomingas R. 1986. Cytogenetic effects of airborne particulate matter in human lymphocytes in vitro. *Mutation Res.* 175: 97-101.
50. Hadnagy W., Seemayer N. H., Tomingas R., Ivanfy K. 1989. Comparative study of sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations induced by airborne particulates from an urban and a highly industrialized location in human lymphocyte cultures. *Mutation Res.* 225: 27-32.
51. Hagiwara Y., Watanabe M., Oda Y., Sofuni T., Nohmi T. 1993. Specificity and sensitivity of *Salmonella typhimurium* YG 1041 and YG 1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and acetyltransferase activity. *Mutation Res.* 291: 171-180.
52. Hammond S. K., Smith T. J., Woskie S. R., Braun A. G., Lafleur A., Liber H., Garshick E., Schenker M. B., Speizer F. E. 1993. Railroad Diesel Exhaust: Concentration and Mutagenicity. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 8: 955-963.
53. Hannigan M. P., Cass G. R., Lafleur A. L., Busby W. F., Thilly W. G. 1996. Seasonal and Spatial Variation of the Bacterial Mutagenicity of Fine Organic Aerosol in Southern California. *Environ. Health Persp.* 104: 428-436.
54. Hannigan M. P., Cass G. R., Penman B. W., Crespi Ch. L., Lafleur A. L., Busby W. F., Thilly W. G. 1997. Human Cell Mutagens in Los Angeles Air. *Environ. Sci. Technol.* 31: 438-447.
55. Hayashi M., Morita T., Kodama Y., Sofuni T., Ishidate M. 1990. The Micronucleus Assay with Mouse Peripheral Blood Reticulocytes Using Acridine Orange-Coated Slides. *Mutation Res.* 245: 245-249.
56. Heddle J., Stuart E., Salamone M.F. 1984. The Bone Marrow Micronucleus Test. *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*: 441-457.
57. Hemminki K., Kumar R., Bykov V. J., Louhelainen J., Vodicka P. 1996. Future Research Directions in the Use of Biomarkers. *Environ. Health Persp.* 104: 459-463.

58. Henderson B. E., Gordon R. J., Menck H., Soohoo J., Martin S. P., Pike M. C. 1975. Lung cancer and air pollution in southcentral Los Angeles county. *Am. J. of Epidemiology* 101: 477-488.
59. Herman M. 1981. Synergistic effects of individual polycyclic aromatic hydrocarbons on the mutagenicity of their mixtures. *Mutation Res.* 990: 399-409.
60. Hornberg C., Maciuleviciute, Seemayer N. H. 1996. Sister Chromatid exchanges in rodent tracheal epithelium exposed *in vitro* to environmental pollutants. *Toxicol. Letters* 88: 45-53.
61. Hornberg C., Maciuleviciute, Seemayer N. H. 1997a. Comparative Analysis of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Airborne Particulates on Human and Rodent Respiratory Cells *In Vitro*. *Toxic. in Vitro* 11: 711-715.
62. Hornberg C., Maciuleviciute, Seemayer N. H. 1997b. Genotoxic effects by airborne particulates on tracheobronchial epithelial cells *in vitro*. *Ann. Occup. Hyg.* 41 Supl. 1.: 24-31.
63. Hornberg C., Maciuleviciute L., Seemayer N. H., Kainka E. 1998a. Induction of sister chromatid exchanges (SCE) in human tracheal epithelial cells by the fractions PM-10 and PM-2.5 of airborne particulates. *Toxicol. Lett.* 96-7: 215-220.
64. Hornberg C., Seemayer N. H. 1995. Tracheal Epithelial Cells In Vitro as a Model to Study Genotoxicity of Airborne Particulates. *Toxic. in Vitro* 9: 397-402.
65. Hornberg C., Seemayer N. H., Kainka E. 1998b. Strong genotoxicity on human tracheobronchial epithelial cells (BEAS-2B) in vitro by the coarse (PM-10) and fine fraction (PM-2.5) of airborne particulates as an indicator of potential adverse health effects. *J. Aerosol Sci.* 29 Supl. 1: S317-S318.
66. Hozier J., Sawyer J., Moore M., Howard B., Clive D. 1981. Cytogenic analysis of the L5187Y TK +1- TK mouse lymphoma mutagenesis assay system. *Mutation Res.* 84: 167-181.
67. Hughes T. J., Pellizzari E., Little L., Sparacino C., Kolber A. 1980. Ambient air pollutants: collection, chemical characterization and mutagenicity testing. *Mutation Res.* 76: 51-83.
68. Hughes T. J., Lewtas J., Claxton L. D. 1997. Development of a Standard Reference Material for Diesel Mutagenicity in the *Salmonella* Plate Incorporation Assay. *Mutation Res.* 391: 243-258.

69. Indulski J. (red.) 1993. Przewodnik do testów krótkoterminowych przeznaczonych do wykrywania mutagennych i rakotwórczych substancji chemicznych. Kryteria zdrowotne środowiska, t. 51. Inst. Med. Pracy, Łódź.
70. Jacobs F. S., Filby R. H. 1983. Liquid chromatographic fractionation of oil-sand and crude oil asphaltenes. *Fuel* 62: 1186-1192.
71. Kaczmarek K., Zwoździak J. 1992. Stan sanitarny powietrza atmosferycznego we Wrocławiu. W: Środowisko ekologiczne i kulturowe Wrocławia. Materiały Sesji Naukowej 17 grudnia 1991 r. Wrocławskie Towarzystwo Naukowe. Wrocław
72. Kohan M., Claxton L. 1983. Mutagenicity of diesel exhaust particle extract, 1-nitropyrene, and 2,7-dinitrofluorenone in *Salmonella typhimurium* under various metabolic activation conditions. *Mutation Res.* 124: 191-200.
73. Kołwzan B., Adamiak W., Czarny A., Jadczyk P., Karpińska-Smulikowska J., Kucharczyk J., Moskal J., Pawlik M., Piekarska K., Traczewska T. Manuskrypt. Zastosowanie testów bioindykacyjnych do oceny jakości powietrza. Raporty Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska, SPR /98.
74. Krishna G., Nath J., Ong T. 1984. Correlative genotoxicity studies of airborne particles in *Salmonella typhimurium* and cultured lymphocytes. *Environ. Mutagen.* 6: 584-592.
75. Krogulski A., Borkowska M. 1996. Metoda oznaczania aktywności mutagennej substancji smołowych zawartych w pyłach powietrza atmosferycznego. *Roczn. PZH* 47: 175-180.
76. Krogulski A., Borkowska M., Strusiński A. 1997. Aktywność mutagenna pyłów powietrza atmosferycznego w Warszawie. *Roczn. PZH* 48: 31-35.
77. Kubitschek H. E., Williams D. M. 1980. Mutagenicity of fly ash from a fluidized-bed combustor during start-up and steady operating conditions. *Mutation Res.* 77: 287-291.
78. Kubitschek H. E., Williams D. M., Kirchner F. R. 1980. Correlation between particulate effluent mutagenicity and increased carbon monoxide concentration in a fluidized coal combustor. *Mutation Res.* 74: 329-333.
79. Kuo C. Y., Cheng C. Y., Chen C. Y., Lee H. 1998. Correlation between the amounts of polycyclic aromatic hydrocarbons and mutagenicity of airborne particulate samples from Taichung city, Taiwan. *Environ. Res.* 78: 43-49.
80. Lockhard J. M., Viau C. J., Lee-Stephens C., Caldwell J. C., Wojciechowski J. P., Enoch H. G., Sabharwal P. S. 1981. Induction of sister chromatid exchanges and bacterial revertants by organic extracts of airborne particles.

81. Ma T. H., Anerson V. A., Ahmed I. 1982. Environmental clastogens detected by meiotic pollen mother cells of *Tradescantia*. W: Tice R. R., Costa D. L., Schaich K. M. (red.) *Genotoxic Effects of Airbornne Agents* Plenum Press, NY: 141-157.
82. Ma T. H. 1983. *Tradescantia*-Micronucleus (Trad-MNC) test for environmental clastogens. In: Kolber A. R., Wong T. K., Grant L. D., DeWoskin R. S., Hughes T. J. (Eds.) *In vitro Toxicity Testing of Environmental Agents. Current and Future Possibilites*, Plenum Press, NY: 191-214.
83. Ma T. H. 1994. Application of quick and simple plant bioassays to assess the genotoxixity of environmental pollutants: detection of potential health hazards of air, water, soil contaminations, In Proc. EUROTOX CONgress, Toxicology in Transition, Degen G. H., Seiler J. P., Bentley P. (Eds.). Basel Schwirtzerland, August 21-24, 1994, Springer: 420-433.
84. Ma T. H., Harris M. M., Anderson V. A., Ahmed I., Mohammad K., Bare J. L., Lin G. 1984. *Tradescantia*-Micronucleus (Trad-MCN) tests on 140 health related agents. *Mutation Res.* 138: 157-167.
85. Ma T. H., Sparrow A. H., Schairer L. A., Nauman A. F. 1978. Effects of 1,2-dibromoethane (DBE) on meiotic chromosomes of *Tradescantia*. *Mutation Res.* 58: 251-258.
86. Ma T. H., Xu C., Liao S., McConnell H., Jeong B. S., Won C. D. 1996. *In situ* monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and incinerator. *Mutation Res.* 359: 39-52.
87. Madsen E. S., Nielsen P. A., Pedersen J. Ch. 1982. The distribution and origin of mutagens in airborne particulates, detected by *Salmonella*/microsome assay in relation to levels of lead, vanadium and PAH. *Science Total Environ.* 24: 13-25.
88. Manabe S., Kurihara N., Wada O., Izumikawa S., Asakuno K., Morita M. 1993. Detection of a Carcinogen, 2-Amino-1methyl-6-phenylimidazo[4,5b]pyridine, in Airborne Particles and Diesel-Exhaust Particles. *Environ. Pollut.* 80: 281-287.
89. Maron D. M., Ames B. N. 1983. Revised metods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.* 113: 173-215.
90. Matsumoto H., Inoue K. 1987. Mutagenicity of a Polar Portion in the Neutral Fraction Separated from Organic Extracts of Airborne Partyiculates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 409-416.
91. Matsumoto Y., Sakai S., Kato T., Nakajima T., Satoh H. 1998. Long-Term Trends of Particulate Mutagenic Activity in the Atmosphere of Sapporo. Determination of

- Mutagenic Activity by the Conventional Tester Strains TA98 and TA100 during an 18-Year Period (1974-1992). *Environ. Sci. Technol.* 32: 2665-2671.
92. Menck H. R., Casagrande J. T., Henderson B. E. 1974. Industrial Air Pollution: Possible Effect on Lung Cancer. *Science* 183: 210-212.
 93. Mičieta K., Murín G. 1996. Microspore analysis for genotoxicity of polluted environment. *Environ. Exp. Botany* 36:21-27.
 94. Mičieta K., Murín G. 1998. Three species of genus *Pinus* suitable as bioindicators of polluted environment. *Water, Air, Soil Poll.* 104: 413-422.
 95. Möller L., Lax I., Torndal U.-B. Eriksson L. C. 1993. Risk Assessment of Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Risk Analysis* 13: 291-299.
 96. Møller M., Alfheim I. 1983. Mutagenicity of air samples from various combustion sources. *Mutation Res.* 116: 35-46.
 97. Møller M., Hagen I., Ramdahl T. 1985. Mutagenicity of polycyclic aromatic compounds (PAC) identified in source emissions and ambient air. *Mutation Res.* 157: 149-156.
 98. Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Yu F., Sato S., Shimada H., Sutou S., Suzuki T., Wakata A., Sofuni T., Hayashi M. 1997. Evaluation of the Rodent Micronucleus Assay in the Screening of the IARC Carcinogens (Groups 1, 2A and 2B). The Summary Report of the 6th Collaborative Study by CSGMT/JEMS MMS. *Mutation Res.* 389: 3-122.
 99. Morris W. A., Versteeg J. K., Bryant D. W., Legzidins A. E., McCarry B. E., Marvin C. H. 1995. Preliminary Comparisons between Mutagenicity and Magnetic Susceptibility of Respirable Airborne Particulate. *Atmos. Environ.* 29: 3441-3450.
 100. Morris W. A., Versteeg J. K., Bryant D. W., Legzidins A. E., McCarry B. E., Marvin C. H. 1995. Preliminary Comparisons between Mutagenicity and Magnetic Susceptibility of Respirable Airborne Particulate. *Atmos. Environ.* 29: 3441-3450.
 101. Motykiewicz G., Cimander B., Szeliga J., Tkocz A., Choraży M. 1990. Mutagenic activity of complex air pollutants in Silesia. *Complex Mixtures and Cancer Risk*: 261-268.
 102. Motykiewicz G., Hadnagy W., Seemayer N. H., Szeliga J., Tkocz A., Choraży M. 1991. Influence of airborne suspended matter on mitotic cell division. *Mutation Res.* 260: 195-202.

103. Motykiewicz G., Mańka G., Cimander B., Chorąży M. 1985. Mutagenic Activity in Air-Borne Particulate Pollutants at Industrial District of Silesia. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences - Biological Sciences* 33: 7-16.
104. Motykiewicz G., Michalska J., Szeliga J., Cimander B. 1988. Mutagenic and clastogenic activity of direct-acting components from air pollutants of the Silesian industrial region. *Mutation Res.* 204: 289-296.
105. Motykiewicz G., Pendzich J. 1991. Aktywność genotoksyczna zanieczyszczeń powietrza. *Biotechnologia* 13-14: 112-119.
106. Motykiewicz G., Szeliga J., Cimander B., Chorąży M. 1989. Seasonal variations in mutagenic activity of air pollutants at an industrial district of Silesia. *Mutation Res.* 223: 243-251.
107. Motykiewicz G., Szeliga J., Seemayer N. H. 1995. Phenotypic Transformation of Hamster Kidney Cells by Extracts of Airborne Pollutants from Upper Silesia. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences - Biological Sciences* 43: 99-103.
108. Murín G., Mičieta K., Knasmüller S., Steinkellner J. 1996. Bioindikácia rádioaktívne kontaminovaných plôch v okolí jadrovej elektrárne Jaslovské Bohunice. *Život. Prostr.* 30: 140-142.
109. Nielsen P. A., Jensen L. 1991. Emission of PAH and mutagenic activity from furnaces fueled with cereal straw or wood chips. *Chemosphere* 23: 723-735.
110. Nielsen T., Jørgensen H. E., Larsen J. Chr. Poulsen M. 1996. City air pollution of polycyclic aromatic hydrocarbons and other mutagens: occurrence, sources and health effects. *Sci. Total Environ.* 189/190: 41-49.
111. NIOSH. 1988. Current Intelligence Bulletin 50: Carcinogenic Effects of Exposure to Diesel Exhaust. USDHHS (NIOSH) Publication 88-116.
112. Nylund L., Hakala E., Sorsa M. 1992. Application of a semi-automate SOS chromotest for measuring genotoxicities of complex environmental mixtures containing polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Res.* 276: 125-132.
113. Oda Y., Nakamura S., Oki L., Shinagawa H. 1985. Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. *Mutation Res.* 147: 219-229.
114. Ohnishi Y., Kachi K., Sato K., Tahara I., Takeyoshi H., Tokiwa H. 1980. Detection of mutagenic activity in automobile exhaust. *Mutation Res.* 77: 229-240.

115. Overbo S., Fjeldstd P. E., Grzybowska E. Kure E. H., Chorąży M., Haugen A. 1995. Biological Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure in a Highly Polluted Area of Poland. *Environ. Health Persp.* 103: 838-843.
116. Pawlaczyk-Szpilowa M., Kołwzan B., Traczewska T. Manuskrypt. Zagrożenie zdrowia ludności wybranych dzielnic m. Wrocławia zanieczyszczeniami o charakterze mutagennym i rakotwórczym, występujących w środowisku naturalnym. Raporty Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska, SPR 33/91.
117. Pitts Jr. J. N., Harger W., Lokensgard D. M., Fitz D. R., Scorziell G. M., Mejia V. 1982. Diurnal variations in the mutagenicity of airborne particulate organic matter in California's south coast air basin. *Mutation Res.* 104: 35-41.
118. Pitts Jr. J. N., van Cauwenberghe K. A., Grosjean D., Schmid J. P., Fitz D. R., Belser Jr. W. L., Knudson G. B., Hynds P. M. 1978. Atmospheric Reactions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Facile Formation of Mutagenic Nitro Derivates. *Science* 202: 515-519.
119. Pruul R., Nyland L., Peltonen K., Sorsa M., Veidebaum T. 1996. Environmental Genotoxicity in an Estonian Oil Shale Industrial Area. *ATLA* 24: 419-422.
120. Pyysalo H., Tuominen J., Wickström K., Skyttä E., Tikkanen L., Salomaa S., Sorsa M., Nurmela T., Mattila T., Pohjola V. 1987. Polycyclic organic material (POM) in urban air. Fractionation, chemical analysis and genotoxicity of particulate and vapour phases in an industrial town in Finland. *Atm. Env.* 21: 1167-1180.
121. de Raat W. K. 1983. Genotoxicity of aerosol extracts. Some methodological aspects and the contribution of urban and industrial locations. *Mutation Res.* 116: 47-63.
122. de Raat W. K., Bakker G. L., Meijere F. A. 1990. Comparison of Filter Materials Used for Sampling of Mutagens and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Airborne Particles. *Atmos. Environ.* 24A: 2875-2888.
123. de Raat W. K., Boers J. P., Bakker G. L., de Meijere F. A., Hooimeijer A., Lohman P. H. M., Mohn G. R. 1994. Contribution of PAH and Some of Their Nitrated Derivatives to the Mutagenicity of Ambient Airborne Particles and Coal Fly Ash. *Sci. Total. Environ.* 153: 7-29.
124. de Raat W. K., Kooijman S. A., Gielen J. W. 1987. Concentrations of Polycyclic Hydrocarbons in Airborne Particles in the Netherlands and Their Correlation with Mutagenicity. *Sci. Total Environ.* 66: 95-115.

125. de Raat W. K., Meijere F. A. 1988. The mutagenicity of Ambient Air from Local Traffic and Distant Sources During Episodes with Moderate Photochemical Air Pollution. *Sci. Total. Environ.* 73: 159-180.
126. Rejmer P. 1997. Podstawy ekotoksykologii. Ekoinżynieria Lublin.
127. Roepstorff V., Ostefeld N., Autrup H. 1990. Extracts of airborne particulates collected at different locations in the Copenhagen area induce the expression of cytochrome P-450IA1. *J. Toxicol. Environ. Health* 30: 225-237.
128. Rosenkranz H. 1987. Diesel Emissions Revisited: Is the Carcinogenicity Due to a Genotoxic Mechanism? *Mutation Res.* 182: 1-4.
129. Rosenkranz H. S. 1982. Direct-acting mutagens in diesel exhausts: magnitude of the problem. *Mutation Res.* 101: 1-10.
130. Rosenkranz H. S., Marmelstein R. 1983. Mutagenicity and genotoxicity on nitroarenes. All nitro-containing chemicals were not created equal. *Mutation Res.* 114: 217-267.
131. Rossi C., Poli P., Buschini A., Cassoni F., Cattani S., DeMunari E. 1995. Comparative investigations among meteorological conditions, air chemical-physical pollutants and airborne particulate mutagenicity: a long-term study (1990-1994) from a northern Italian town. *Chemosphere* 30: 1829-1845.
132. Sasaki J., Arey J., Harger W. P. 1995. Formation of Mutagens from the Photooxidations of 2-4-Ring PAH. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1324-1335.
133. Scarpato R., Di Marino F., Strano A., Curti A., Campagna R., Loprieno N., Barrai Barale R. 1993. Two years' air mutagenesis monitoring in a northwestern rural area of Italy with an industrial plant. *Mutation Res.* 319: 293-301.
134. Schürer C.-C., Manojlovic N., Seemayer N. H. 1980. Induction of sister chromatid exchange in human cells *in vitro* by the mutagenic effect of city smog. *Mutation Res.* 74: 164-165.
135. Schürer C.-C., Seemayer N. H., Manojlovic N. 1983. Induction of sister chromatid exchange in human lymphocytes *in vitro* by extracts of airborne particulate matter: comparison of samples from highly industrialized area followed up for several years. *Mutation Res.* 113: 347.
136. Seemayer N. 1978. Zelltransformation von Hamsternierenzellen *in vitro* unter dem Einfluß von atmosphärischen Feinstaubextrakten und dem Papavavirus SV40. *Staub-Reinhalte, Luft* 38: 254-258.

137. Seemayer N. H., Hornberg C. 1998. Malignant transformation of Syrian hamster kidney cells in vitro by interaction of airborne particulates and simian virus (SV-) 40. *Toxicol. Lett.*
138. Seemayer N. H., Manojlovic N., C.-C. Schürer, Tomingas R. 1984. Cell cultures as a tool for detection of cytotoxic, mutagenic and carcinogenic activity of airborne particulate matter. *J. Aerosol Sci.* 15: 426-430.
139. Seemayer N. H., Schürer C.-C., König H., Manojlovic N. 1985. Mutagenicity of airborne pollutants: induction of point mutations and sister chromatid exchanges in tissue culture cells. *Mutation Res.* 147: 134-135.
140. Seemayer N., Manojlovic N., Tomingas R. 1980. Die Wirkung von kanzerogenen Stoffen, insbesondere von atmosphärischen Feinstaubextrakten, im Zelltransformationstest, Luftverunreinigung durch polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe-Erfassung und Bewertung. *VDI-Berichte* 358: 285-292.
141. Seinfeld J. H., Pandis S. N. Atmospheric chemistry and physics. From air pollution to Climate Change. A Wiley & Sons, INC. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto.
142. Seńczuk W. (red.) 1994. Toksykologia. Podręcznik dla studentów farmacji. PZWL Warszawa.
143. Szeliga J., Choraży M., Cimander B. 1991. Ilościowa i jakościowa analiza chemiczna ekstraktów pyłu zawieszonego w powietrzu na terenie województwa katowickiego. *Biotechnologia* 13-14: 102-111.
144. Szeszenia-Dąbrowska M. 1994. Skutki zdrowotne zanieczyszczenia środowiska. Biblioteka Monitoringu Środowiska. Warszawa.
145. Szymczak W., Szeszenia-Dąbrowska M. 1995. Szacowanie ryzyka zdrowotnego związanego z zanieczyszczeniem środowiska. Biblioteka Monitoringu Środowiska. PIOŚ Warszawa.
146. Talcott R., Harger W. 1980. Airborne mutagens extracted from particles of respirable size. *Mutation Res.* 79: 177-180.
147. Tennant R. W., Margolin B. H., Shelby M. D., Zeiger E., Haseman J. K., Spalding J., Caspary W., Resnick M., Stasiewicz S., Anderson B., Minor R. 1987. Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays. *Science* 236: 933-941.

148. Teranishi K., Hamada K., Watanabe H. 1975. Quantitative relationship between carcinogenicity and mutagenicity of polyaromatic hydrocarbons in *Salmonella typhimurium* mutants. *Mutation Res.* 31: 97-102.
149. Teranishi K., Hamada K., Watanabe H. 1978. Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* mutants of the benzene-soluble organic matter derived from air-borne particulate matter and its five fractions. *Mutation Res.* 56: 273-280.
150. Tokiwa H., Kitamori S., Takahashi K., Ohnishi Y. 1980. Mutagenic and chemical assay extracts of airborne particulates. *Mutation Res.* 77: 99-108.
151. Tokiwa H., Nakagawa R., Morita K., Ohnishi Y. 1981. Mutagenicity of nitro derivatives by exposure of aromatic compounds to nitrogen dioxide. *Mutation Res.* 85: 195-205.
152. Tokiwa H., Nakagawa R., Ohnishi Y. 1981. Mutagenic assay of aromatic nitro compounds with *Salmonella typhimurium*. *Mutation Res.* 91: 321-325.
153. Topinka J., Binkova B., Mrackova G., Benes I., Dejmek J., Lenicek J., Sram R. J. 1997. DNA adducts in human placenta as related to air pollution and to GSTM1 genotype. *Mutation Res.* 390: 59-68.
154. Tsai J.-H., Peng B.-H., Lee D.-Z., Lee Ch.-Ch. 1995. PAH characteristics and genotoxicity in the ambient air of a petrochemical industry complex. *Environ. International* 21: 47-56.
155. Tuominen J., Salomaa S., Pysalo H., Skyttä E., Tikkanen L., Nurmela T., Sorsa M., Pohjola V., Sauri M., Himberg K. 1988. Polynuclear Aromatic Compounds and Genotoxicity in Particulate and Vapor Phases of Ambient Air: Effect of Traffic, Season and Meteorological. *Environ. Sci. Technol.* 22: 1228-1234.
156. Valerio F., Brescianini C., Pala M., Lazzarotto A., Balducci D., Vincenzo F. 1992. Sources and atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in two Italian towns (Genoa and La Spezia). *The Science of the Total Environment* 114: 47-57.
157. van Houdt J. J. 1990. Mutagenic activity of airborne particulate matter in indoor and outdoor environments. *Atmospheric Environment* 24B: 207-220.
158. van Houdt J. J., Alink G. M., Boleij J. S. M. 1987. Mutagenicity of airborne particles related to meteorological and air pollution parameters. *The Science of the Total Environment* 61: 23-36.
159. Van't Hof J., Schairer L. A. 1982. *Tradescantia* assay system for gaseous mutagens, a report of U. S. EPA Gene-Tox Program. *Mutation Res.* 99: 303-315.

160. Vargas V. M. F., Horn R. C., Guidobono R. R., Mittelstaedt A. B., de Azevedo I. G. 1998. Mutagenic activity of airborne particulate matter from the urban area of Porto Alegre, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 21: 247-253.
161. Viras L. G., Athanasiou K., Siskos P. A. 1990. Determination of mutagenic activity of airborne particulates and of the benzo[α]pyrene concentrations in Athens atmosphere. *Atmospheric Environment* 24B: 267-274.
162. Walker R. D., Connor T. H., MacDonald E. J., Trieff N. M., Legator M. S., MacKenzie K. W., Dobbins J. G. 1982. Correlation of Mutagenic Assessment of Houston Air Particulate Extracts in Relation to Lung Cancer Mortality Rates. *Environ. Res.* 28: 303-312.
163. Wasserkort R., Hartmann A., Widmer R. M., Burtscher H. 1998. Correlation between on-line PAH detection in airborne particle samples and their bacterial genotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 40: 126-136.
164. Watanabe M., Ishidate Jr. M., Nohmi T. 1989. A sensitive method for the detection of mutagenic nitroarenes: construction of nitroreductase-overproducing derivatives of *Salmonella typhimurium* strains TA 98 i TA 100. *Mutation Res.* 216: 211-220.
165. Watanabe M., Ishidate Jr. M., Nohmi T. 1990. Sensitive method for the detection of mutagenic nitroarenes and aromatic amines: new derivatives of *Salmonella typhimurium* tester strains possessing elevated *O*-acetyltransferase levels. *Mutation Res.* 234: 337-348.
166. Watanabe M., Sofuni T., Nohmi T. 1993. Comparison of the sensitivity of *Salmonella typhimurium* strains YG 1024 and 1012 for detecting the mutagenicity of aromatic amines and nitroarenes. *Mutation Res.* 301: 7-12.
167. Westerholm R. N., Almén J., Li H., Rannug J. U., Egeäck K.-E., Grägg K. 1991. Chemical and Biological Characterization of Particulate-, Semivolatile-, and Gas-Phase-Associated Compounds in Diluted Heavy-Duty Diesel Exhausts: A Comparison of Three Different Semivolatile-Phase Samplers. *Environ. Sci. Technol.* 25: 332-338.
168. Westerholm R., Almén J., Hang L., Rannug U., Rosén A. 1990. Chemical analysis and biological testing of exhaust emissions from two catalyst equipped light duty vehicles operated at constant cruising speeds 70 and 90 km/h and during acceleration conditions from idling up to 70 and 90 km/h. *Sci. Total. Envir.* 93: 191-198.
169. Westerholm R., Almen J., Li H., Rannug U., Rosén A. 1992. Exhaust emissions from gasoline-fuelled light duty vehicles operated in different driving conditions: a chemical and biological characterization. *Atmospheric Environment* 26B: 79-90.

170. Węgleński P. (red.) 1996. Genetyka molekularna. PWN Warszawa.
171. de Wiest F., Rondia D., Gol-Winkler R., Gielen J. 1982. Mutagenic activity of non-volatile organic matter associated with suspended matter in urban air. *Mutation Res.* 104: 201-207.
172. Wise S. S., Chesler S. N., Hilpert L. R., May W. E., Rebbert R. E., Vogt C. R., Nishioka M. G., Austin A., Lewtas J. 1985. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-substituted polycyclic aromatic hydrocarbons and mutagenicity testing for the characterization of ambient air particulate matter. *Environment. International* 11: 147-160.
173. You J.-H., Chiang P.-Ch., Chang K.-T., Chang S.-Ch. 1994. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and mutagenicity of soot particulates in air emissions from two-stage incineration of polystyrene. *J. Hazardous Mater.* 36: 1-17.
174. Zakrzewski S. F. 1995. Podstawy toksykologii środowiska. PWN Warszawa.
175. Zimmermann F. K. 1975. Procedures used in the induction on mitotic recombination and mutation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Res.* 31: 71-86.
176. Zimmermann F. K., von Borstel R. C., von Halle E. S., Parry J. M., Siebert D., Zetterberg G., Barale R., Loprieno N. 1984. Testing of chemicals for genetic activity with *Saccharomyces cerevisiae* of the U. S. Environment Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Res.* 133: 199-244.
177. Zwoździak A., Lisowski A., Jagiełło R., Zwoździak J. Manuskrypt a. Przemiany związków organicznych i ich identyfikacja. Etap II. Raporty Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej. SPR /87
178. Zwoździak A., Zygmunt K., Zwoździak J., Lisowski A. 1988. Pobór prób aerozolu atmosferycznego do pomiaru stężeń wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w powietrzu. *Ochrona Powietrza XXII/122(2)*: 37-40
179. Zwoździak J. 1982. Pył jakiego nie znamy. *Aura* 8: 16-17.
180. Zwoździak J., Lisowski A., Zwoździak A. 1986. Zanieczyszczenie powietrza wielopierścieniowymi węglowodorami atmosferycznymi w otoczeniu elektrowni węglowych. *Ochrona Środowiska* 488/3(29): 17-19.
181. Zwoździak J., Lisowski A., Zwoździak A. Manuskrypt b. Przemiany związków organicznych i ich identyfikacja. Etap I. Raporty Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej. SPR 33/86.

8. ZAŁĄCZNIKI

8.1. PODŁOŻA MIKROBIOLOGICZNE I ROZTWORY

Frakcja mikrosomalna wątroby szczurzej S9

homogenat wątroby	2 cm ³
sole MgCl ₂ -KCl	1 cm ³
1 M glukoza-6-fosforan	0,25 cm ³
0,1 M NADP	2 cm ³
0,2 M bufor fosforanowy pH 7,4	25 cm ³
sterylna woda destylowana	19,75 cm ³
Filtrowano filtrem Seitz'a.	

Agar odżywczy

Difco Bacto Nutrient Broth	8 g
NaCl	5 g
agar	15 g
woda destylowana	1000 cm ³
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

1 M glukoza-6-fosforan

glukoza-6-fosforan	2,32 g
sterylna woda destylowana	10 cm ³
Filtrowano filtrem 0,22 mm.	

Roztwór soli do frakcji S9

KCl	61,5 g
MgCl ₂ • 6 H ₂ O	40,7 g
woda destylowana	do 500 cm ³
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

0,2 M bufor fosforanowy o pH 7,4

0,2 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	60 cm^3
0,2 M Na_2HPO_4	440 cm^3
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

TOP-agar

agar	6 g
NaCl	5 g
woda destylowana	100 cm^3
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

0,5 mM roztwór histydyny i biotyny

D-biotyna (m. m. 247,3 g)	30,9 mg
L-histydyna (m. m. 191,7 g)	24,0 mg
woda destylowana	250 cm^3
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

Podłoże minimalne Vogel i Bonnera

agar	15 g
glukoza 40%	50 cm^3
zateżony roztwór soli Bonnera	20 cm^3
woda destylowana	930 cm^3
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C.	

Zateżony roztwór soli Vogel i Bonnera

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	10 g
jednowodny kwas cytrynowy	100 g
K_2HPO_4	500 g
$\text{NaH}_2\text{NH}_4\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	175 g
woda destylowana	670 cm^3
Autoklawowano 20 minut w temperaturze 121°C .	

Podłoże YPG

ekstrakt drożdżowy	1%
pepton	2%
glukoza	2%
agar	2%

8.2. TABELE

Tab. 1. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego PM 10

Miesiąc	liczba filtrów	objętość powietrza [m ³]	Masa próby [g]	Masa ekstraktu [g]
Sierpień	27	43934,4	1,7979	0,1895
Wrzesień	22	35798,4	1,4614	0,1938
Październik	18	29289,6	0,9913	0,1856
Listopad	18	29289,6	2,0426	0,4195
Grudzień	21	34171,2	2,2029	0,5789
Styczeń	20	32544,0	2,0727	0,4235
Luty	22	35798,4	1,8394	0,3054
Marzec	25	40680,0	1,8902	0,3198
Kwiecień	23	37425,6	1,4666	0,1833
Maj	24	39052,8	1,2686	0,1094
Czerwiec	22	35798,4	0,9927	0,0769
Lipiec	27	43934,4	1,0301	0,0671

Tab. 2. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego pobranego latem

nr	Miejsce poboru próby	Objętość powietrza [m ³]	Masa pyłu [mg]	Masa ekstraktu [mg]
1	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	6700	447,7	8,6
2	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	4750	191,0	10,5
3	Ul. Sienkiewicza	5600	423,2	25,4
4	Ul. Krowia	3000	109,6	27,6
5	Ul. Mieszkańska	4050	198,4	11,0
6	Ul. Chełmońskiego	3700	221,5	8,6
7	Ul. Zwycięska	4200	129,0	13,2
8	Ul. Stabłowicka	5800	96,0	10,8
9	Mokry Dwór	4500	107,7	11,3
10	Ul. Skarżyńskiego	4700	109,8	13,3

Tab. 3. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego pobranego zimą

nr	Miejsce poboru próby	Objętość powietrza [m ³]	Masa pyłu [mg]	Masa ekstraktu [mg]
1	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	3750	258,1	28,3
2	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy .	3150	101,3	33,1
3	Ul. Sienkiewicza	3750	540,9	107,3
4	Ul. Krowia	3200	157,0	23,3
5	Ul. Mieszczańska	3750	339,2	87,8
6	Ul. Chełmońskiego	5250	241,6	31,5
7	Ul. Zwycięska	3150	177,4	32,0
8	Ul. Stabłowicka	4400	154,1	36,0
9	Mokry Dwór	3750	184,7	30,0
10	Ul. Skarżyńskiego	3150	104,5	29,2

Tab. 4. Czasy retencji i jony fragmentacyjne WWA

Nazwa związku chemicznego	Czas retencji (±1 s)	Wybrane charakterystyczne jony fragmentacyjne
Naftalen	9,35	128
Acenaftalen	13,05	152
Acenaften	13,49	154
Fluoren	14,70	166
Fenantren	16,95	178
Antracen	17,06	178
Fluoranten	19,80	202
Piren	20,31	202
Benzo(a)antracen	23,22	228
Chryzen	23,32	228
Benzo(b)fluoranten	25,66	252
Benzo(k)fluoranten	25,72	252
Benzo(a)piren	26,32	252
Indeno(1,2,3-c,d)piren	28,66	276
Dibenzo(a,h)antracen	28,72	278
Benzo(g,h,i)perylen	29,26	276

Tab. 5. Występowanie WWA z listy EPA w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

związek chemiczny	miesiąc											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
fenantren					+		+					
antracen			+	+		+		+				
fluoranten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
piren	+		+	+	+	+	+	+	+	+		
benzo(a)antracen					+	+	+					
chryzen						+	+		+	+		
benzo(k)fluoranten					+	+			+	+	+	
benzo(a)piren	+		+		+	+	+	+	+	+		
benzo(ghi)perylene	+			+	+						+	
indeno(1,2,3-cd)piren			+	+							+	

Tab. 6. Występowanie innych WWA w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

związek chemiczny	miesiąc											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
metrylopiren						+	+					
benzo(e)piren	+		+		+				+	+		
cyklopochoodne pirenu					+	+	+	+	+			
metrylochryzen					+		+		+			
benzochryzen	+											
dibenzochryzen				+	+					+	+	
benzofluoren			+		+	+	+	+	+		+	
metrylofluoren		+										
benzofluoranten			+		+	+			+	+		
metryloantracen				+		+	+					
metrylobenzoantracen				+	+							
benzofenantren				+		+						
cyklopentafenantren							+					
perylene		+				+			+			
trifenylen		+	+	+	+		+	+			+	
metrylotrifenylen				+			+					
benzoacefenantrylen											+	
fenynaftlen					+							

Tab. 7. Występowanie innych związków o budowie pierścieniowej w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

związek chemiczny	miesiąc											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
pochodne pirydyny		+	+		+	+	+		+	+	+	+
pochodne chinoliny	+	+		+			+					
etydibenzotiofen				+		+	+					
nitrofenole									+		+	
dimetylofenol											+	
aminoantracenodion										+		+
benzoantracenon				+		+	+		+	+	+	
naftydioksyoon											+	
fluorenon				+			+					
fenalenon				+		+	+					
antracenodion		+			+	+	+	+	+	+	+	
fenindion							+					
nitroimidazol	+											
aminometyloantracenodion	+											
antraceamina				+								
akrydina				+			+					
benzokarbazol							+					
pochodna azepiny							+					
fenetrol				+								
kotynina									+		+	
terfenyl									+			
naftalenoanhydryna									+			
antracenokarbonitryl									+			
benzonaftofuran						+						

Tab. 8. Zawartość WWA z listy EPA w 1 g badanych pyłów pobranych latem [µg]

Związek	Pl. Grunwaldzki - tydzień	Pl. Grunwaldzki - weekend	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszkańska	Ul. Chelmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Naftalen	2	27	5	12	5	12	17	23	10	15
Acenaftalen	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0
Acenaftlen	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0
Fluoren	4	44	4	22	11	18	28	41	19	28
Fenantren	15	60	18	79	22	21	39	58	30	21
Antracen	11	6	3	11	0	4	17	22	0	0
Fluoranten	38	88	3	160	30	22	57	56	29	53
Piren	25	58	27	101	25	16	51	47	47	41
Benzo(a)antracen	10	27	15	43	13	8	36	31	0	15
Chryzen	31	62	47	152	38	31	86	67	0	51
Benzo(b)fluoranten	18	35	26	105	261	16	96	54	19	31
Benzo(k)fluoranten	0	37	29	101	28	15	85	72	21	33
Benzo(a)piren	208	597	329	983	315	185	1013	961	226	379
Dibenzo(a,h)antracen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Benzo(g,h,i)perylene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Indeno(1,2,3-cd)piren	5	11	7	28	12	8	31	140	11	15
Suma 16 WWA	367	1052	513	1797	760	356	1556	1603	412	682

Tab. 9. Zawartość WWA z listy EPA w 1 g badanych pyłów pobranych zimą [µg]

Związek	Pl. Grunwaldzki - tydzień	Pl. Grunwaldzki - weekend	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszczńska	Ul. Chełmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Naftalen	12	0	5	22	8	12	0	0	0	21
Acenaftalen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acenaftlen	17	94	15	22	23	13	0	169	0	54
Fluoren	29	67	19	39	19	25	12	128		63
Fenantren	191	799	303	155	355	139	80	201	107	569
Antracen	25	94	58	31	103	27	18	37	28	116
Fluoranten	363	166	740	312	1080	242	190	270	29	1079
Piren	335	1331	696	303	965	222	166	218	246	827
Benzo(a)antracen	247	584	376	246	561	209	136	121	127	495
Chryzen	298	675	403	317	545	243	165	199	143	591
Benzo(b)fluoranten	205	401	258	219	349	172	114	133	67	336
Benzo(k)fluoranten	240	450	293	265	399	207	127	141	73	379
Benzo(a)piren	3551	6627	4915	3784	6727	3079	1604	1805	1015	5285
Dibenzo(a,h)antracen	16	30	20	0	37	14	0	0	0	27
Benzo(g,h,i)perylene	0	0	11	0	18	0	0	0	0	14
Indeno(1,2,3-cd)piren	36	65	38	44	60	35	15	21	12	112
Suma 16 WWA	5565	11383	8150	5759	11249	4639	2627	3788	1847	9968

Tab. 10. Stężenie w atmosferze WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych latem [ng/m³]

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszcząńska	Ul. Chełmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Naftalen	0,1	1,1	0,4	0,4	0,2	0,7	0,5	0,4	0,2	0,3
Acenaftalen	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0
Acenaften	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Fluoren	0,3	1,8	0,3	0,8	0,5	1,1	0,9	0,7	0,4	0,6
Fenantren	1,0	2,4	1,4	2,9	1,1	1,2	1,2	1,0	0,6	0,4
Antracen	0,7	0,3	0,2	0,4	0,0	0,2	0,5	0,4	0,0	0,0
Fluoranten	2,6	3,5	0,2	5,9	1,5	1,3	1,7	0,9	0,6	1,1
Piren	1,7	2,3	2,0	3,7	1,2	1,0	1,6	0,8	0,9	0,8
Benzo(a)antracen	0,7	1,1	1,1	1,6	0,6	0,5	1,1	0,5	0,0	0,3
Chryzen	2,1	2,5	3,6	5,6	1,9	1,9	2,6	1,1	0,0	1,0
Benzo(b)fluoranten	1,2	1,4	2,0	3,8	12,8	1,0	3,0	0,9	0,4	0,6
Benzo(k)fluoranten	0,0	1,5	2,2	3,7	1,4	0,9	2,6	1,2	0,4	0,7
Benzo(a)piren	13,9	24,0	24,9	35,9	15,5	11,1	31,1	15,9	4,5	7,6
Dibenzo(a,h)antracen	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Benzo(g,h,i)perylene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Indeno(1,2,3-cd)piren	0,4	0,5	0,5	1,0	0,6	0,5	1,0	2,3	0,2	0,3
Suma 16 WWA	24,6	42,3	38,8	65,7	37,2	21,3	47,8	26,5	8,3	13,6

Tab. 11. Stężenie w atmosferze WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą [ng/m³]

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszcząńska	Ul. Chełmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Naftalen	0,8	0,0	0,8	1,1	0,7	0,5	0,0	0,0	0,0	0,6
Acenaftalen	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Acenaften	1,2	3,0	2,1	1,1	2,1	0,6	0,0	3,7	0,0	1,6
Fluoren	1,9	2,2	2,7	1,9	1,7	1,2	0,7	2,8	0,0	1,8
Fenantren	13,1	25,7	43,8	7,6	32,1	6,4	4,6	4,4	5,2	16,5
Antracen	1,7	3,0	8,3	1,5	9,3	1,2	1,0	0,8	1,4	3,4
Fluoranten	25,0	51,6	106,8	15,3	97,7	11,1	10,8	5,9	1,4	31,2
Piren	23,0	42,8	100,4	14,9	87,3	10,2	9,4	4,8	12,1	25,2
Benzo(a)antracen	17,0	18,8	54,3	12,1	50,7	9,6	7,7	2,7	6,2	14,3
Chryzen	20,5	21,7	58,1	15,5	49,3	11,2	9,4	4,4	7,0	17,1
Benzo(b)fluoranten	14,1	12,9	37,1	10,7	31,6	7,9	6,5	2,9	1,3	9,7
Benzo(k)fluoranten	16,5	14,5	78,2	13,0	36,1	9,5	7,2	3,1	3,6	11,0
Benzo(a)piren	244,4	213,1	709,0	185,6	608,5	141,7	91,1	39,7	50,0	152,9
Dibenzo(a,h)antracen	1,1	1,0	2,9	0,0	3,3	0,7	0,0	0,0	0,0	0,8
Benzo(g,h,i)perylen	0,0	0,0	1,6	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
Indeno(1,2,3-cd)piren	2,5	2,1	5,6	2,2	5,4	1,6	0,8	0,5	0,6	3,2
Suma 16 WWA	382,8	412,4	1211,6	282,5	1017,3	213,5	149,1	75,8	88,9	289,6

Tab. 12. Inne WWA zaadsorbowane na pyłach pobranych latem

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszczańska	Ul. Chełmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
metylofluoren	+									
benzofenon		+				+			+	+
tetrametofenyletylen						+				
propenyloksybenzen								+		
dimetylsilafluoren									+	

Tab. 13. Inne związki pierścieniowe zaadsorbowane na pyłach pobranych latem

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszczańska	Ul. Chełmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Pochodne benzaldehydu									+	
pochodne fenolu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tetrametylobifenyl			+							
fenoksyetanol									+	
Aminy aromatyczne	+									
Pochodne furanu		+								

Tab. 14. Inne WWA zaadsorbowane na pyłach pobranych zimą

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszczńska	Ul. Chelmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
benzofluoren	+	+	+		+		+		+	
metylofluoren			+							
Trifenylen	+	+		+	+		+		+	
metyloantracen	+	+			+					
metylobenzo(a)antracen			+							
metylofenantren		+	+		+					
fenylnaftalen		+	+						+	
fenylnaften					+					
metylochryzen					+					
metylopiren		+	+	+	+		+			
benzo(e)piren		+			+					
benzo(g,h,i) fluoranten		+	+							
pochodne fenylu					+			+		

Tab. 15. Inne związki pierścieniowe zaadsorbowane na pyłach pobranych zimą

Związek chemiczny	Pl. Grunwaldzki – dni robocze	Pl. Grunwaldzki – dni wolne od pracy	Ul. Sienkiewicza	Ul. Krowia	Ul. Mieszczńska	Ul. Chelmońskiego	Ul. Zwycięska	ul. Stabłowicka	Mokry Dwór	Ul. Skarżyńskiego
Pochodne pirydyny		+			+	+	+			+
Pochodne chinoliny		+			+					
Alifatyczne pochodne fenolu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrofenole			+		+					
fluorenon	+	+					+			
antracenodion		+	+							
fenalenon			+							
benzoantracenon			+							
Nitroareny	+			+	+					
Aminoareny			+		+					
Pochodne furanu	+	+	+		+		+			
Dibenzofuramina								+		
Pochodne benzoaldehydu	+		+						+	
Bifenyl-ol			+							

Tab. 16. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w sierpniu 1997

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,0	3,1	3,6	1,3	2,3	1,2
0,2	1,8	5,5	6,5	1,4	3,2	1,5
0,4	2,3	10,2	7,6	1,5	5,8	2,5
0,8	3,0	17,7	16,6	2,2	10,0	8,6
1,6	4,6	29,0	23,3	4,4	60,6	51,0
3,2	5,5	15,6	20,4	5,6	40,1	50,5

Tab. 17. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego we wrześniu 1997

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,4	6,3	4,6	1,0	3,5	2,2
0,2	2,3	13,7	7,8	2,4	7,7	3,9
0,4	3,0	30,5	15,7	2,8	11,5	8,3
0,8	4,7	40,1	24,7	5,0	44,1	20,1
1,6	6,9	64,6	36,8	10,4	80,9	28,8
3,2	7,5	51,5	37,0	9,6	63,4	26,2

Tab. 18. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w październiku 1997

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,6	6,4	5,2	1,1	2,7	1,7
0,2	2,1	12,7	6,4	1,4	6,1	5,2
0,4	2,8	18,6	7,1	2,9	15,4	11,1
0,8	4,4	23,8	16,2	3,7	19,4	18,2
1,6	6,2	55,6	23,2	5,4	100,6	29,0
3,2	7,0	52,4	22,4	6,5	80,4	24,7

Tab. 19. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w listopadzie 1997

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,9	9,3	3,9	2,8	10,9	7,9
0,2	3,3	16,2	6,6	4,1	24,9	10,0
0,4	5,1	22,0	9,2	5,5	37,3	12,7
0,8	6,4	37,2	18,5	8,0	92,1	20,3
1,6	6,9	54,0	27,8	14,0	151,5	30,3
3,2	8,2	56,9	26,4	15,7	83,6	26,1

Tab. 20. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w grudniu 1997

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	2,2	7,0	7,7	4,8	15,7	7,5
0,2	3,9	12,3	12,4	6,0	41,7	15,8
0,4	7,9	18,3	24,1	9,6	75,3	28,3
0,8	9,5	26,0	42,0	13,7	89,3	50,8
1,6	13,5	33,4	58,1	16,0	89,1	57,3

Tab. 21. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w styczniu 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,9	8,3	3,5	1,8	9,5	4,0
0,2	2,8	8,9	5,0	2,7	11,5	7,3
0,4	4,2	13,8	7,8	5,1	23,6	15,3
0,8	5,1	22,2	15,4	6,0	43,9	20,5
1,6	9,5	38,1	17,1	6,8	55,7	40,8

Tab. 22. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w lutym 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,9	8,9	3,3	2,1	8,2	3,2
0,2	2,6	10,2	5,6	2,8	15,2	13,3
0,4	3,7	23,5	8,0	4,4	33,3	19,5
0,8	6,0	43,9	15,9	6,7	72,7	32,6
1,6	8,4	51,4	40,9	14,3	115,1	42,7

Tab. 23. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w marcu 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,3	5,3	3,5	1,5	1,5	1,1
0,2	1,4	6,5	4,8	1,9	2,3	1,5
0,4	2,6	10,8	8,8	2,1	6,0	2,3
0,8	4,2	21,9	12,8	2,6	10,3	5,4
1,6	4,6	39,5	18,2	8,5	25,7	16,8

Tab. 24. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego we kwietniu 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,3	5,3	3,5	1,5	1,5	1,1
0,2	1,4	6,5	4,8	1,9	2,3	1,5
0,4	2,6	10,8	8,8	2,1	6,0	2,3
0,8	4,2	21,9	12,8	2,6	10,3	5,4
1,6	4,6	39,5	18,2	8,5	25,7	16,8

Tab. 25. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w maju 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,3	5,3	3,5	1,5	1,5	1,1
0,2	1,4	6,5	4,8	1,9	2,3	1,5
0,4	2,6	10,8	8,8	2,1	6,0	2,3
0,8	4,2	21,9	12,8	2,6	10,3	5,4
1,6	4,6	39,5	18,2	8,5	25,7	16,8

Tab. 26. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w czerwcu 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,1	4,6	3,0	1,3	1,0	1,0
0,2	1,8	5,3	8,1	1,4	2,0	1,2
0,4	2,0	15,9	13,5	1,7	3,4	2,0
0,8	2,6	17,9	24,4	2,4	6,2	4,1
1,6	4,2	28,3	35,4	5,6	19,1	8,2

Tab. 27. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w lipcu 1998

dawka [mg]	-S9			+S9		
	TA 98	YG 1021	YG 1024	TA 98	YG 1021	YG 1024
0,1	1,3	3,9	4,8	1,2	1,0	1,0
0,2	1,7	5,3	9,3	1,3	1,5	1,2
0,4	2,0	10,0	12,9	1,7	2,7	1,6
0,8	2,7	16,6	20,2	2,2	5,6	4,4
1,6	3,7	29,2	35,2	5,3	11,7	8,2

Tab. 28. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego latem

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,2	0,9	1,7/2,0	2,2
0,2	1,4	0,9	2,4	2,6
0,4	1,7	1,2	2,8	3,2
0,8	2,1	1,9	4,5	3,6
1,6	2,8	2,7	5,7	3,9

Tab. 29. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego zimą

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	2,1	2,5	5,0
0,2	1,4	2,5	4,0	5,3
0,4	2,5	4,3	4,4	7,5
0,8	3,8	5,1	7,0	7,9
1,6	4,8	6,3	9,1	10,3

Tab. 30. Współczynniki mutagenności MR frakcji alifatycznej pyłu pobranego latem

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	0,9	1,0	1,0	1,0
0,2	1,0	0,9	0,9	0,9
0,4	1,1	0,9	1,0	1,0
0,8	1,0	1,0	1,0	0,9
1,6	1,2	1,2	1,0	1,0
3,2	1,0	1,1	0,8	0,7

Tab. 31. Współczynniki mutagenności MR frakcji alifatycznej pyłu pobranego zimą

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,0	1,0	1,0
0,2	0,9	1,2	1,2	1,1
0,4	1,1	1,3	1,0	1,1
0,8	0,9	1,0	1,0	0,9
1,6	1,0	1,1	1,0	1,0
3,2	1,3	1,1	0,9	1,0

Tab. 32. Współczynniki mutagenności MR frakcji aromatycznej pyłu pobranego latem

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	0,9	1,0	0,9
0,2	1,0	1,3	1,0	0,9
0,4	1,0	1,5	1,0	1,3
0,8	1,2	1,5	1,0	1,0
1,6	1,1	1,2	1,0	1,1
3,2	1,1	1,2	0,9	1,0

Tab. 33. Współczynniki mutagenności MR frakcji aromatycznej pyłu pobranego zimą

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,1	1,4	1,7
0,2	1,3	1,2	2,6	1,9
0,4	1,3	2,0	3,7	2,5
0,8	1,7	4,1	4,2	4,0
1,6	1,6	7,5	7,2	5,8
3,2	4,1	nie badano	nie badano	nie badano

Tab. 34. Współczynniki mutagenności MR frakcji polarnej pyłu pobranego latem

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,0	2,2	2,2
0,2	1,2	1,3	3,2	3,0
0,4	1,3	1,4	4,1	3,8
0,8	1,7	1,7	4,9	5,7
1,6	3,5	2,6	5,9	6,6

Tab. 35. Współczynniki mutagenności MR frakcji polarnej pyłu pobranego zimą

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,5	1,2	3,7	4,4
0,2	1,7	2,5	4,5	5,8
0,4	1,9	4,2	6,5	8,7
0,8	3,0	5,2	11,5	10,9
1,6	5,7	6,0	12,1	13,5

Tab. 36. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 3 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	1,8	3,6
0,2	1,0	1,0	8,5	4,1
0,4	1,4	1,2	11,3	5,7
0,8	1,5	1,6	12,0	6,1
1,6	1,6	2,2	4,6	6,4
3,2	1,7	2,4	2,7	3,8

Tab. 37. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 3 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,8	1,4	8,4	4,7
0,2	3,1	3,1	11,7	8,5
0,4	4,7	4,7	18,8	10,9
0,8	6,6	7,0	20,3	16,7
1,6	7,4	7,5	14,3	25,9
3,2	5,8	5,6	10,7	7,3

Tab. 38. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 4 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,2	2,2	1,0
0,2	1,2	1,0	2,3	1,0
0,4	1,5	1,0	2,4	1,4
0,8	1,8	1,0	3,2	1,5
1,6	1,6	1,5	6,8	2,0
3,2	1,9	1,8	4,3	2,6

Tab. 39. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 4 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,0	1,0	1,0
0,2	1,0	1,3	1,1	1,0
0,4	1,3	1,0	1,6	1,0
0,8	1,4	1,5	1,7	1,0
1,6	1,4	1,4	2,2	1,1
3,2	1,4	1,3	3,5	1,5

Tab. 40. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 5 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	1,0	1,3
0,2	1,0	1,0	0,9	1,1
0,4	1,1	1,1	1,2	1,1
0,8	1,3	1,0	0,9	1,1
1,6	1,4	1,0	1,7	1,1
3,2	1,7	1,1	2,8	1,8

Tab. 41. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 5 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,1	1,1	1,0
0,2	1,2	1,1	0,9	1,0
0,4	1,3	1,2	1,1	1,0
0,8	1,5	1,0	1,1	2,0
1,6	1,7	1,2	1,7	2,2
3,2	2,0	1,3	2,0	2,3

Tab. 42. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 6 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	0,9	1,0	0,9	1,0
0,2	1,1	1,1	1,0	1,0
0,4	1,0	1,0	1,4	1,0
0,8	1,4	1,1	1,3	1,5
1,6	1,5	1,6	1,3	2,9
3,2	1,2	1,8/1,2	3,2	1,8

Tab. 43. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 6 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,4	1,1	1,0	1,1
0,2	1,5	1,0	1,0	1,1
0,4	1,8	1,2	1,9	1,2
0,8	2,0	1,5	2,5	1,0
1,6	2,7	1,6	3,6	1,6
3,2	2,1	1,5	2,6	3,0

Tab. 44. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 7 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,0	1,3	1,0
0,2	1,0	1,0	1,1	1,0
0,4	1,0	1,1	1,3	1,1
0,8	1,0	1,0	1,3	1,1
1,6	1,0	1,1	1,5	1,0
3,2	1,0	1,0	2,5	1,2

Tab. 45. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 7 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,0	1,0	1,0
0,2	1,3	1,2	1,4	1,0
0,4	1,0	1,1	1,0	1,1
0,8	1,0	1,1	1,0	1,1
1,6	1,0	1,0		1,0
3,2	1,0	1,2	1,5	1,2

Tab. 46. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 8 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,2	1,0	1,1
0,2	1,3	1,0	1,0	1,0
0,4	1,0	1,0	0,9	0,9
0,8	1,0	1,2	1,1	1,0
1,6	1,0	1,0	1,5	1,0
3,2	1,0	1,3	2,1	1,0

Tab. 47. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 8 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	0,9	1,0
0,2	1,0	1,1	1,0	1,0
0,4	1,1	1,3	1,1	1,0
0,8	1,0	1,1	1,0	1,0
1,6	1,2	1,1	1,1	1,0
3,2	1,0	1,1	1,0	1,0

Tab. 48. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 9 pyłu pobranego latem

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,1	1,4	1,0
0,2	1,1	1,0	0,9	1,0
0,4	1,2	1,1	1,0	0,9
0,8	1,3	1,0	1,1	1,1
1,6	1,0	1,2	1,2	1,1
3,2	1,0	1,2	1,7	0,6

Tab.49. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 9 pyłu pobranego zimą

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,0	1,2	1,2
0,2	1,4	1,1	1,2	1,1
0,4	1,0	1,0	1,2	1,2
0,8	1,2	1,1	0,9	1,2
1,6	1,0	1,3	1,1	1,2
3,2	1,3	1,3	1,8	1,2

Tab. 50. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	0,9	1,3	1,8	3,8
0,2	1,3	1,1	2,0	5,4
0,4	1,4	1,1	2,9	9,1
0,8	1,7	1,2	5,9	12,4
1,6	2,2	1,9	9,3	25,2
3,2	2,4	3,3	nie badano	nie badano

Tab. 51. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy Pl. Grunwaldzkim w dni wolne od pracy

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	2,6	3,3
0,2	1,0	1,3	2,9	4,1
0,4	1,0	1,4	4,8	10,0
0,8	1,6	2,1	7,4	14,2
1,6	1,9	2,3	14,2	16,6
3,2	2,3	3,9	nie badano	nie badano

Tab. 52. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Sienkiewicza

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	3,3	4,3
0,2	1,3	1,1	4,5	7,6
0,4	1,6	1,1	9,5	14,1
0,8	2,7	1,5	16,1	21,8
1,6	4,6	2,8	30,1	42,9

Tab. 53. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Krowiej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,3	1,4	7,6	17,0
0,2	2,8	1,9	13,6	22,0
0,4	4,0	2,6	34,5	36,0
0,8	6,7	4,0	62,6	54,8
1,6	9,0	10,0	97,8	114,9

Tab. 54. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Mieszczańskiej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,2	2,1	4,2
0,2	1,1	1,1	4,3	8,5
0,4	1,4	1,5	6,4	14,9
0,8	2,3	2,0	13,2	24,1
1,6	3,5	2,2	20,4	29,1

Tab. 55. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Chelmońskiego

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,0	1,1	2,0	2,8
0,2	1,0	1,0	2,8	3,3
0,4	1,2	1,1	4,1	12,8
0,8	1,4	1,0	7,7	16,7
1,6	2,3	1,4	11,2	20,9
3,2	2,8	2,3	nie badano	nie badano

Tab. 56. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Zwycięskiej

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,3	1,0	1,4	8,7
0,2	1,5	1,1	4,2	18,7
0,4	2,1	1,2	5,1	29,6
0,8	2,6	1,3	13,2	41,3
1,6	3,0	2,4	30,8	84,1

Tab. 57. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Stabłowickiej

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,3	1,0	1,4	4,9
0,2	1,5	1,1	4,2	7,6
0,4	2,1	1,2	5,1	11,7
0,8	2,6	1,3	13,2	21,7
1,6	3,0	2,4	30,8	37,0

Tab. 58. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem na terenie Zakładu Uzdatniania Wody „Mokry Dwór”

Dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,3	1,2	1,8	2,9
0,2	1,2	1,1	2,4	5,6
0,4	1,3	1,4	5,0	10,6
0,8	2,0	1,7	8,8	15,2
1,6	3,0	1,9	14,9	23,3
3,2	4,8	3,3	nie badano	nie badano

Tab. 59. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Skarżyńskiego

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	0,9	1,2	3,0	3,0
0,2	1,5	1,6	4,3	8,6
0,4	1,8	2,0	8,9	19,3
0,8	2,6	2,4	17,0	22,7
1,6	3,1	2,6	26,9	39,0

Tab. 60. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	2,2	1,4	8,4	16,0
0,2	2,7	1,6	12,1	28,3
0,4	4,0	3,4	14,5	67,4
0,8	5,4	6,7	16,7	94,0
1,6	7,3	10,8	18,2	127,3

Tab. 61. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy Pl. Grunwaldzkim w dni wolne od pracy

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	2,4	2,0	16,7	18,3
0,2	3,9	3,9	25,4	44,9
0,4	6,4	4,2	38,9	58,9
0,8	7,5	9,0	69,3	80,9
1,6	9,0	10,8	79,8	95,5

Tab. 62. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Sienkiewicza

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	2,7	2,1	17,9	40,8
0,2	4,0	4,6	28,3	52,9
0,4	8,0	5,7	38,2	56,7
0,8	10,1	12,3	89,2	82,2
1,6	13,6	14,1	146,8	92,0

Tab. 63. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Krowiej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	3,5	2,3	6,4	14,8
0,2	5,8	2,6	7,8	32,6
0,4	8,2	3,6	8,8	43,0
0,8	12,2	6,0	17,2	70,8
1,6	21,1	10,6	22,1	82,2

Tab. 64. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Mieszczańskej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	4,8	3,1	10,7	14,0
0,2	8,3	4,3	20,4	26,7
0,4	9,9	7,8	39,1	38,0
0,8	14,1	12,5	69,1	64,1
1,6	17,8	15,7	104,5	77,4

Tab. 65. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Chelmońskiego

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	3,6	1,5	3,8	13,2
0,2	5,4	1,9	4,8	32,0
0,4	8,8	3,9	9,8	51,2
0,8	13,4	6,3	14,9	57,0
1,6	17,4	8,3	97,7	64,7

Tab. 66. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Zwycięskiej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,6	1,5	6,8	10,8
0,2	1,8	2,1	11,3	25,8
0,4	2,9	3,0	21,2	33,5
0,8	4,4	5,6	27,5	47,1
1,6	6,3	9,3	62,3	82,8

Tab. 67. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Stabłowickiej

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	1,1	1,4	6,3	10,9
0,2	1,7	1,8	10,6	18,5
0,4	2,0	3,2	15,6	35,9
0,8	3,1	9,2	28,5	48,2
1,6	5,8	17,6	37,3	64,5

Tab. 68. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą na terenie Zakładu Uzdatniania Wody „Mokry Dwór”

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	2,0	2,4	5,0	22,8
0,2	3,6	4,4	5,6	34,2
0,4	5,1	7,7	9,9	59,6
0,8	8,0	10,6	15,0	86,9
1,6	9,4	17,4	19,0	130,3

Tab. 69. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Skarżyńskiego

dawka pyłu [mg]	TA 98 –S9	TA 98 +S9	YG 1021 –S9	YG 1024 –S9
0,1	2,5	2,6	11,5	34,9
0,2	3,7	5,0	24,9	38,7
0,4	5,1	6,4	47,7	61,5
0,8	8,0	7,9	82,8	73,1
1,6	9,8	17,7	116,1	92,9

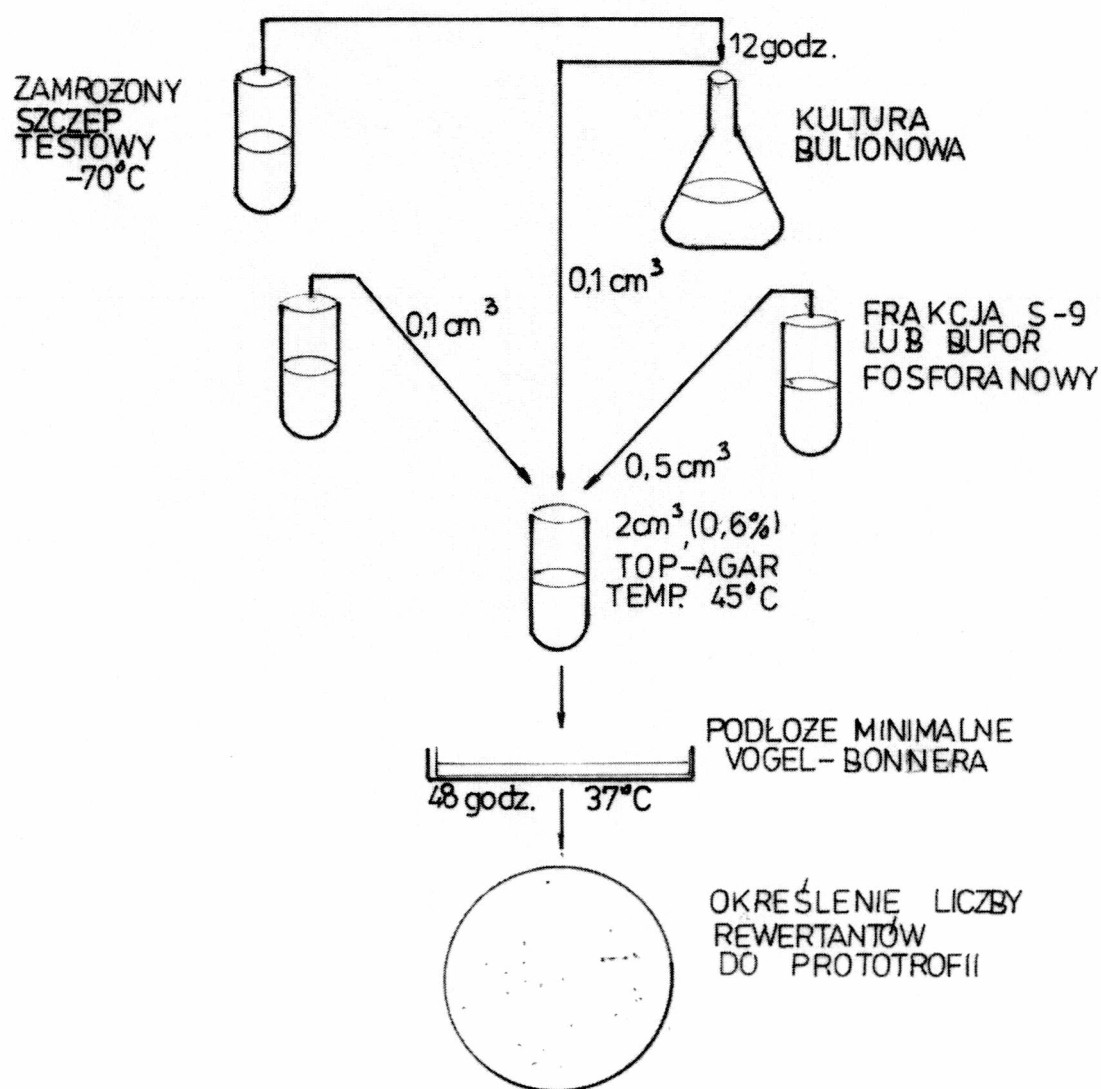
Tab. 70. Współczynniki mutagenności MR pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia w teście drożdżowym

miesiąc	współczynniki mutagenności MR dla różnych dawek pyłu [mg]			
	0,4	0,8	1,6	3,2
wrzesień	1,3	1,0	0,9	1,1
październik	0,9	1,1	1,2	1,7
listopad	1,5	1,9	1,4	1,6
styczeń	1,2	1,0	0,8	0,7
luty	0,9	0,9	0,8	0,8
marzec	1,2	1,2	1,6	1,0
kwiecień	1,9	1,7	1,6	1,6
maj	1,8	1,9	1,8	1,5
czerwiec	1,5	1,4	1,5	1,8
lipiec	2,0	1,5	1,2	2,0

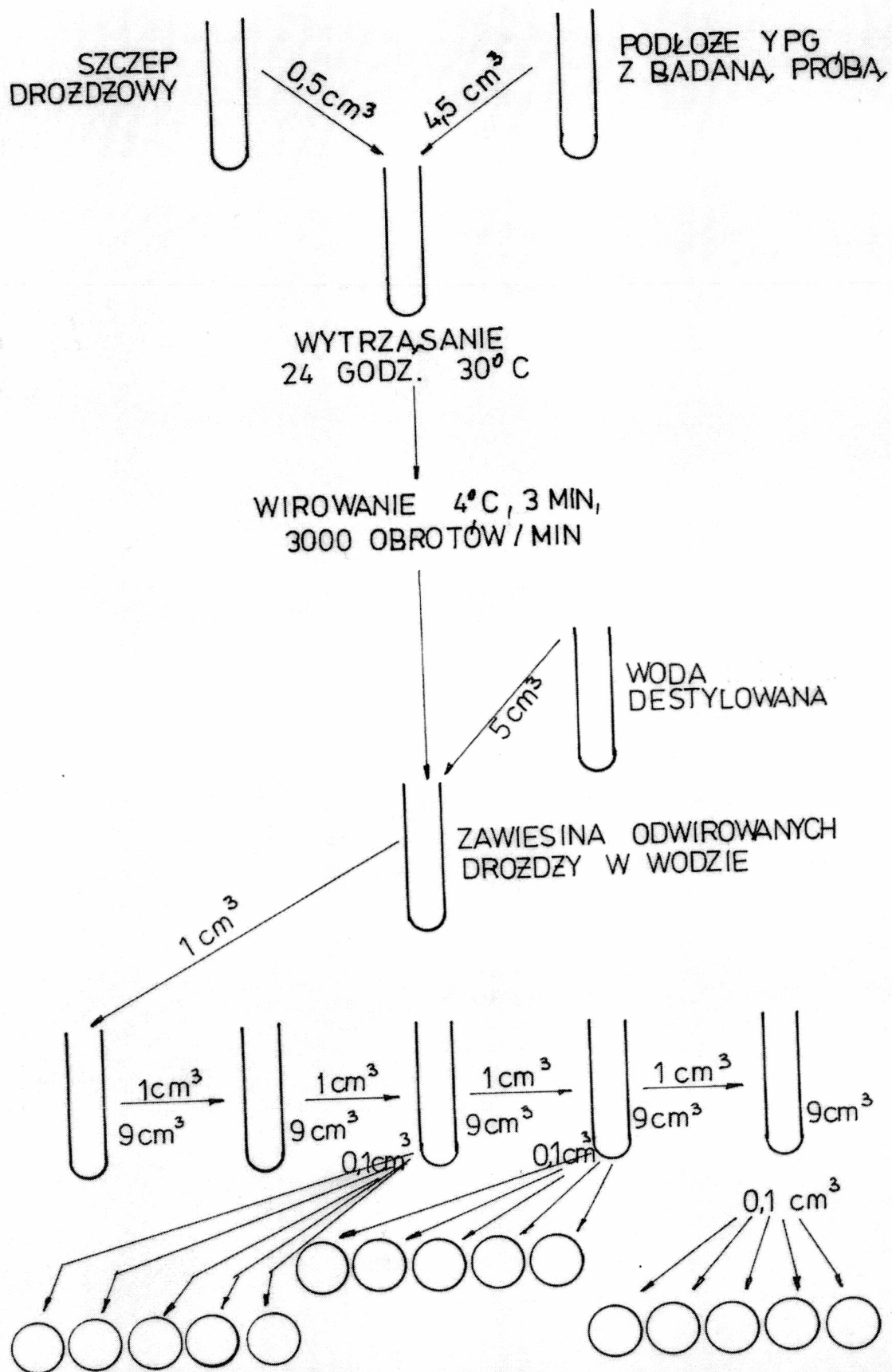
8.3. RYCINY



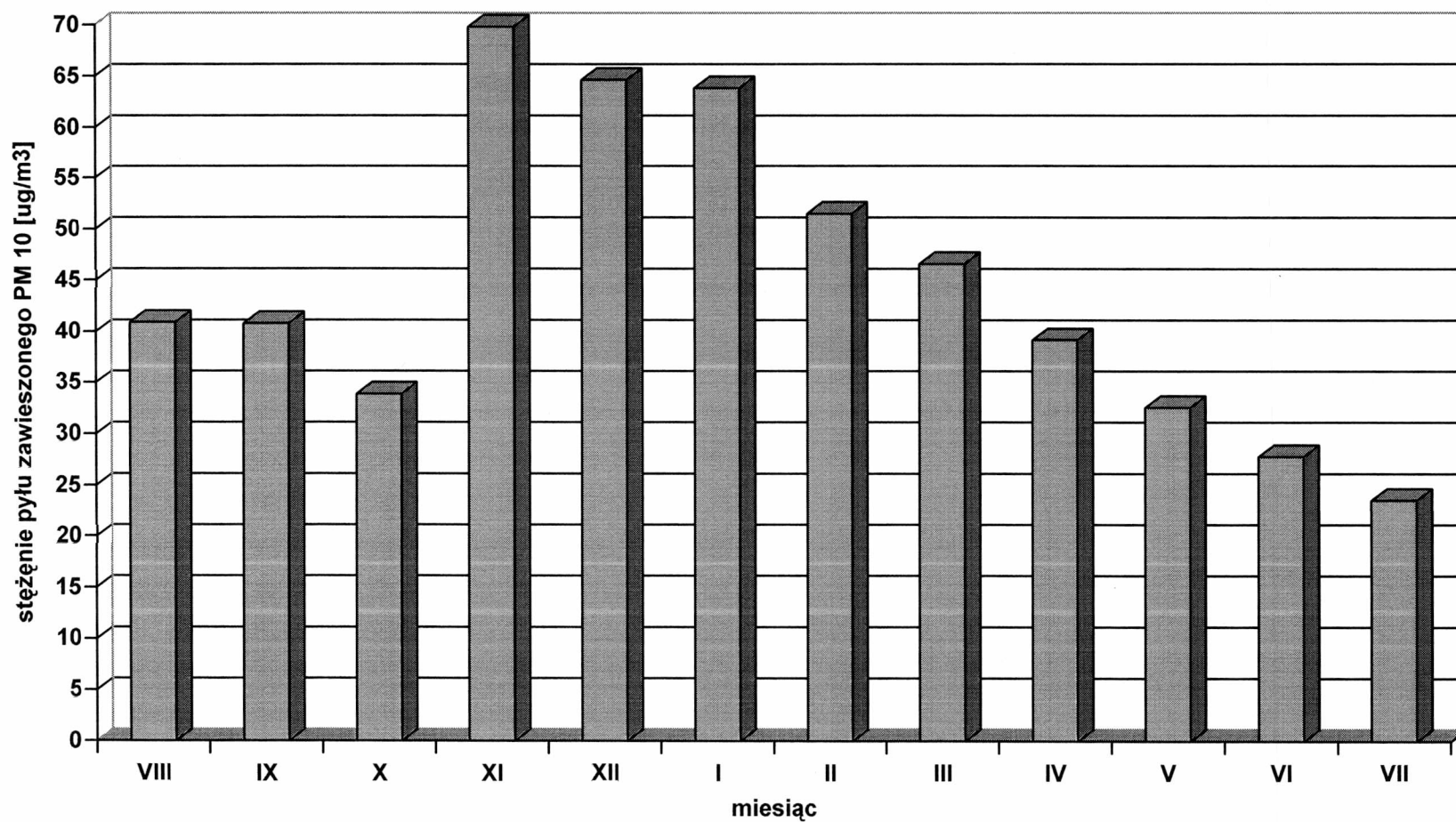
Ryc. 1. Rozmieszczenie punktów poboru prób



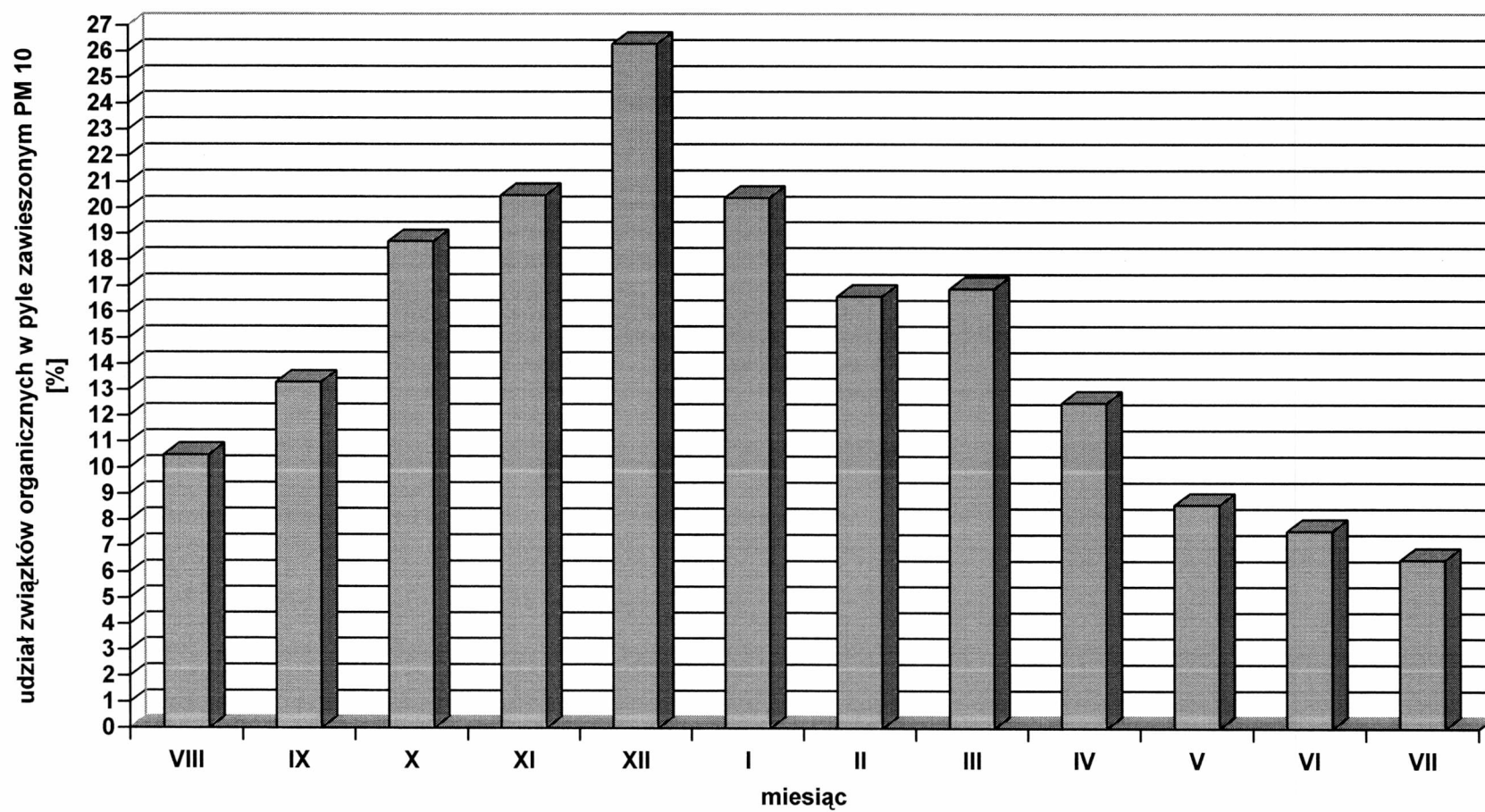
Ryc. 2. Schemat testu Ames



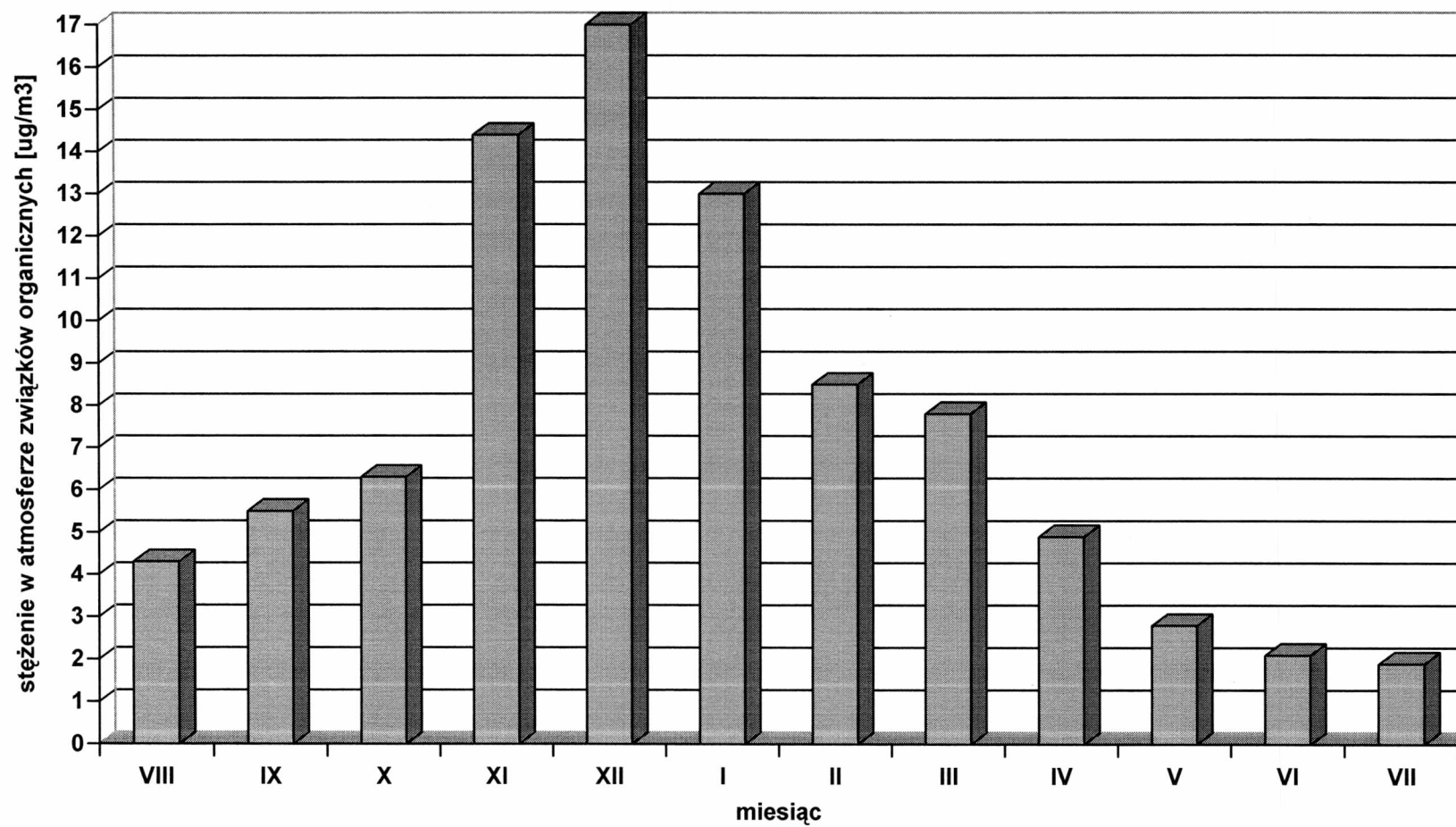
Ryc. 3. Schemat testu drożdżowego



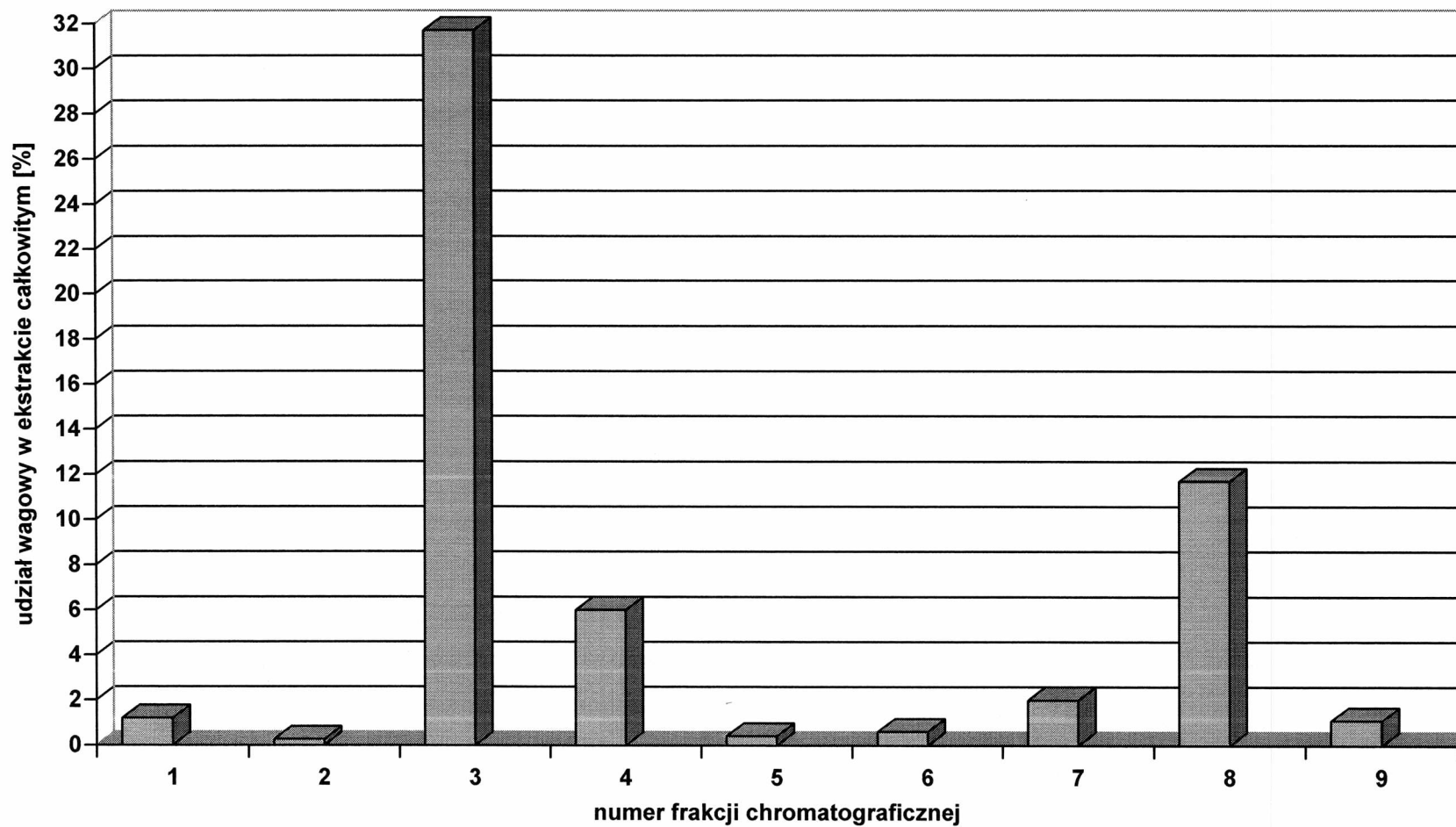
Ryc. 4. Sezonowa zmienność stężenia pyłu zawieszonego PM 10 w atmosferze w centrum Wrocławia [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



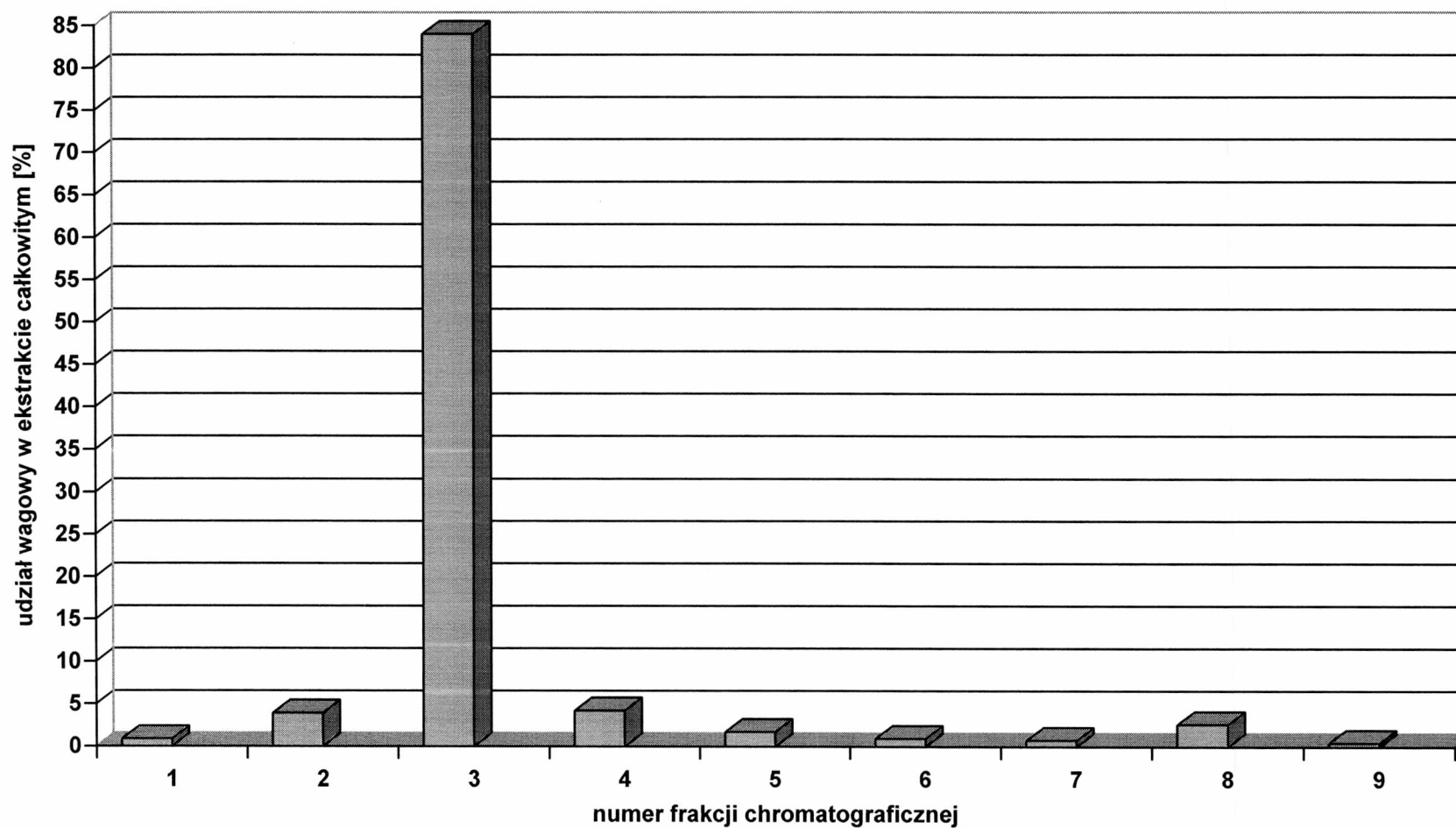
Ryc. 5. Sezonowa zmienność udziału związków organicznych w pyłe zawieszonym PM₁₀ w centrum Wrocławia [%]



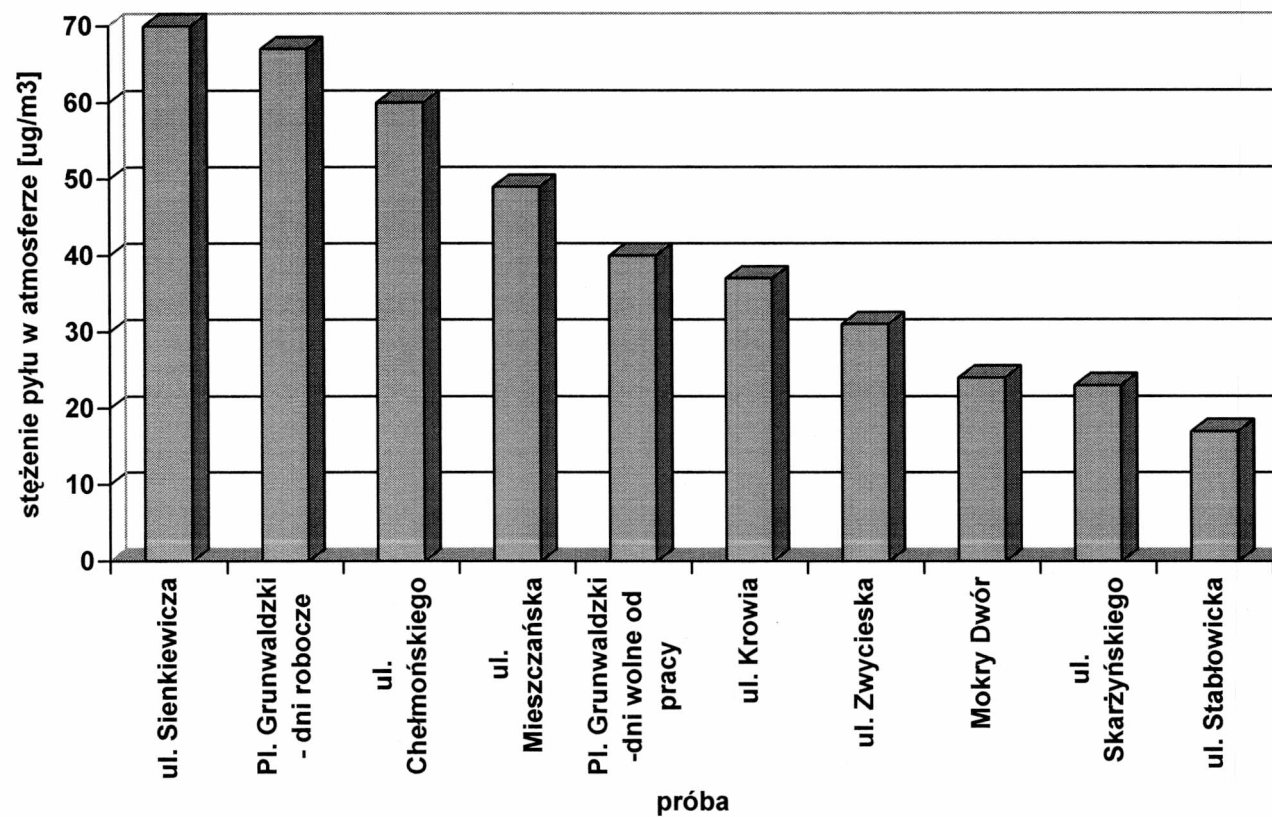
Ryc. 6. Sezonowa zmienność stężenia w atmosferze związków organicznych zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym PM 10 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



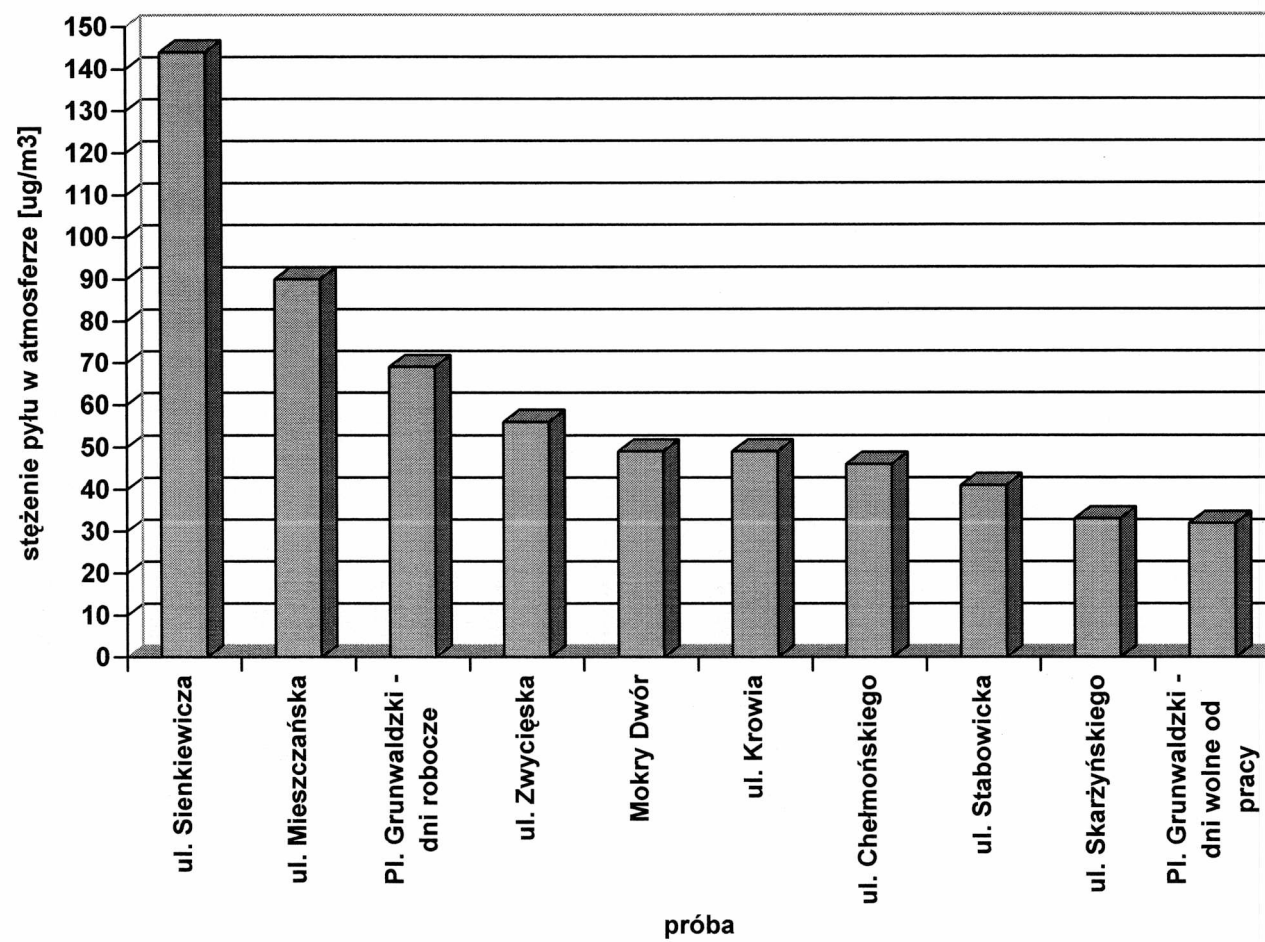
Ryc. 7. Udział wagowy frakcji chromatograficznych w ekstrakcie pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia latem [%]. 1- frakcja alifatyczna, 2-frakcja aromatyczna, 3-9 kolejne subfrakcje polarne.



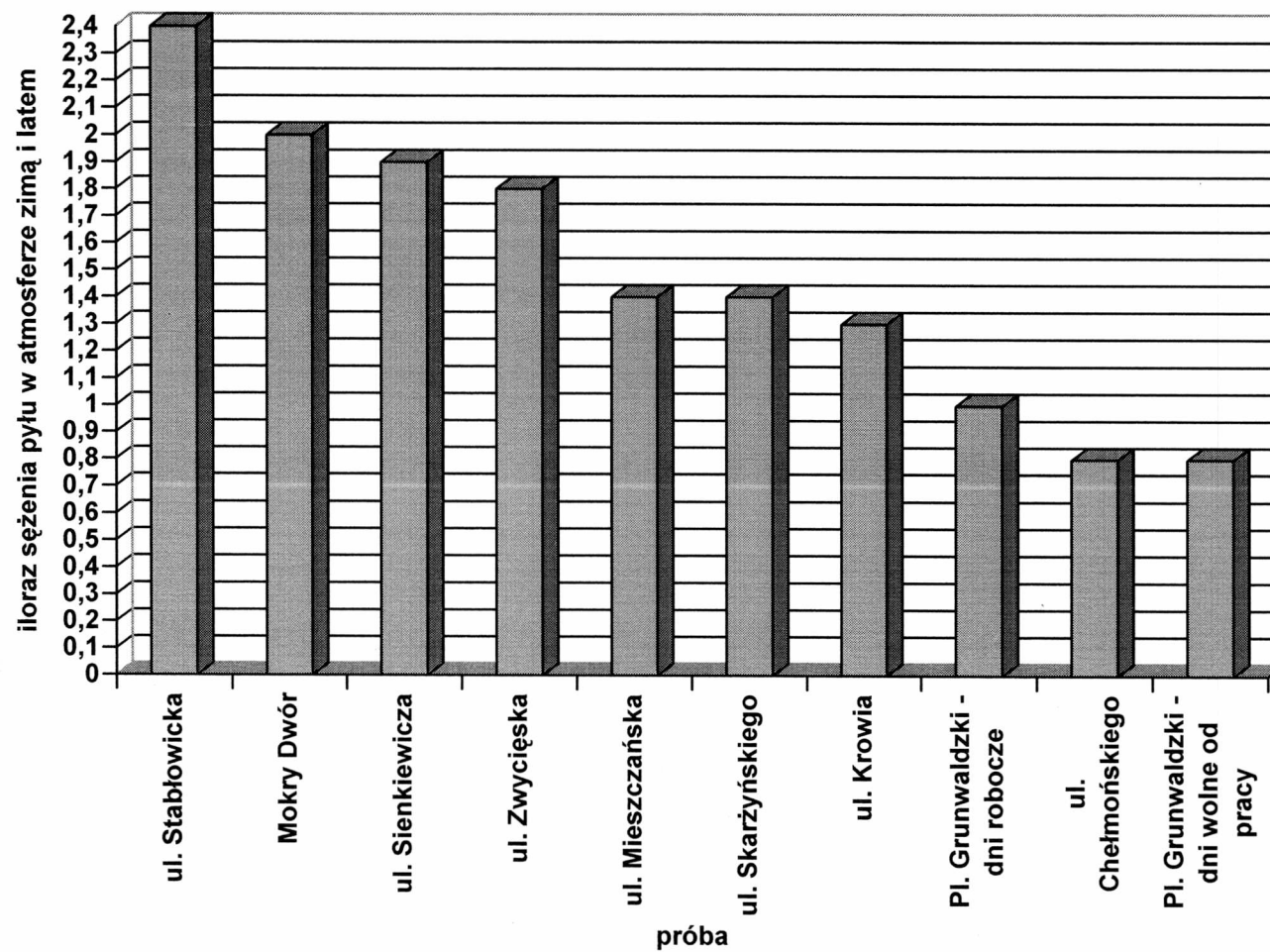
Ryc. 8. Udział wagowy frakcji chromatograficznych w ekstrakcie pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia zimą [%]. 1-frakcja alifatyczna, 2-frakcja aromatyczna, 3-9 kolejne subfrakcje polarne.



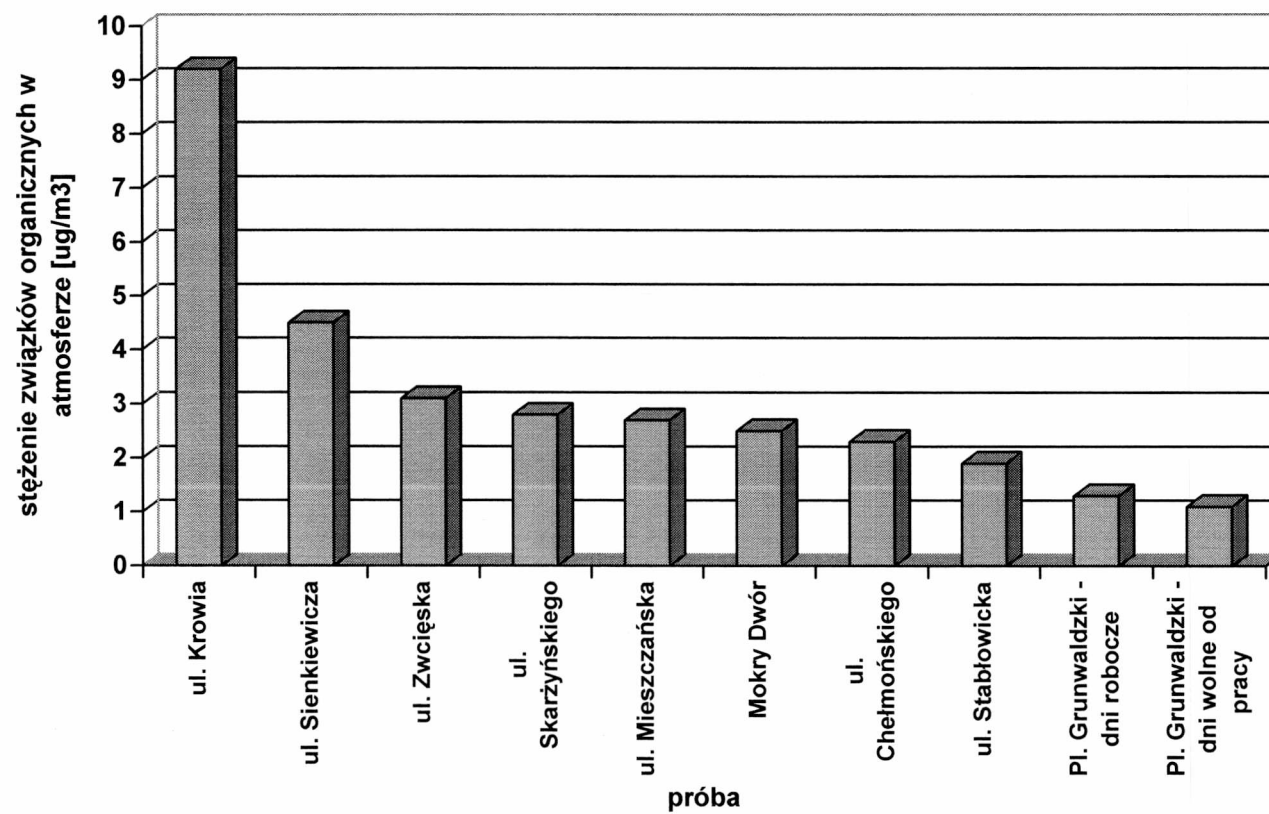
Ryc. 9. Stężenie pyłu na stanowiskach badawczych podczas poboru prób latem [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



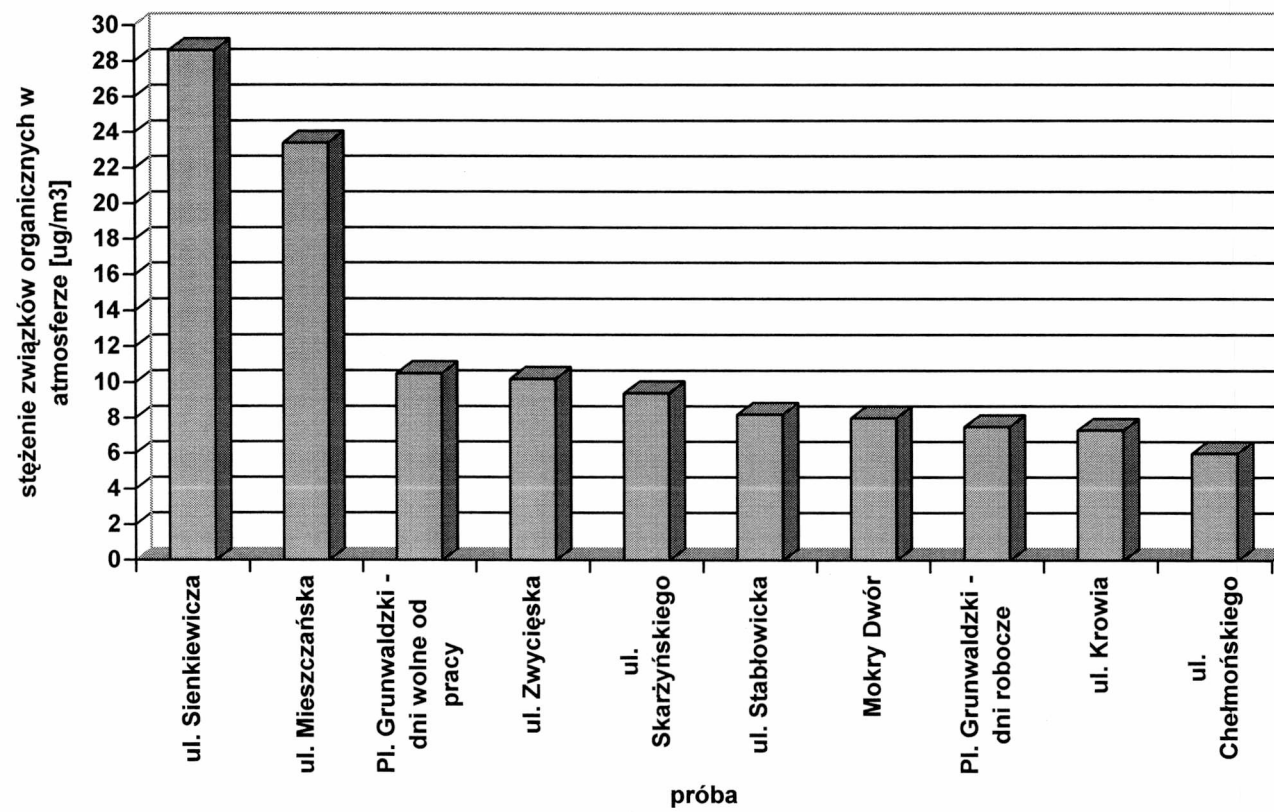
Ryc. 10. Stężenie pyłu na stanowiskach badawczych podczas poboru prób zimą [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



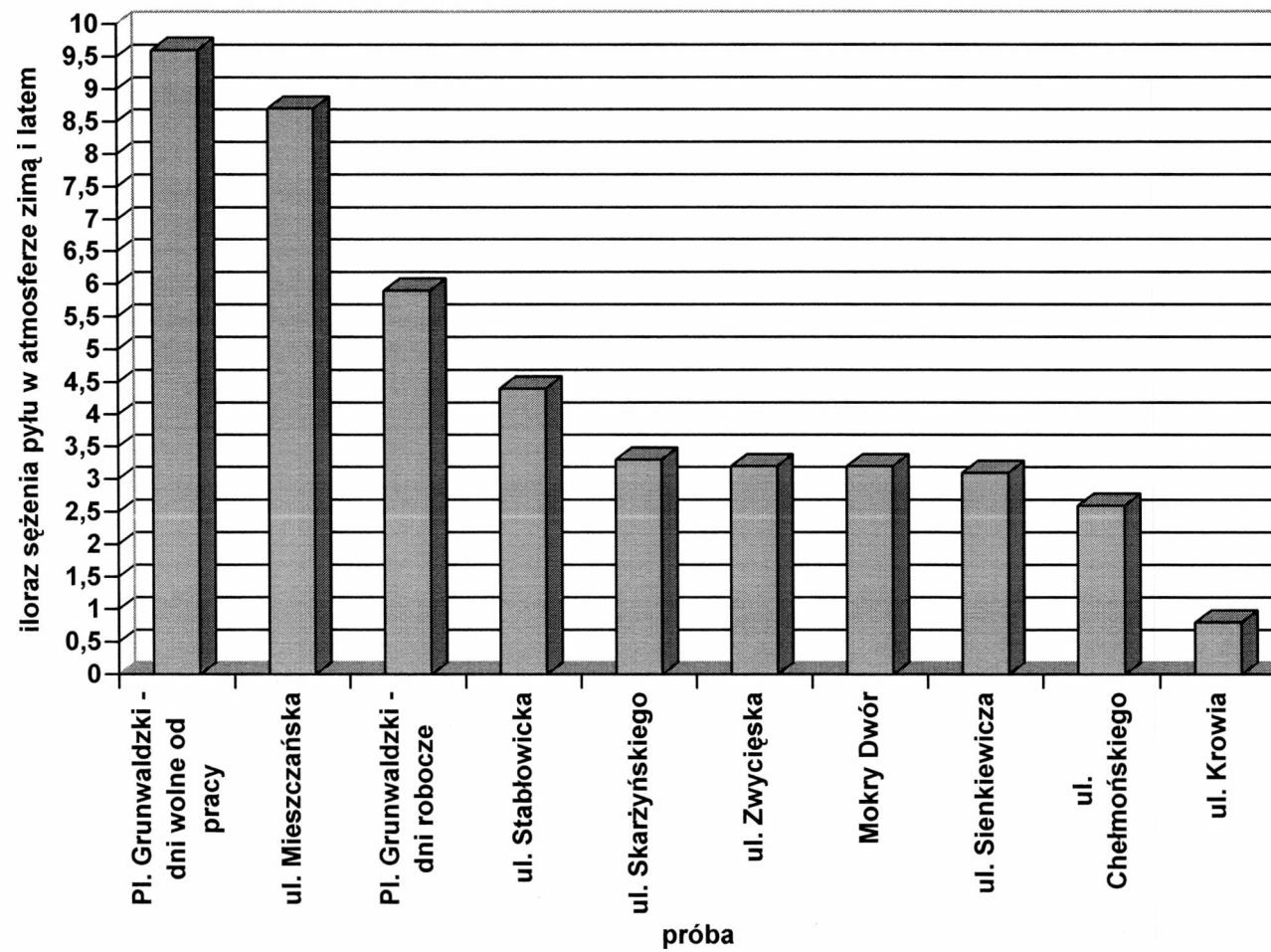
Ryc. 11. Iloraz stężenia pyłu w atmosferze zimą i latem



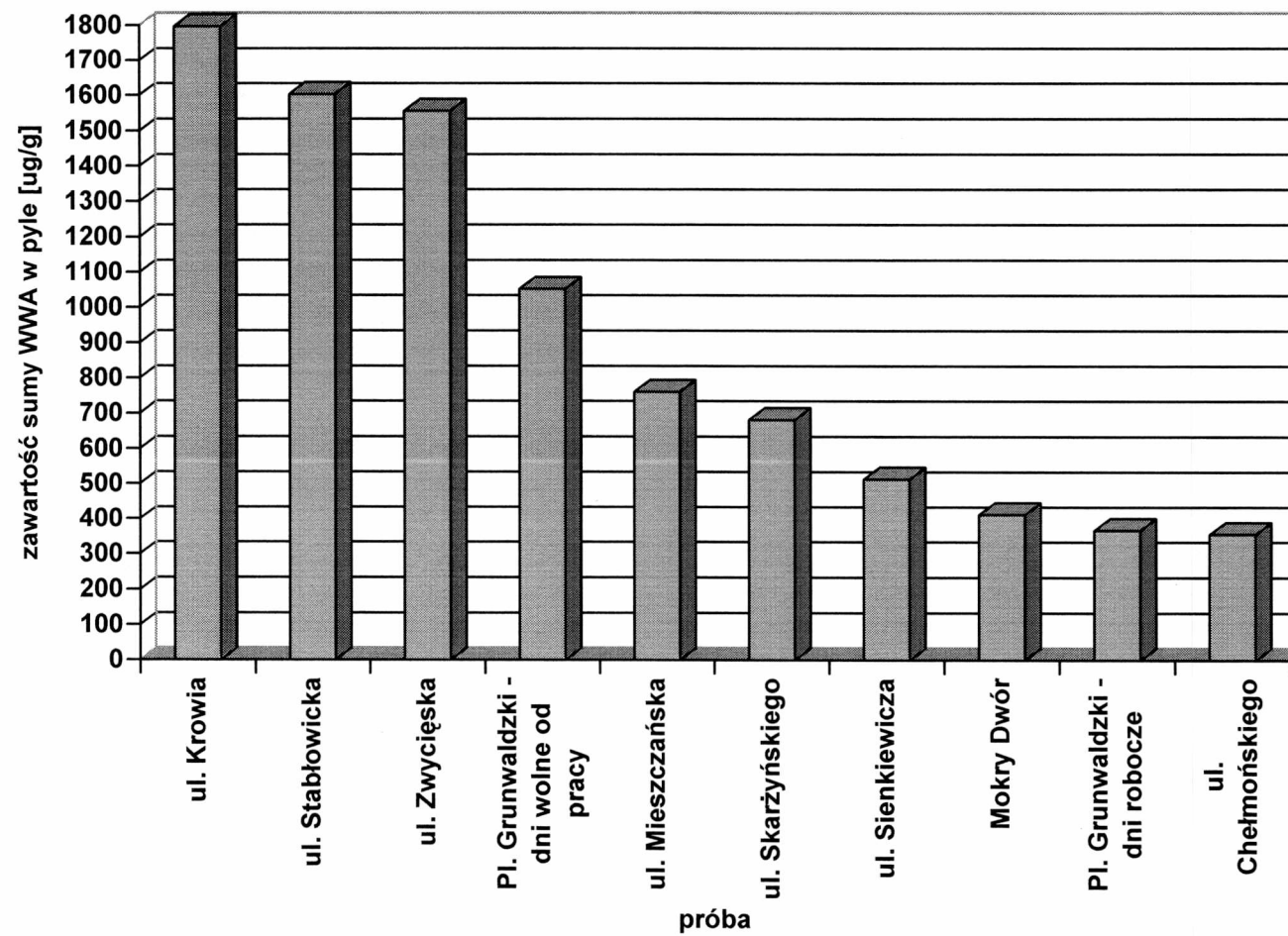
Ryc. 12. Stężenie związków organicznych w atmosferze latem [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



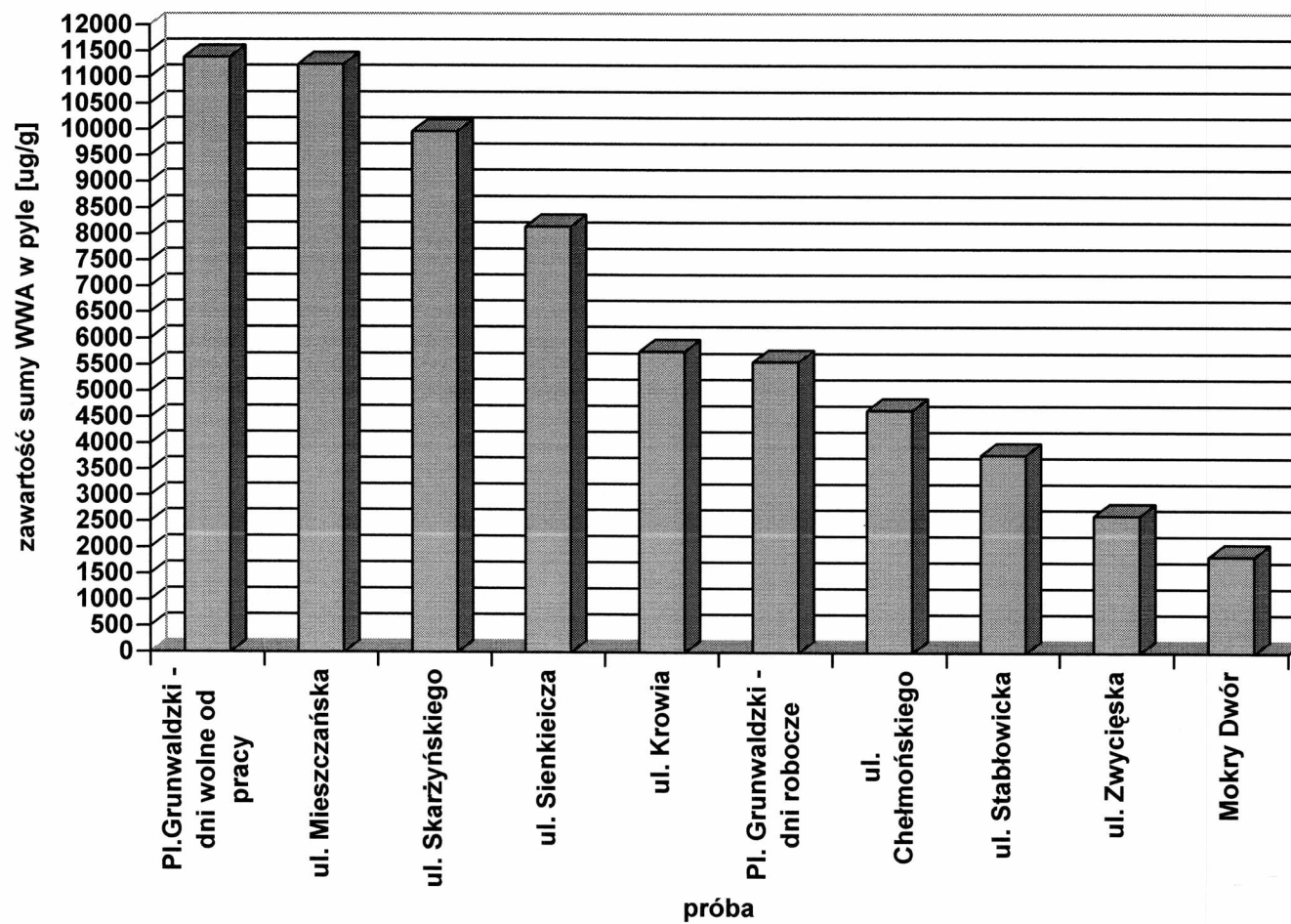
Ryc. 13. Stężenie związków organicznych w atmosferze zimą [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]



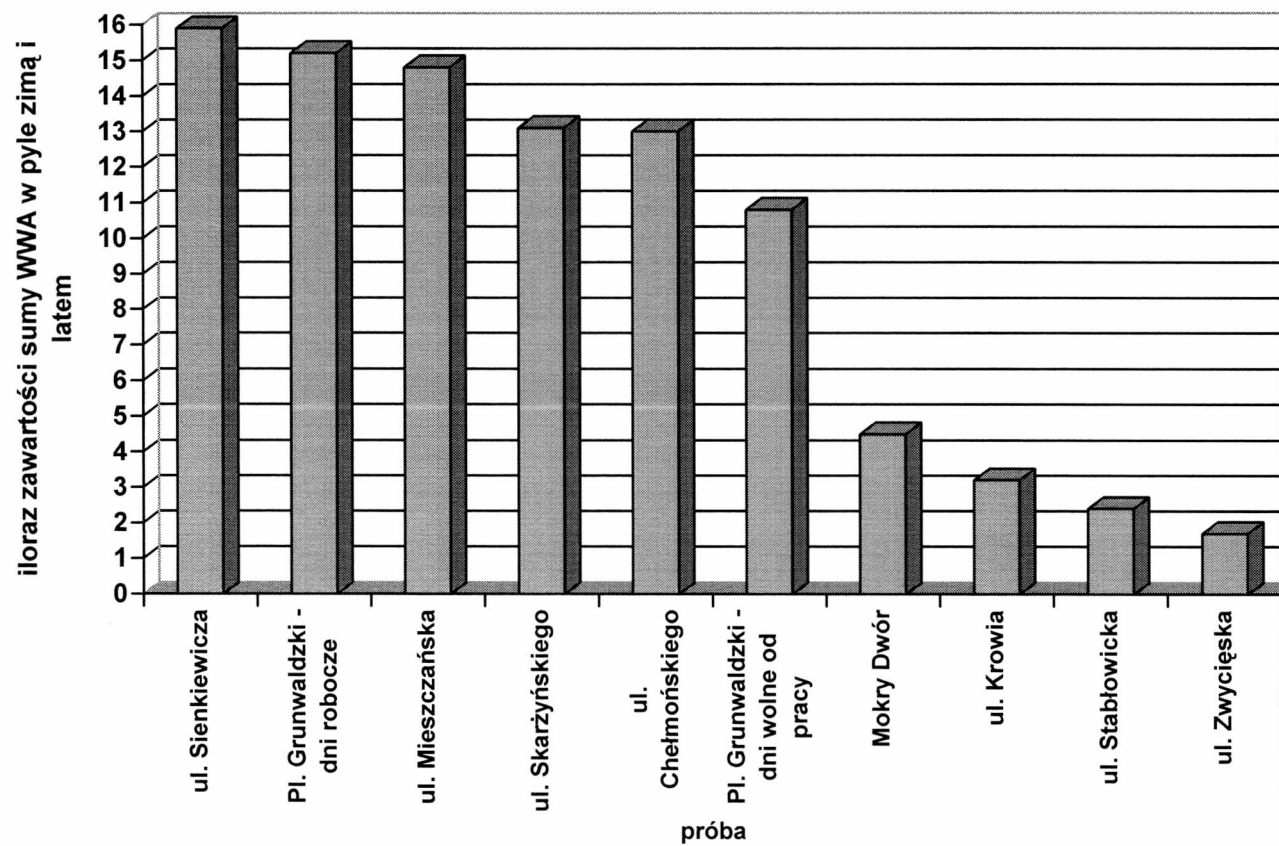
Ryc. 14. Iloraz stężeń w atmosferze związków organicznych zimą i latem



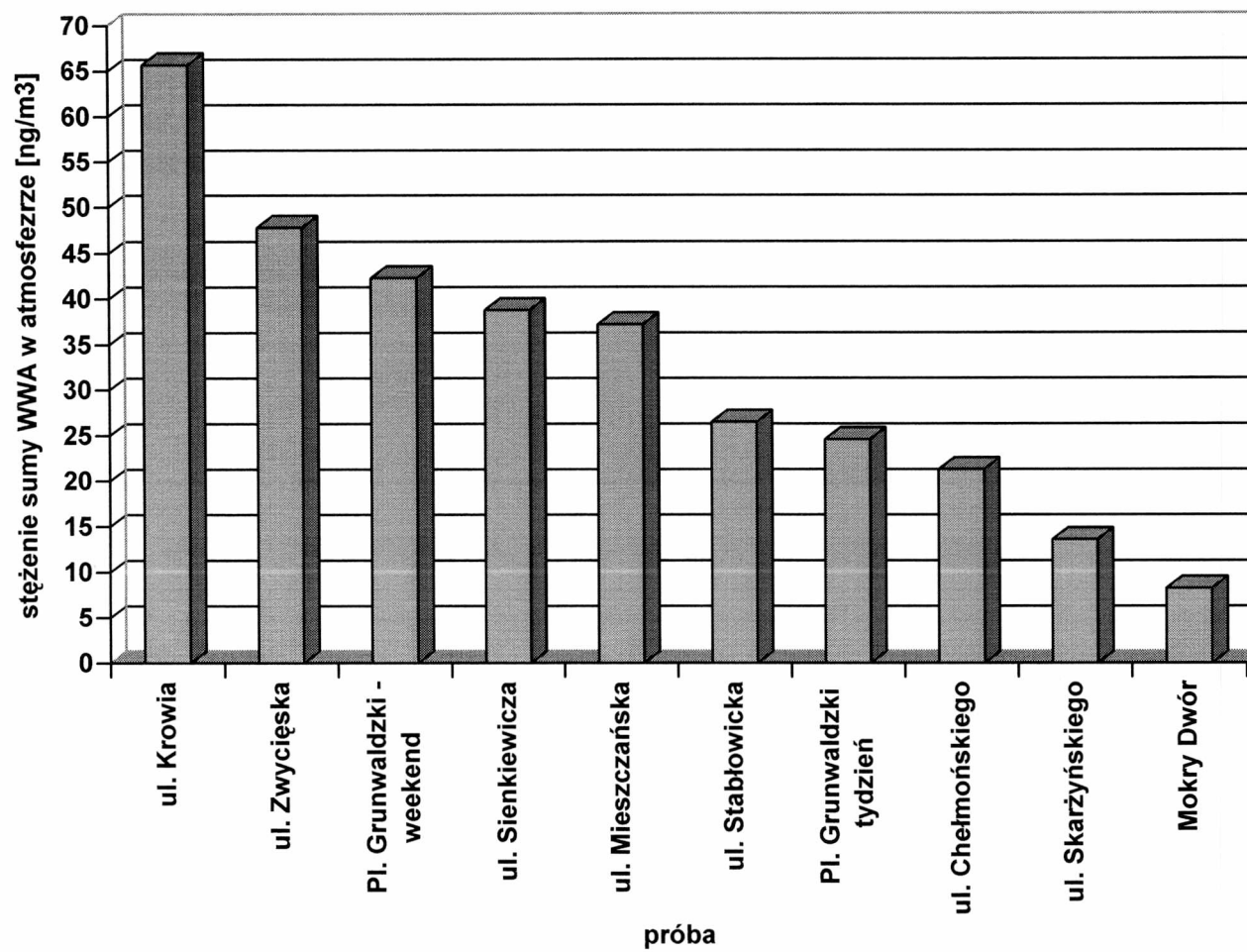
Ryc. 15. Zawartość sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych latem [µg]



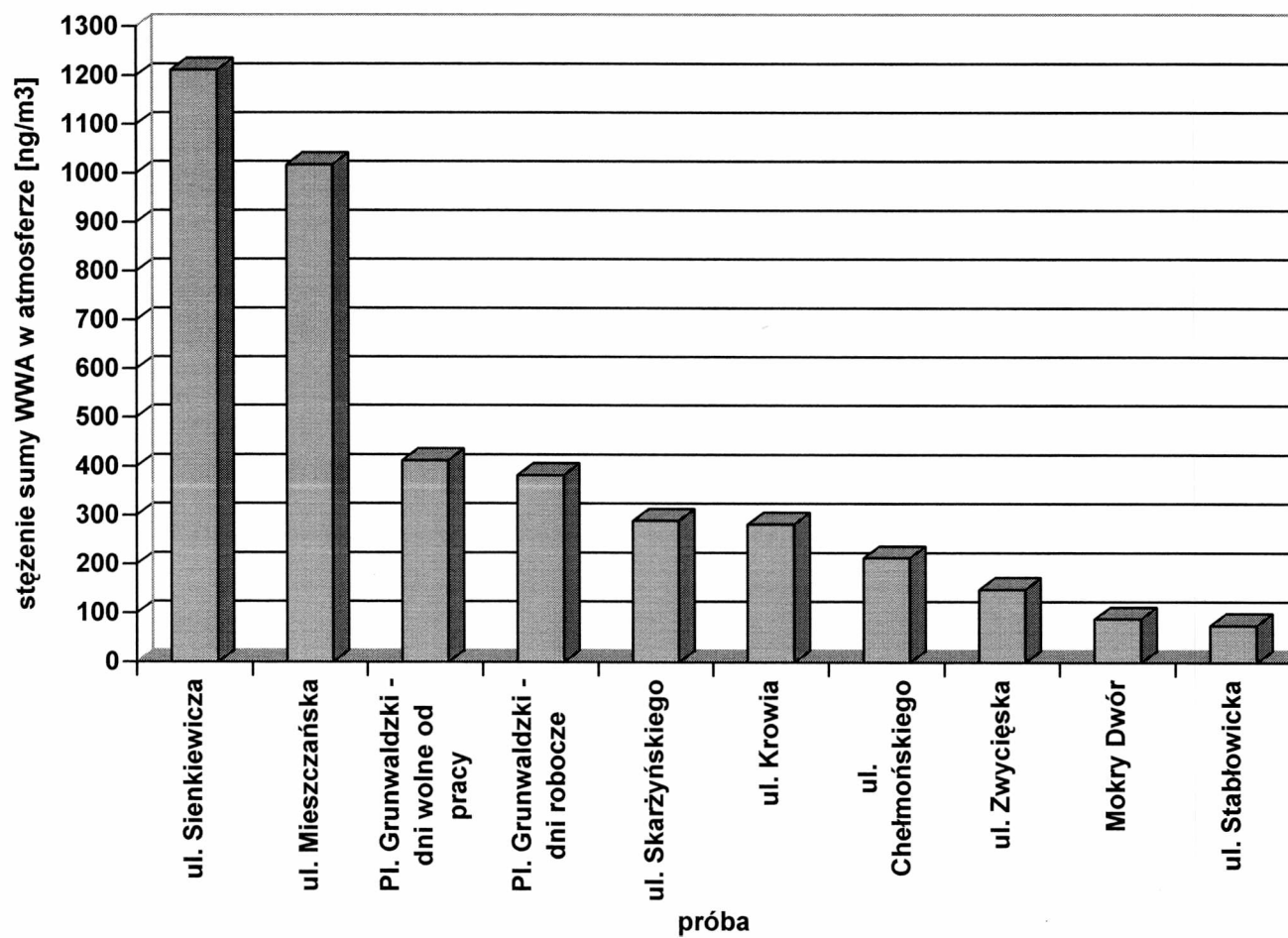
Ryc. 16. Zawartość sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych zimą [µg]



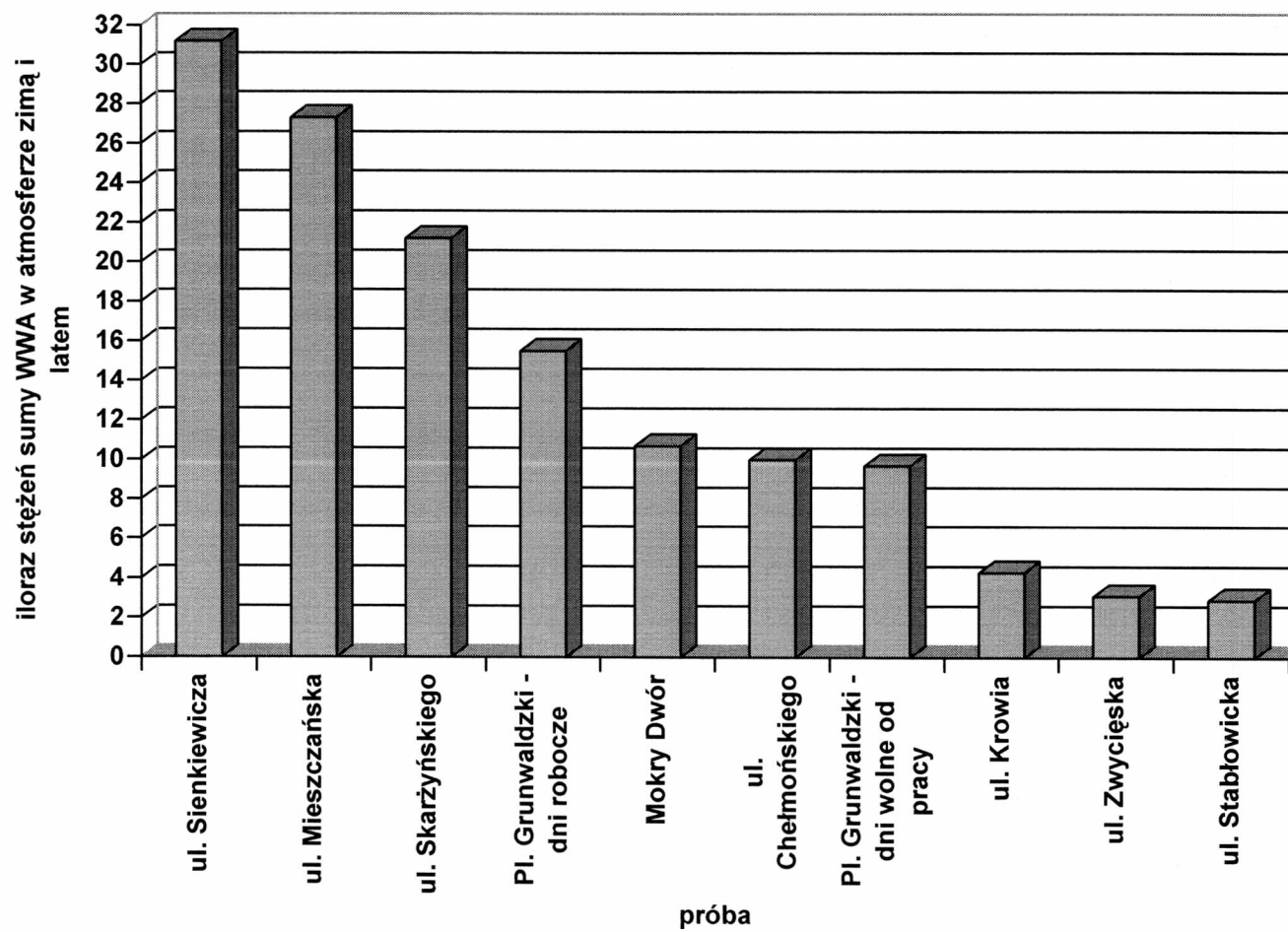
Ryc. 17. Iloraz zawartości sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych zimą i latem



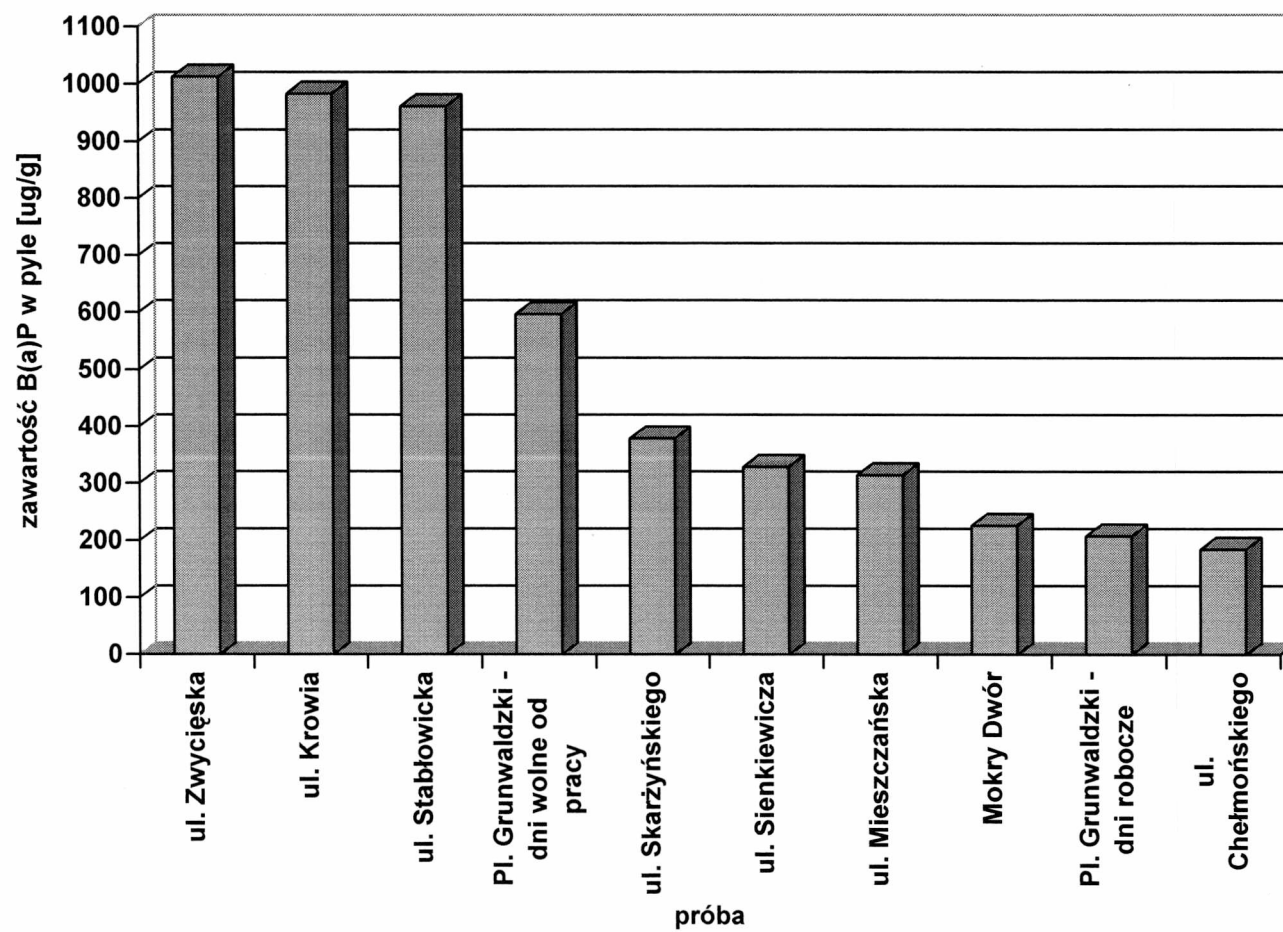
Ryc. 18. Stężenie w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych latem [ng/m³]



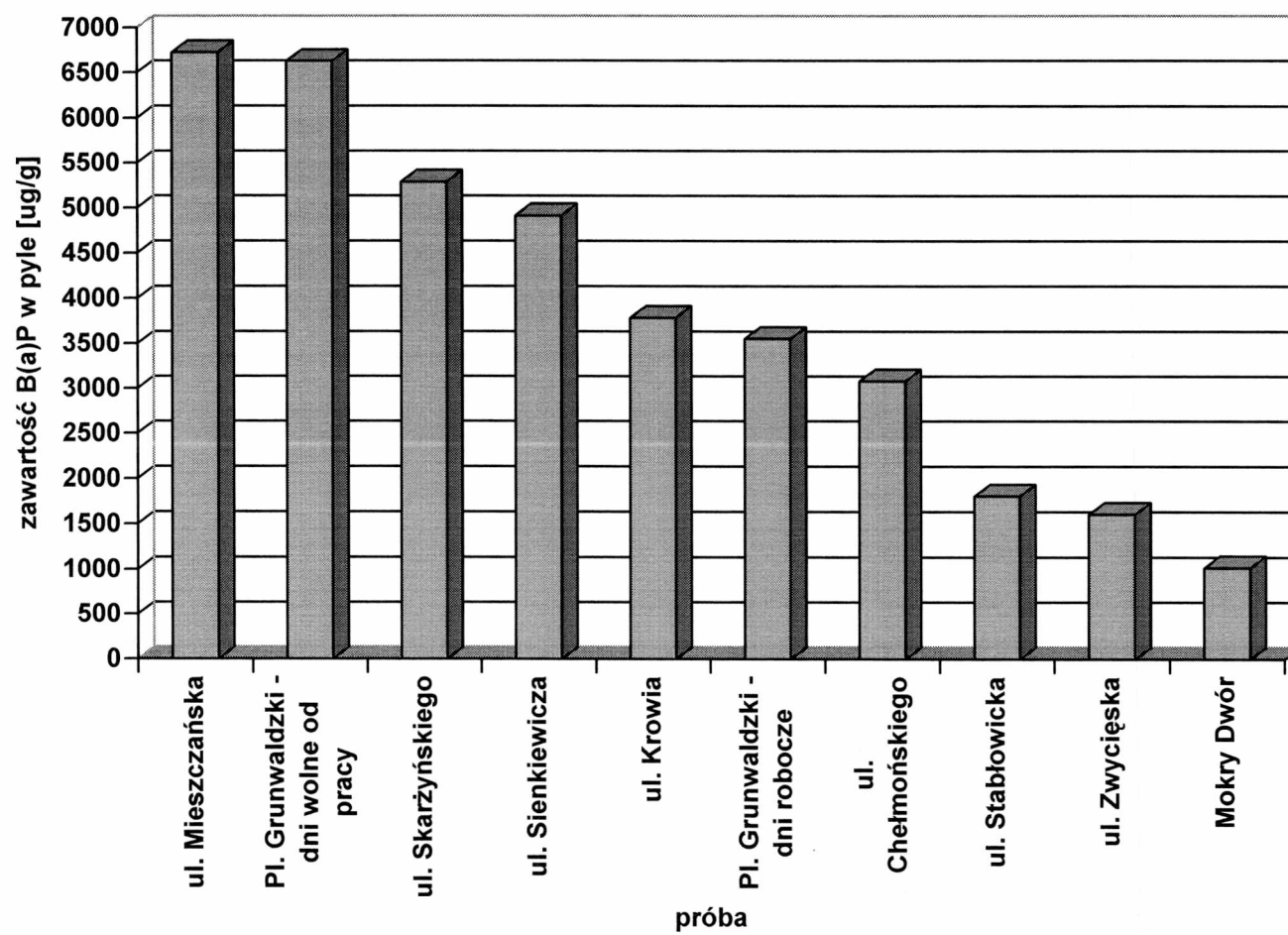
Ryc. 19. Stężenie w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą [ng/m³]



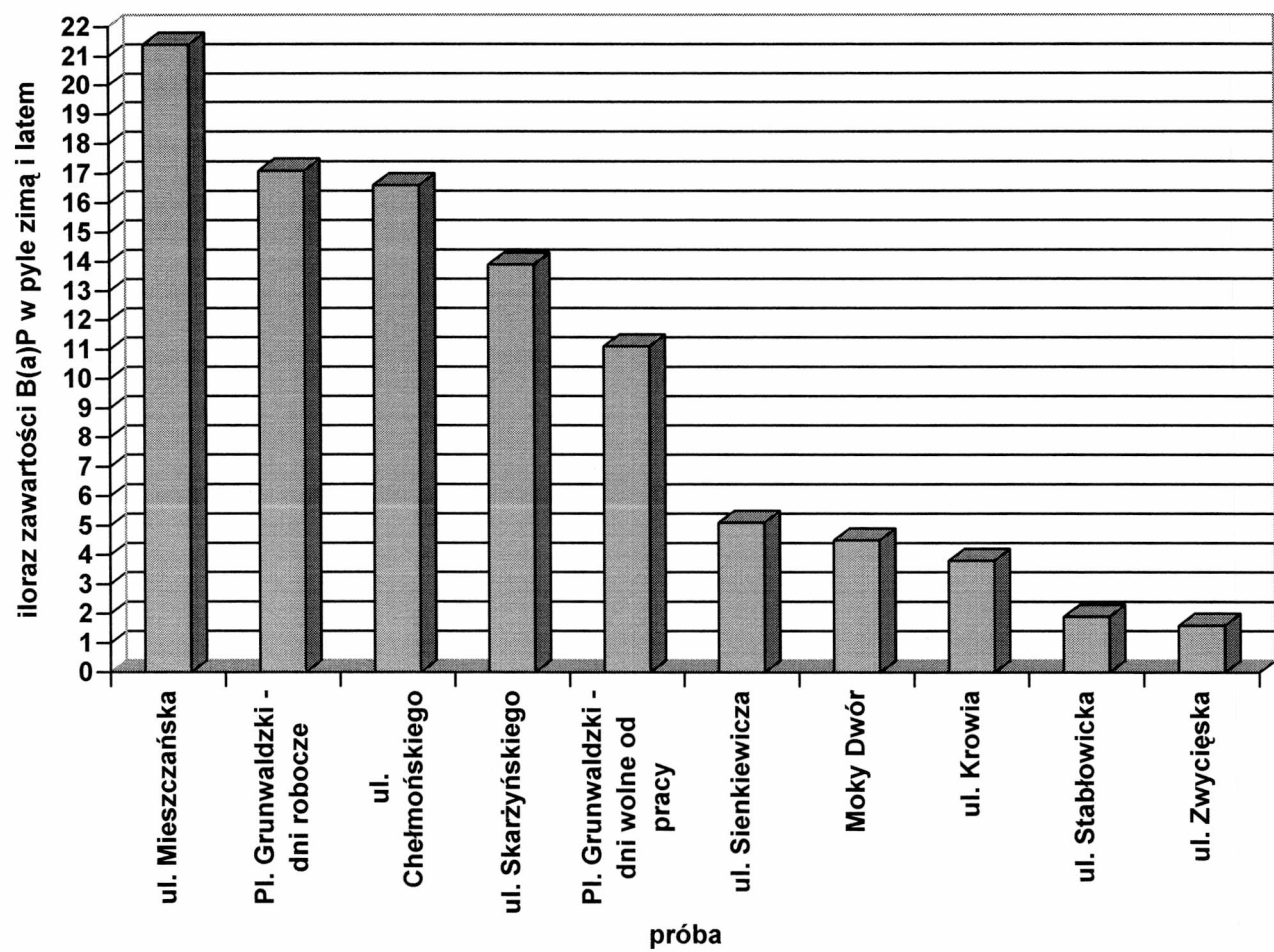
Ryc. 20. Iloraz stężeń w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą i latem



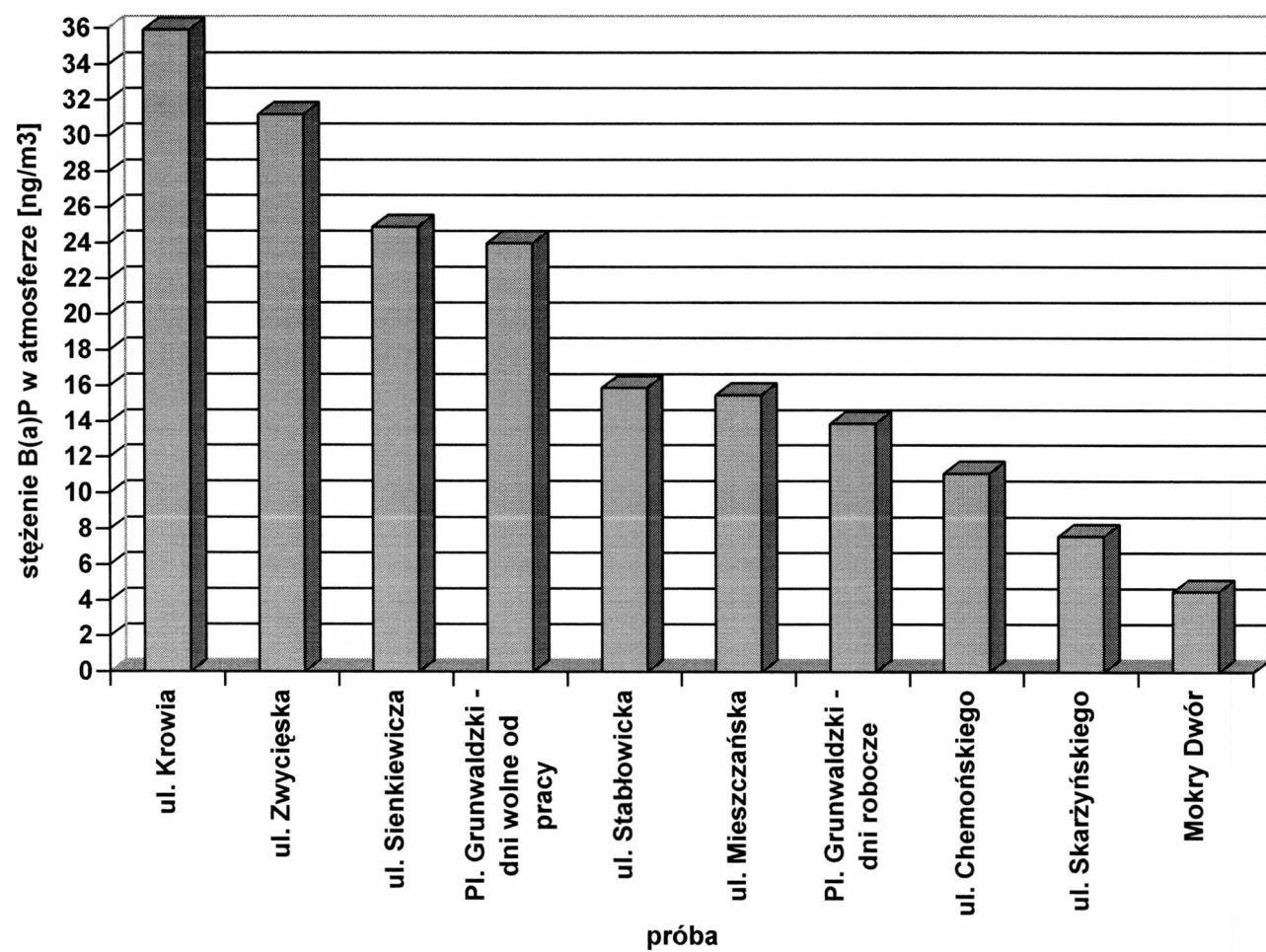
Ryc. 21. Zawartość benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych latem [μg]



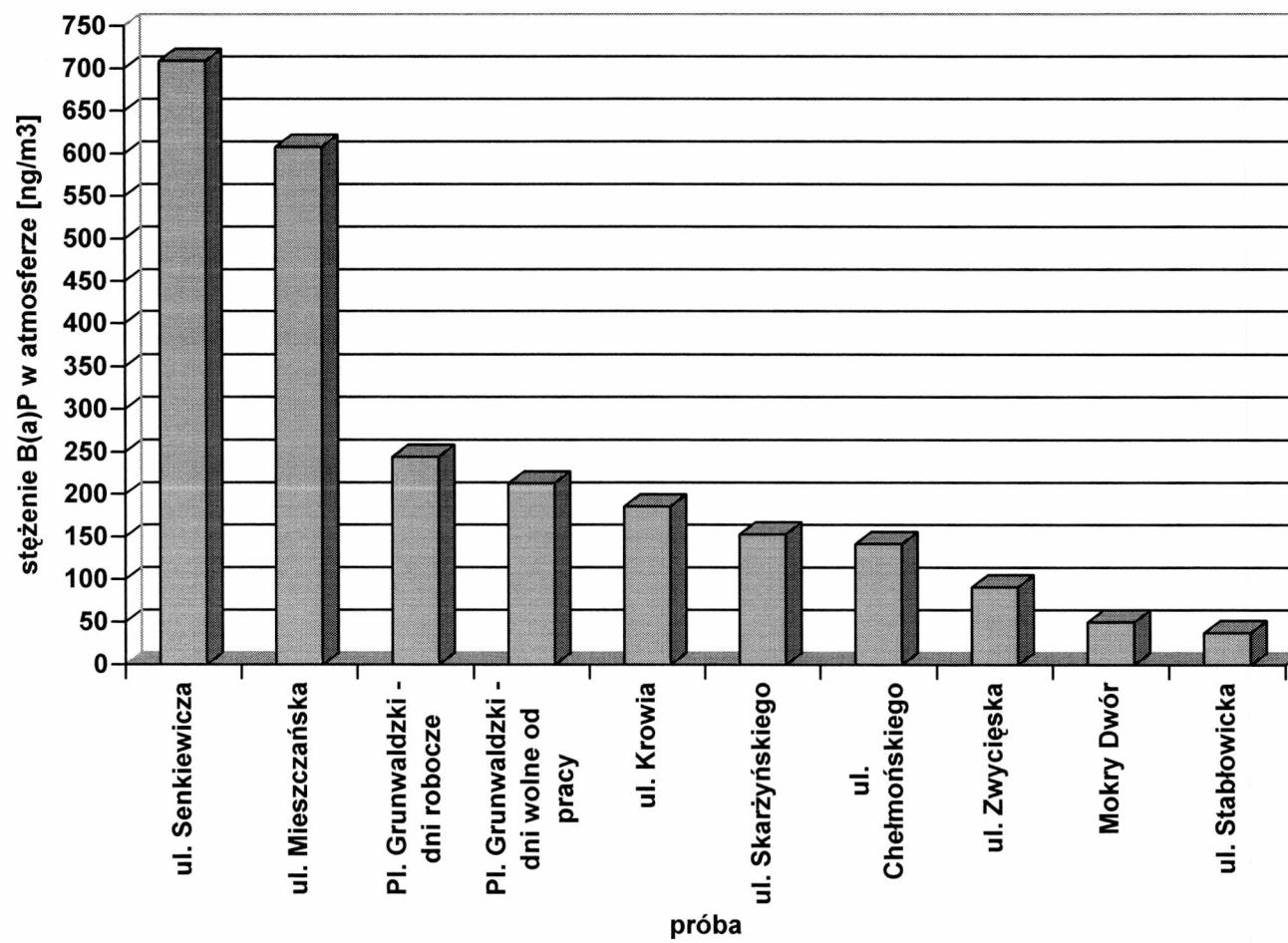
Ryc. 22. Zawartość benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych zimą [μg]



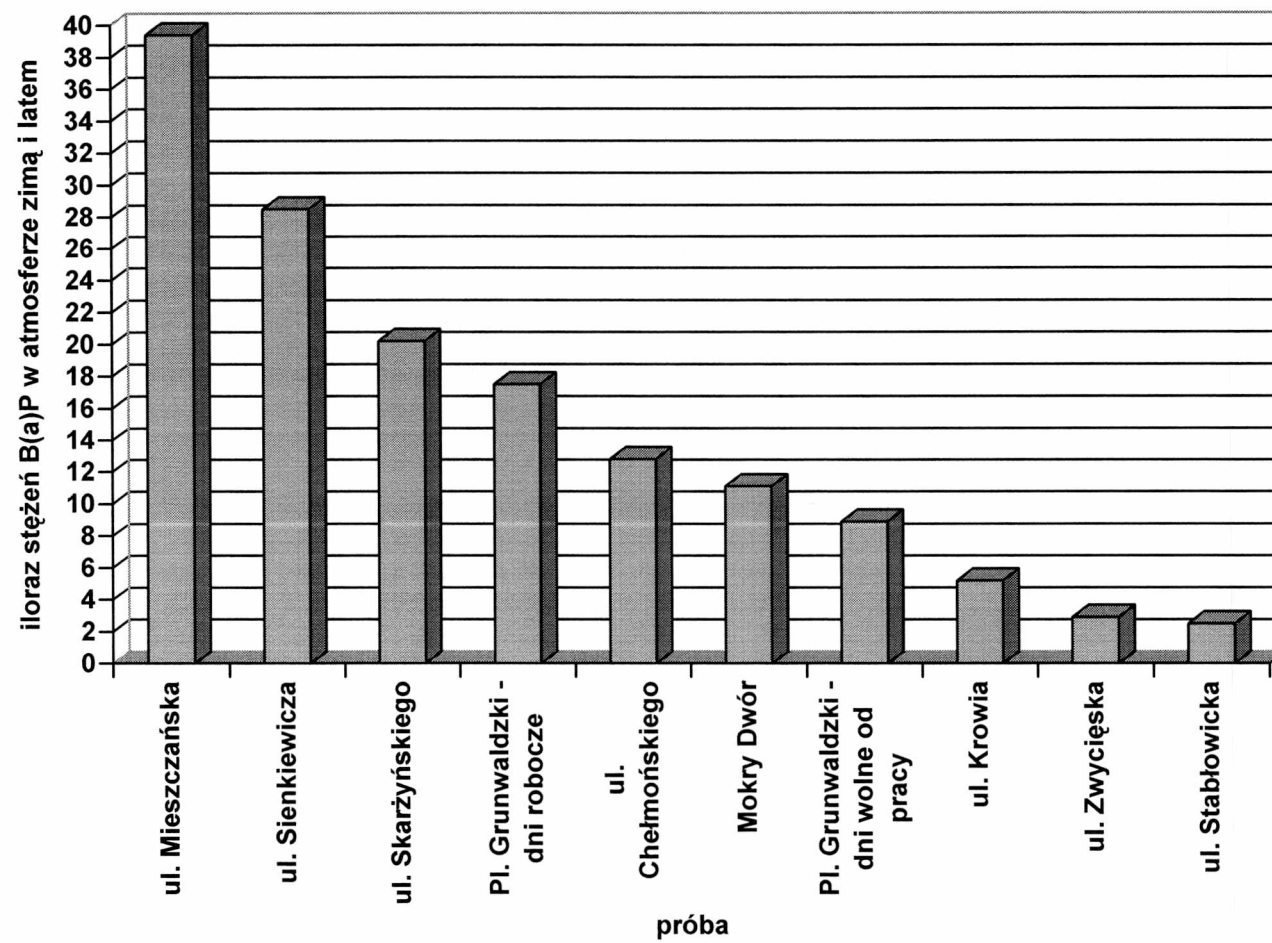
Ryc. 23. Iloraz zawartości benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych zimą i latem



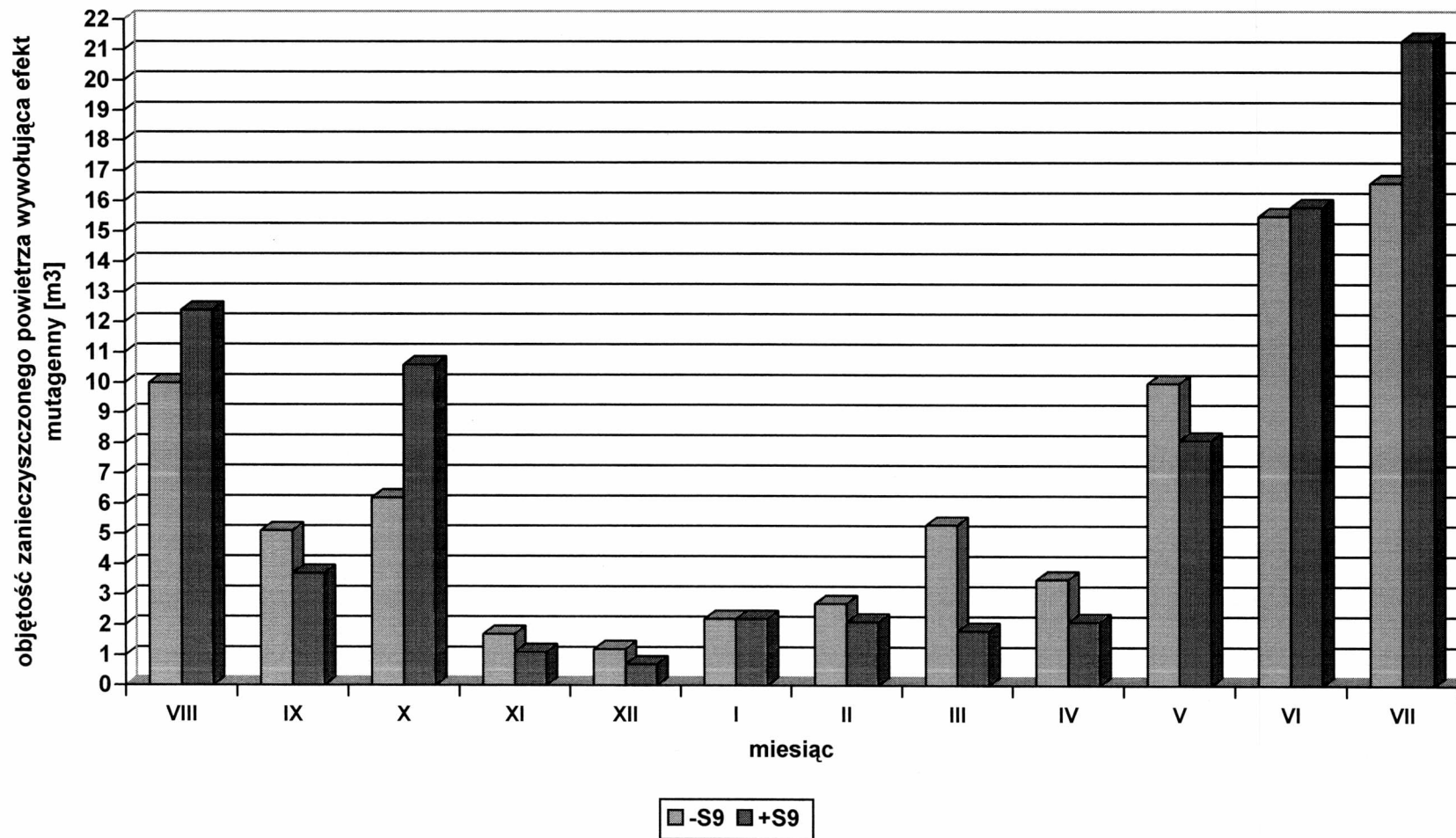
Ryc. 24. Stężenie w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych latem [ng/m³]



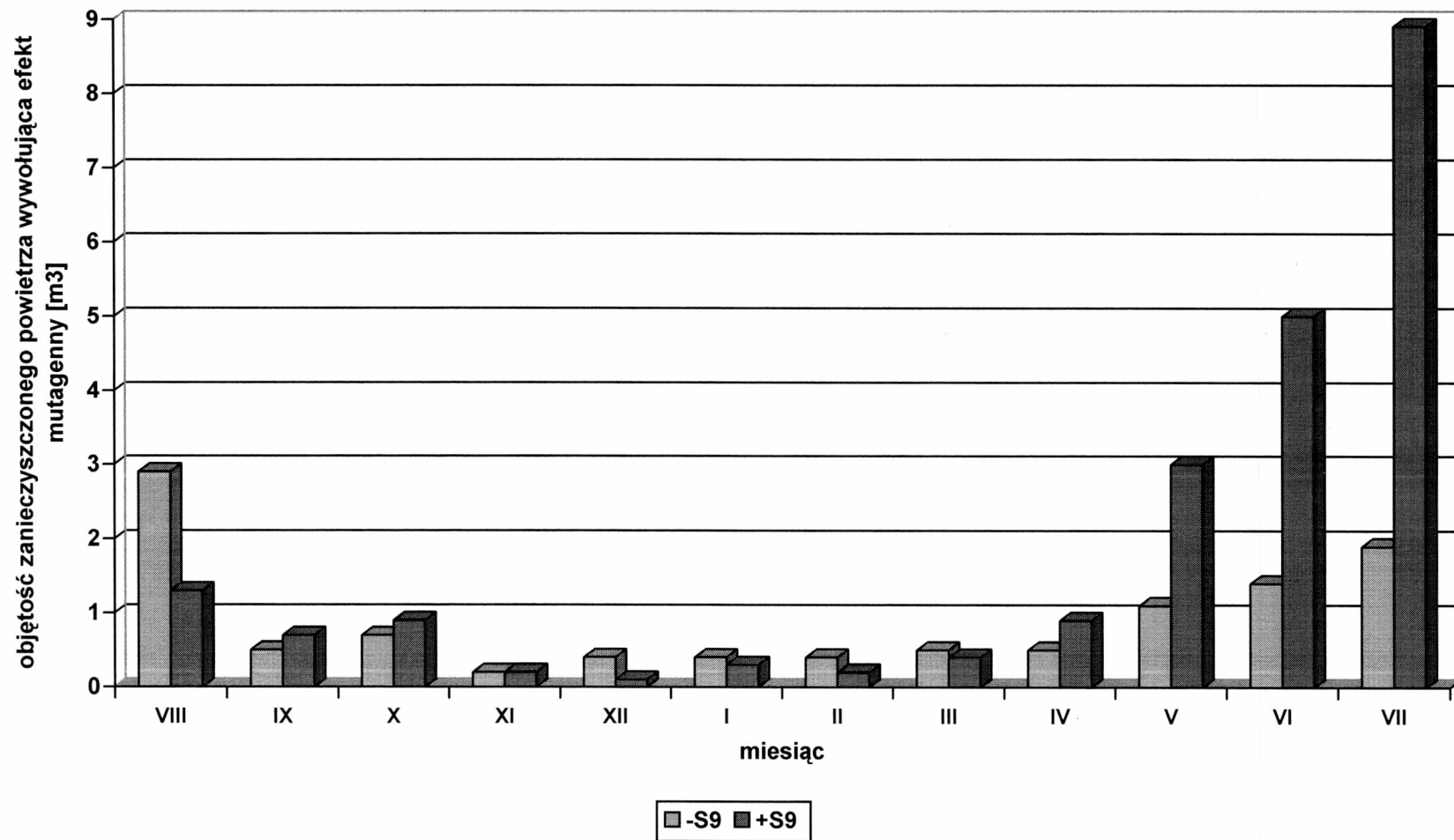
Ryc. 25. Stężenie w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych zimą [ng/m³]



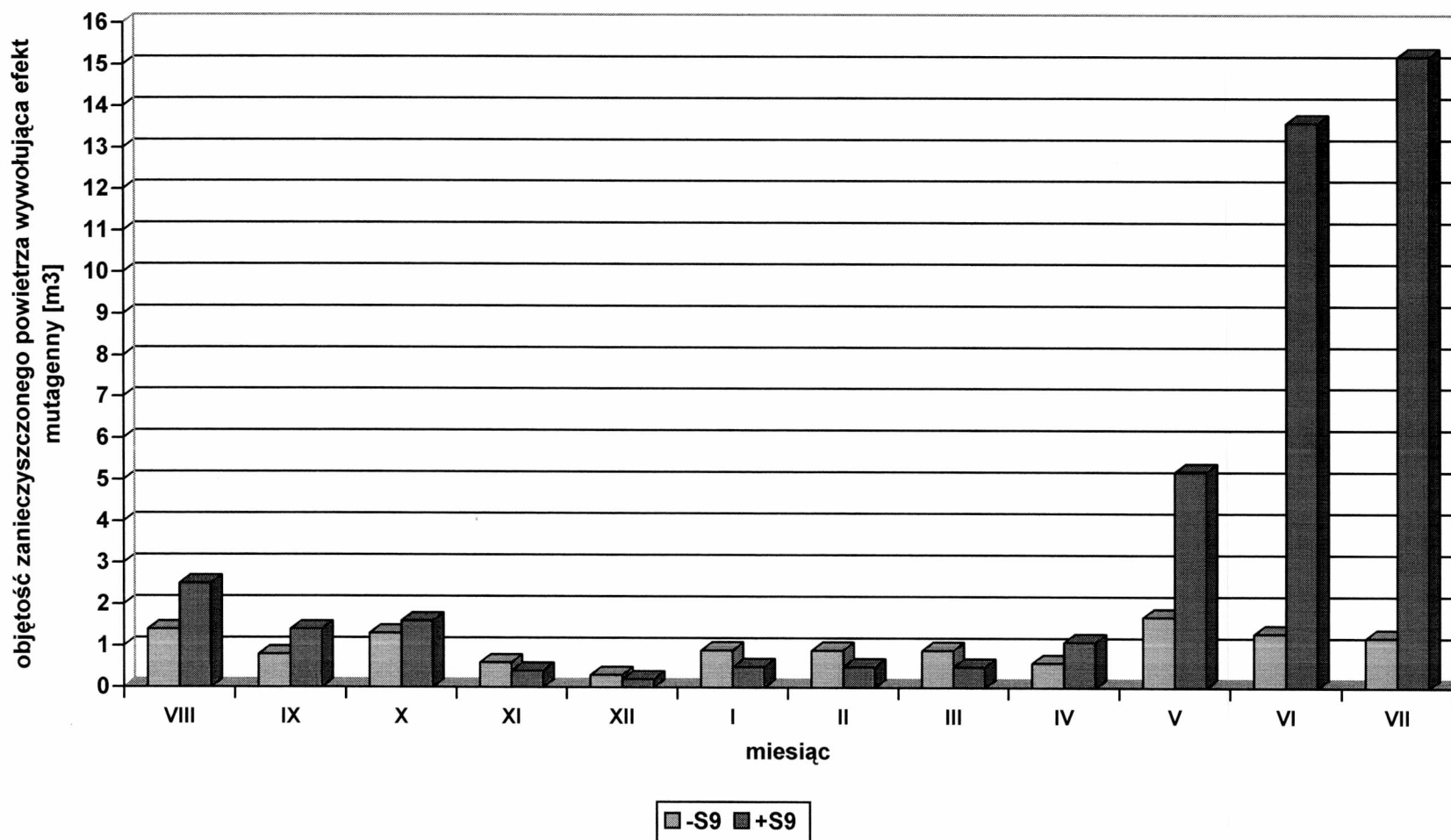
Ryc. 26. Iloraz stężeń w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych zimą i latem



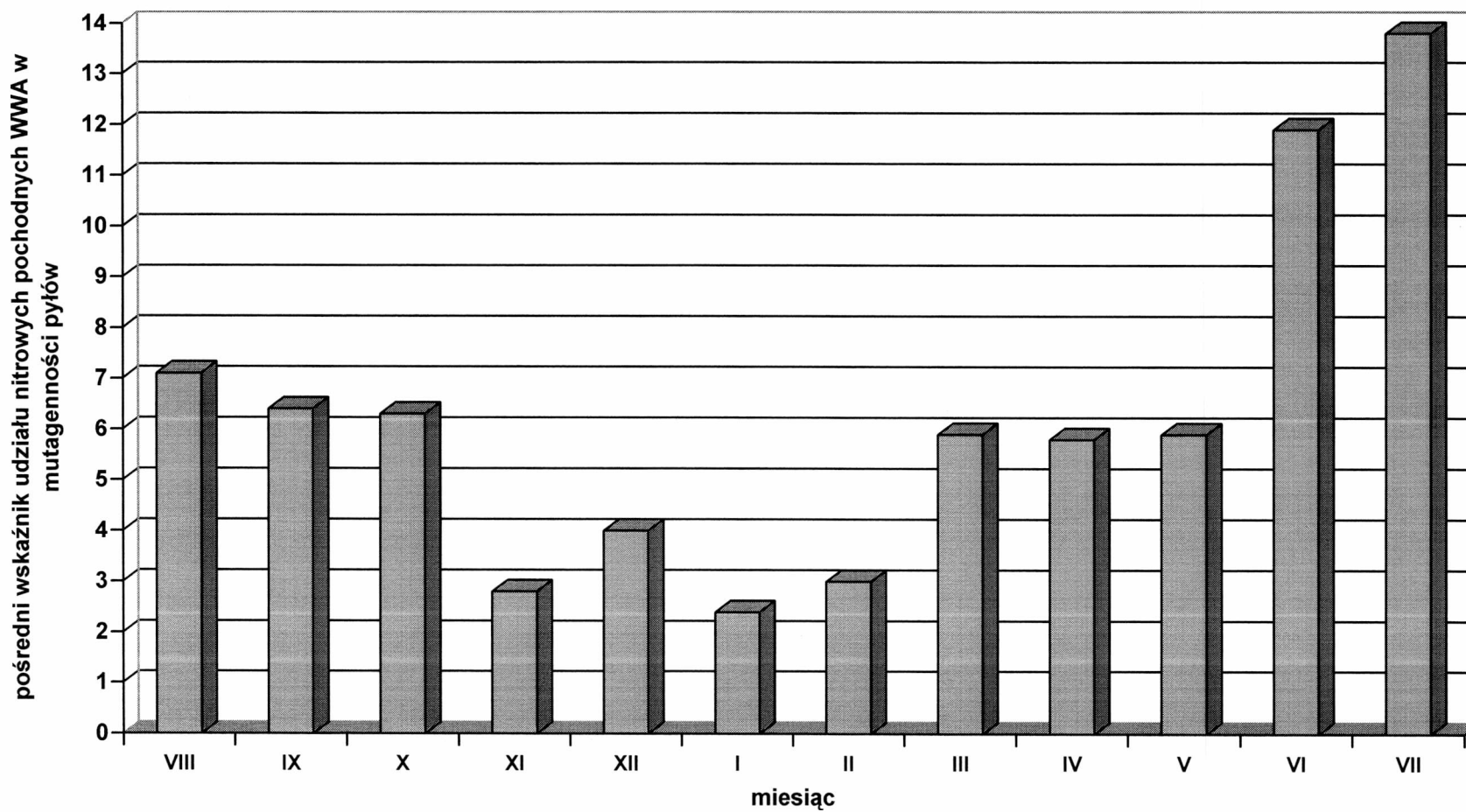
Ryc. 27. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutageny wobec szczepu TA 98 [m³]



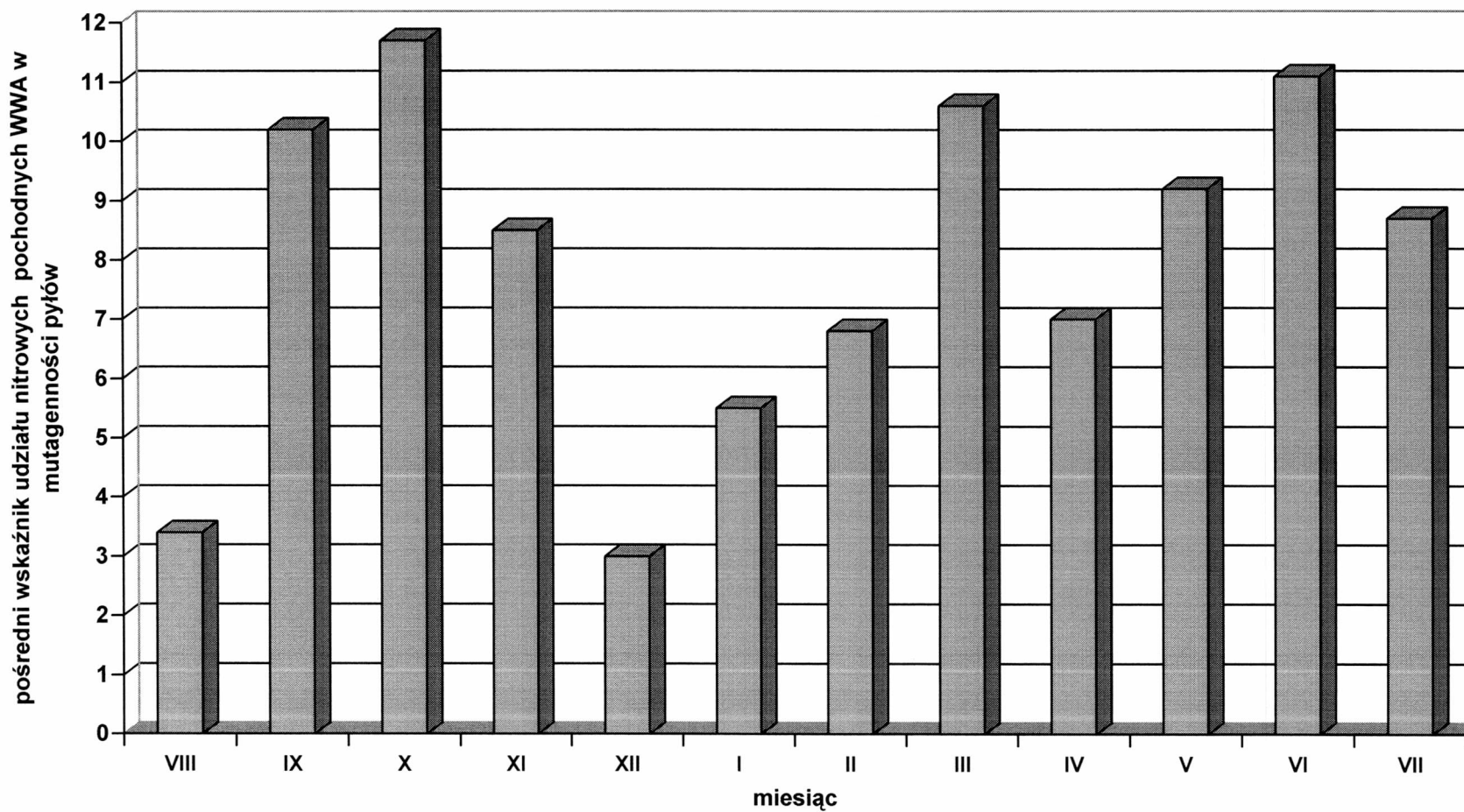
Ryc. 28. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu YG 1021 [m³]



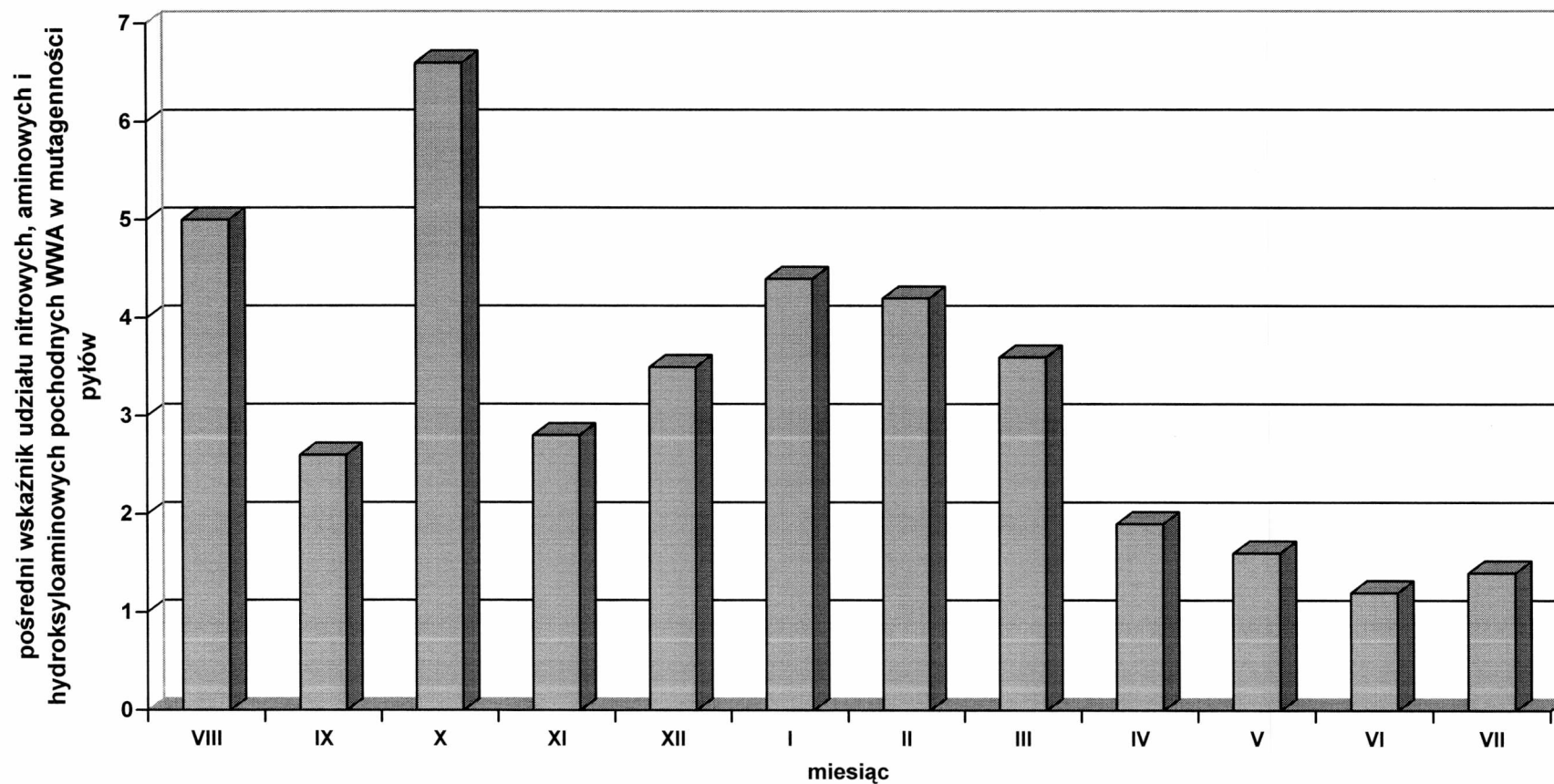
Ryc. 29. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutageny wobec szczepu YG 1024 [m³]



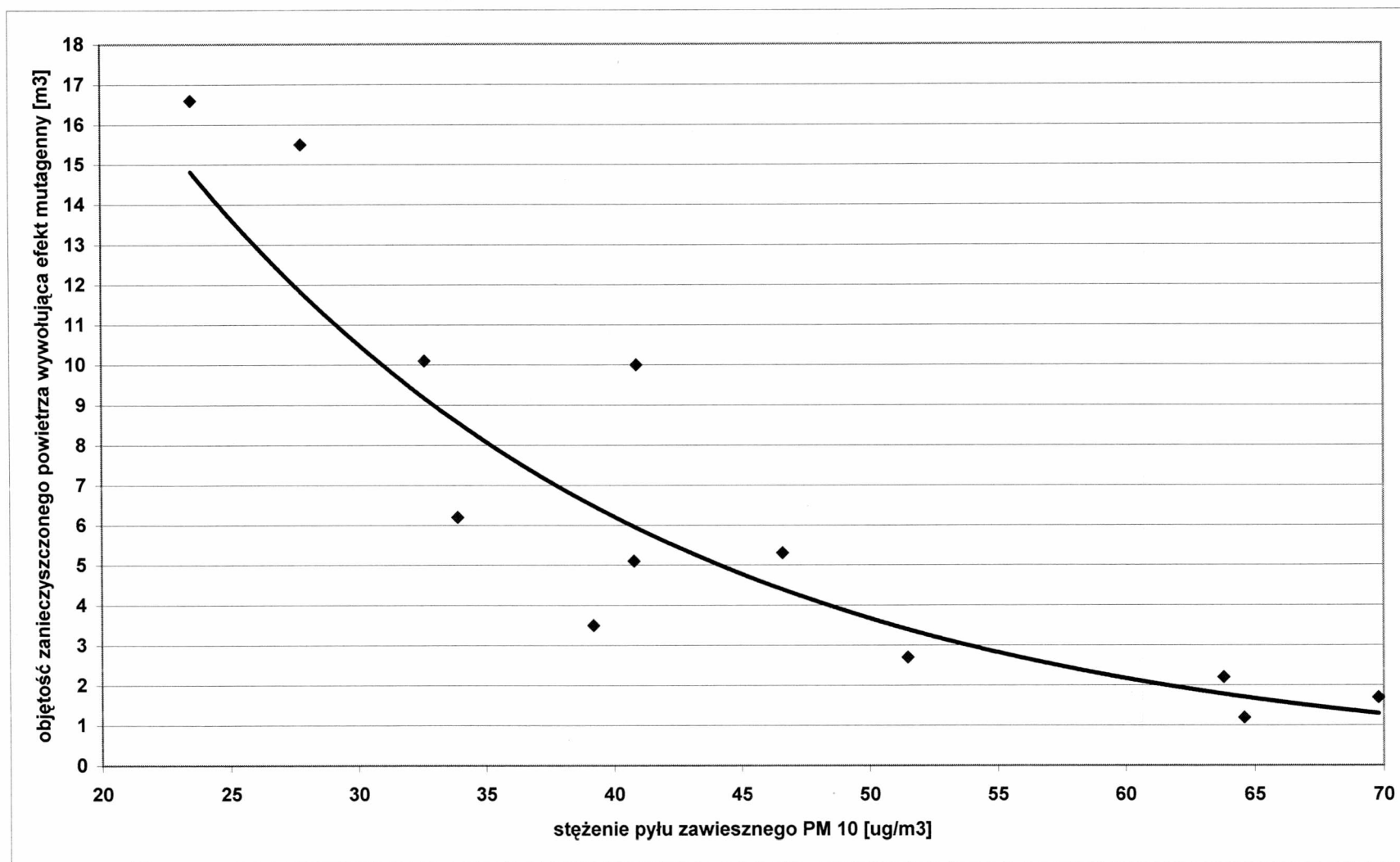
Ryc. 30. Sezonowa zmienność pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu dla szczepu YG 1024



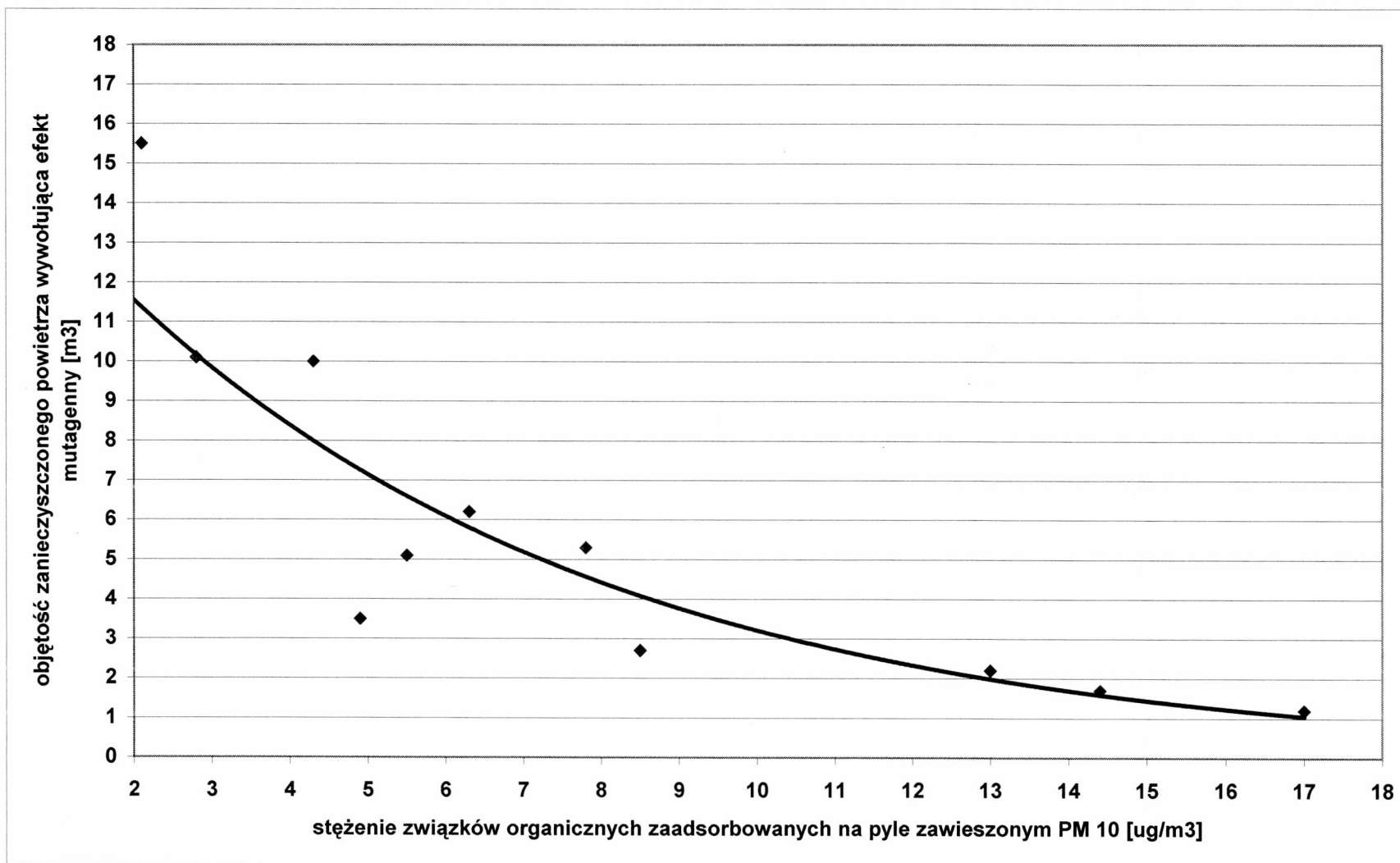
Ryc. 31. Sezonowa zmienność pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu dla szczepu YG 1021



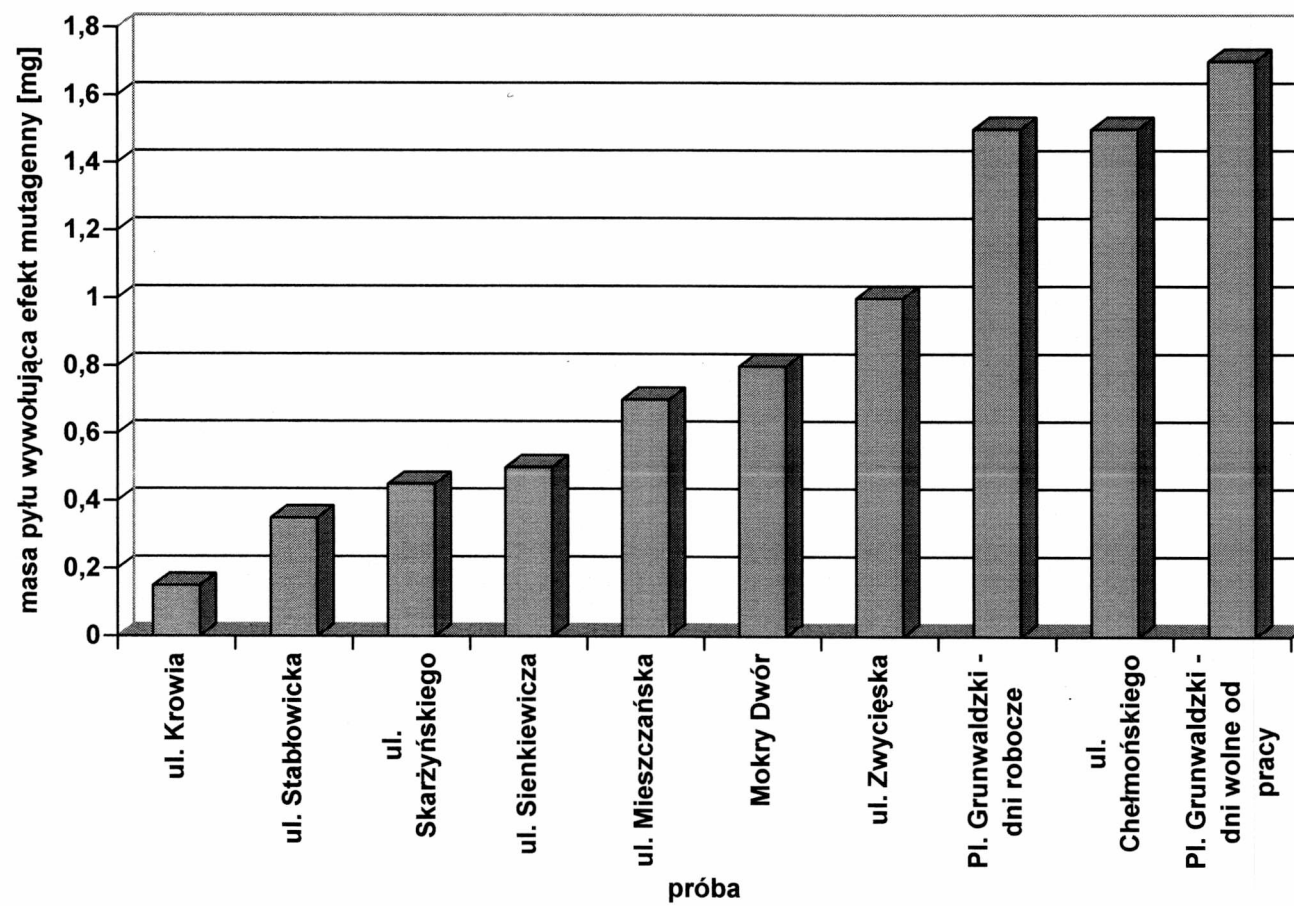
Ryc. 32. Sezonowa zmienność średnich wskaźników udziału nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu zawieszonego



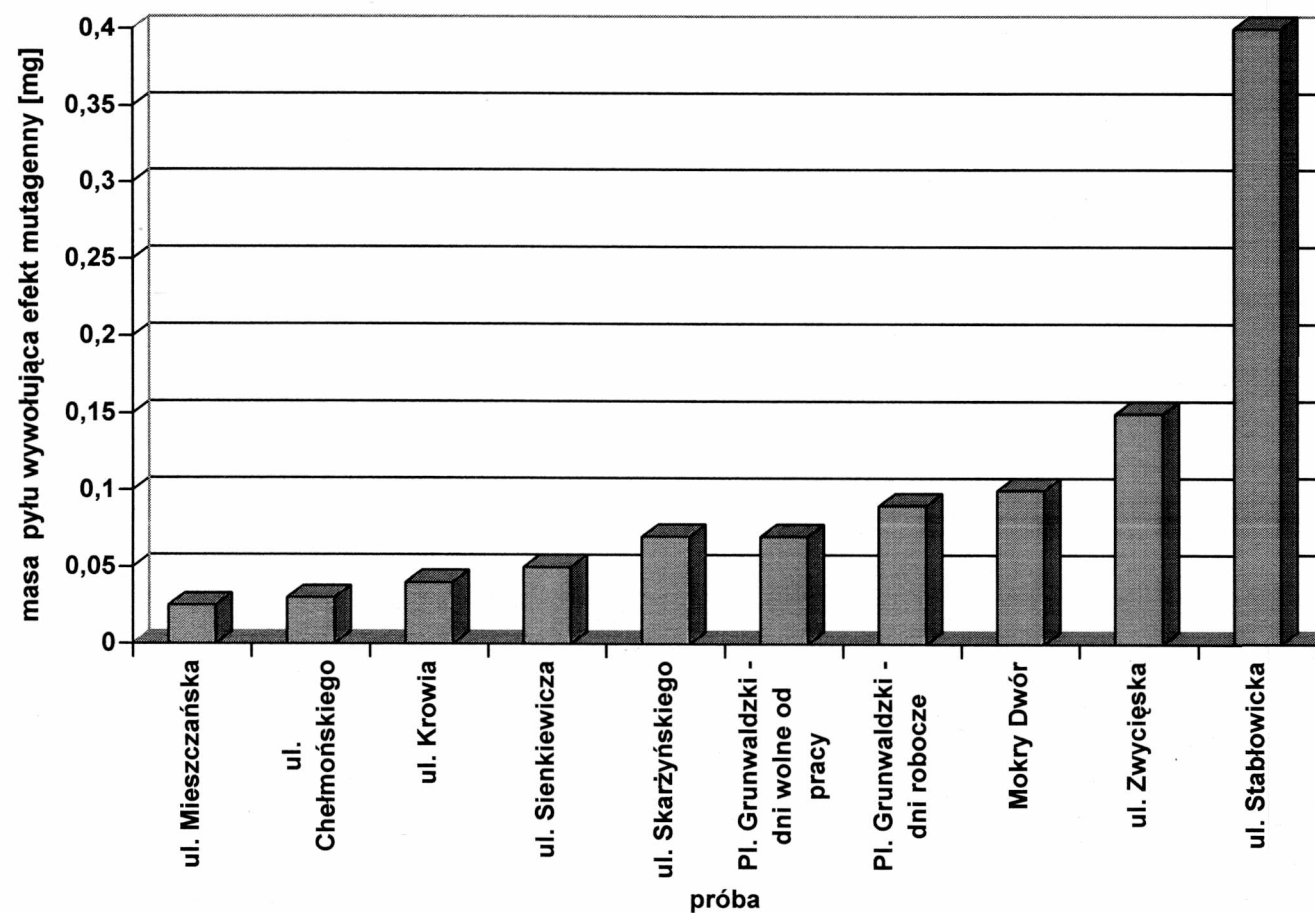
Ryc. 33. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze pyłu zawieszonego PM 10



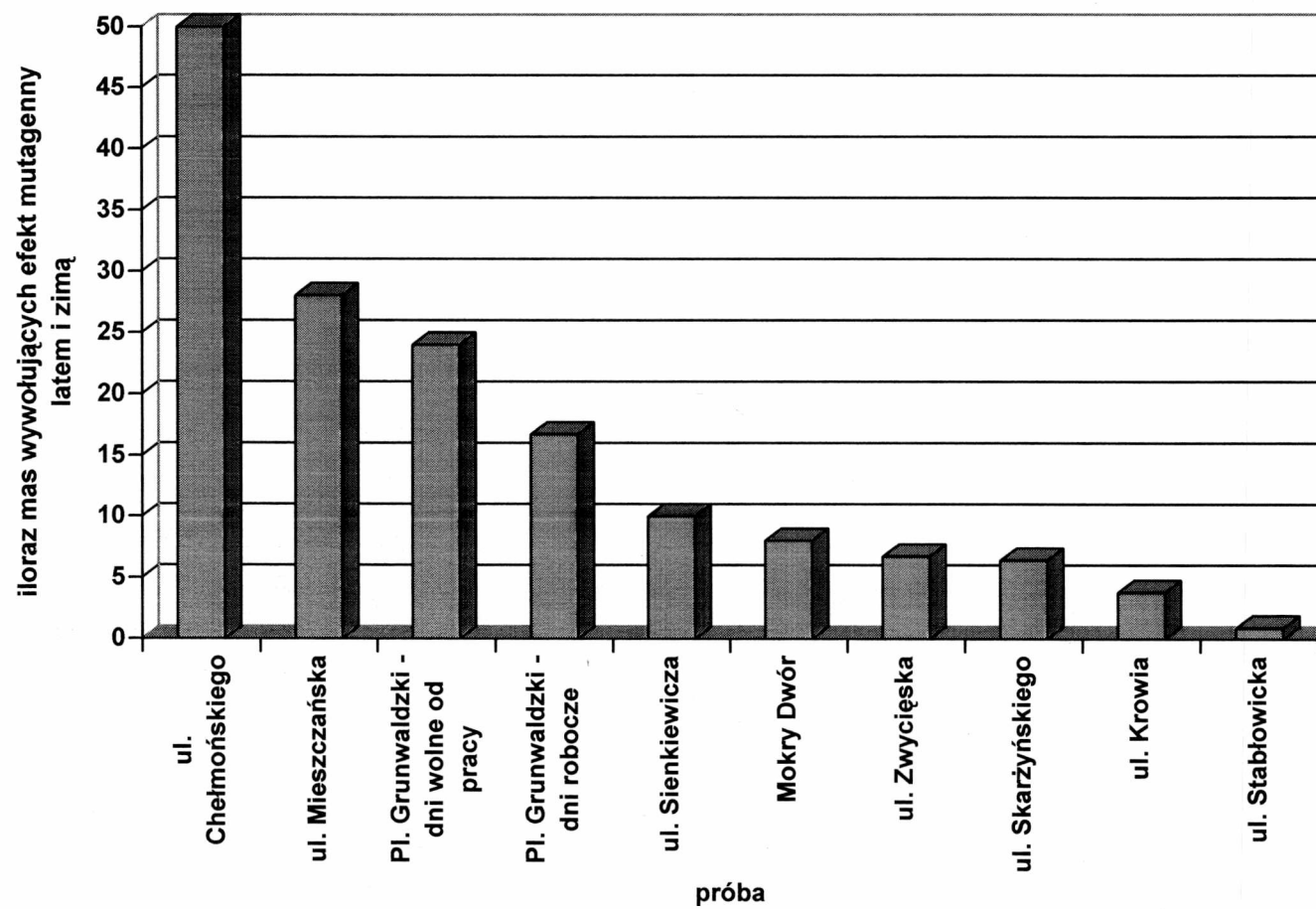
Ryc. 34. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze związków organicznych zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym PM 10



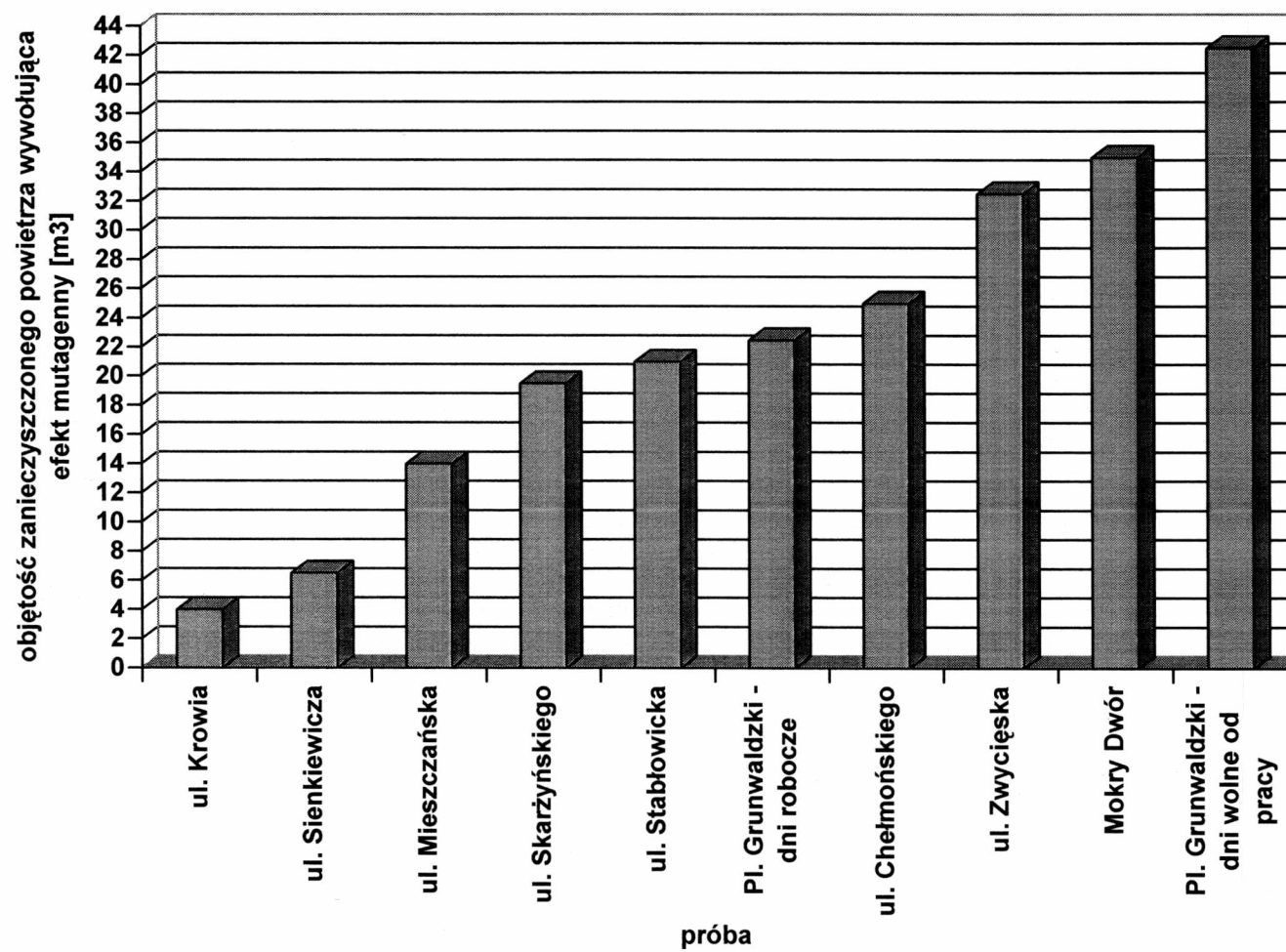
Ryc. 35. Masy pyłu wywołujące efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – lato [mg]



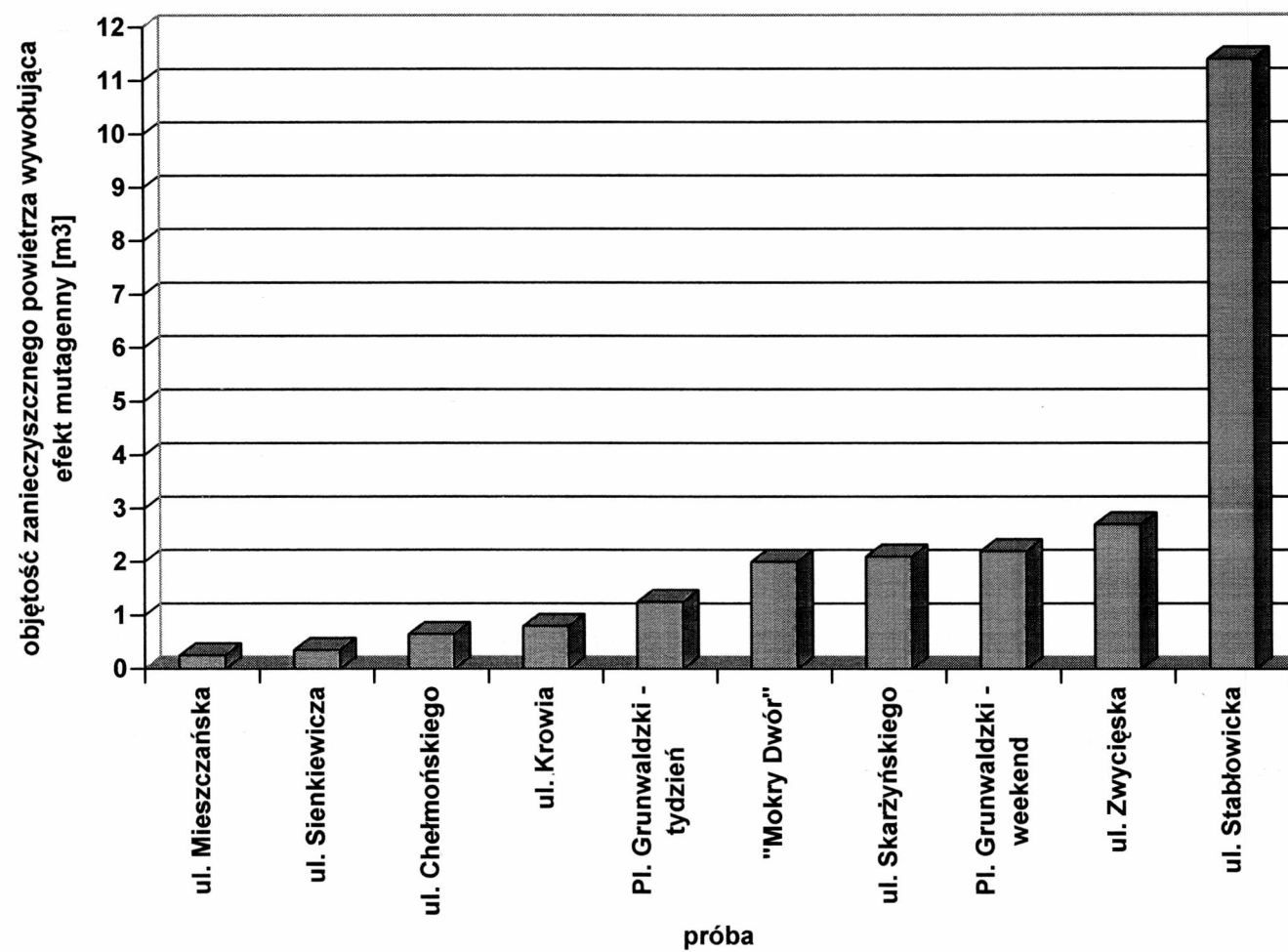
Ryc. 36. Masy pyłu wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – zima [mg]



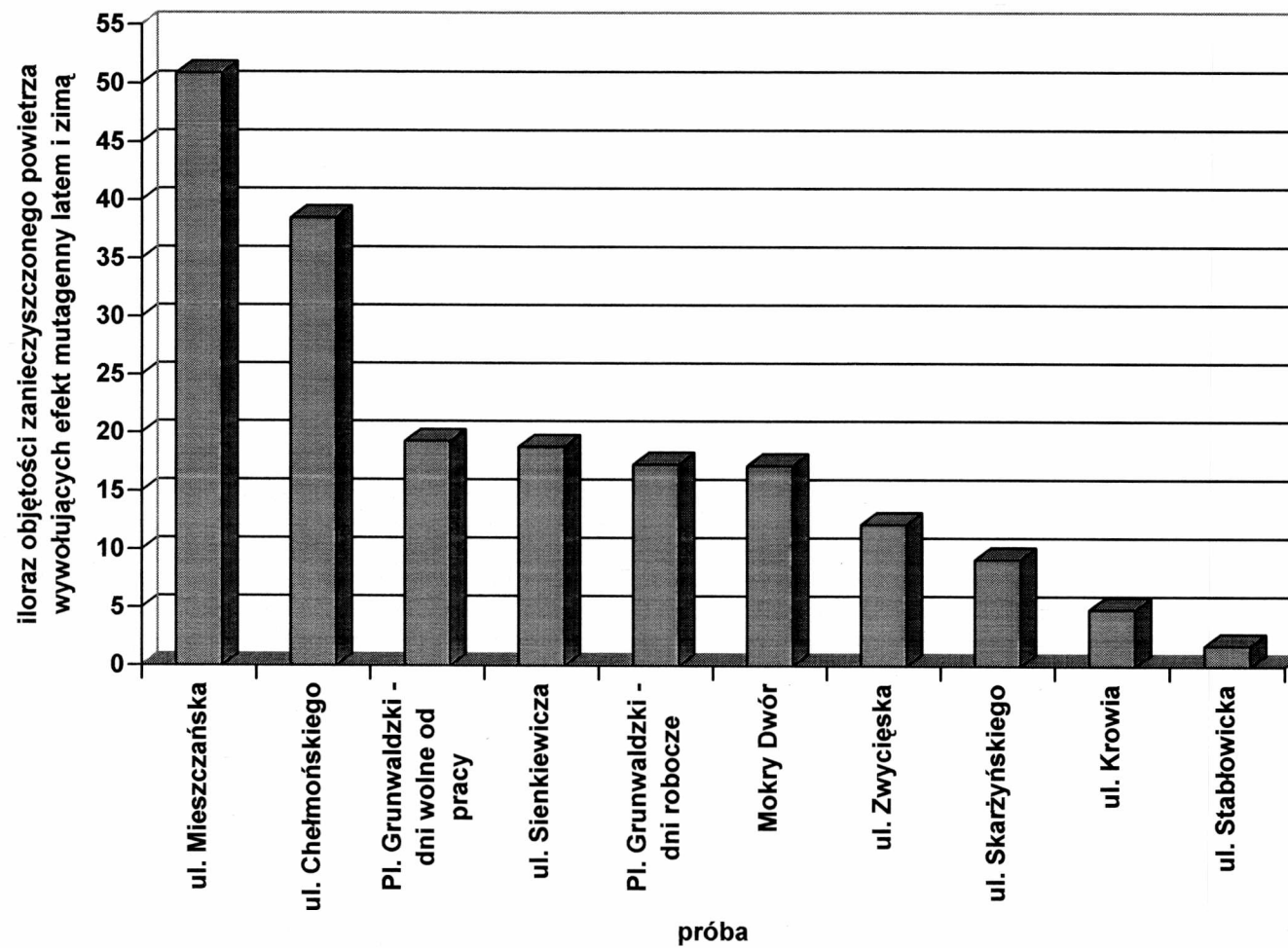
Ryc. 37. Iloraz mas pyłu wywołujących efekt mutageny wobec szczepu TA 98 latem i zimą



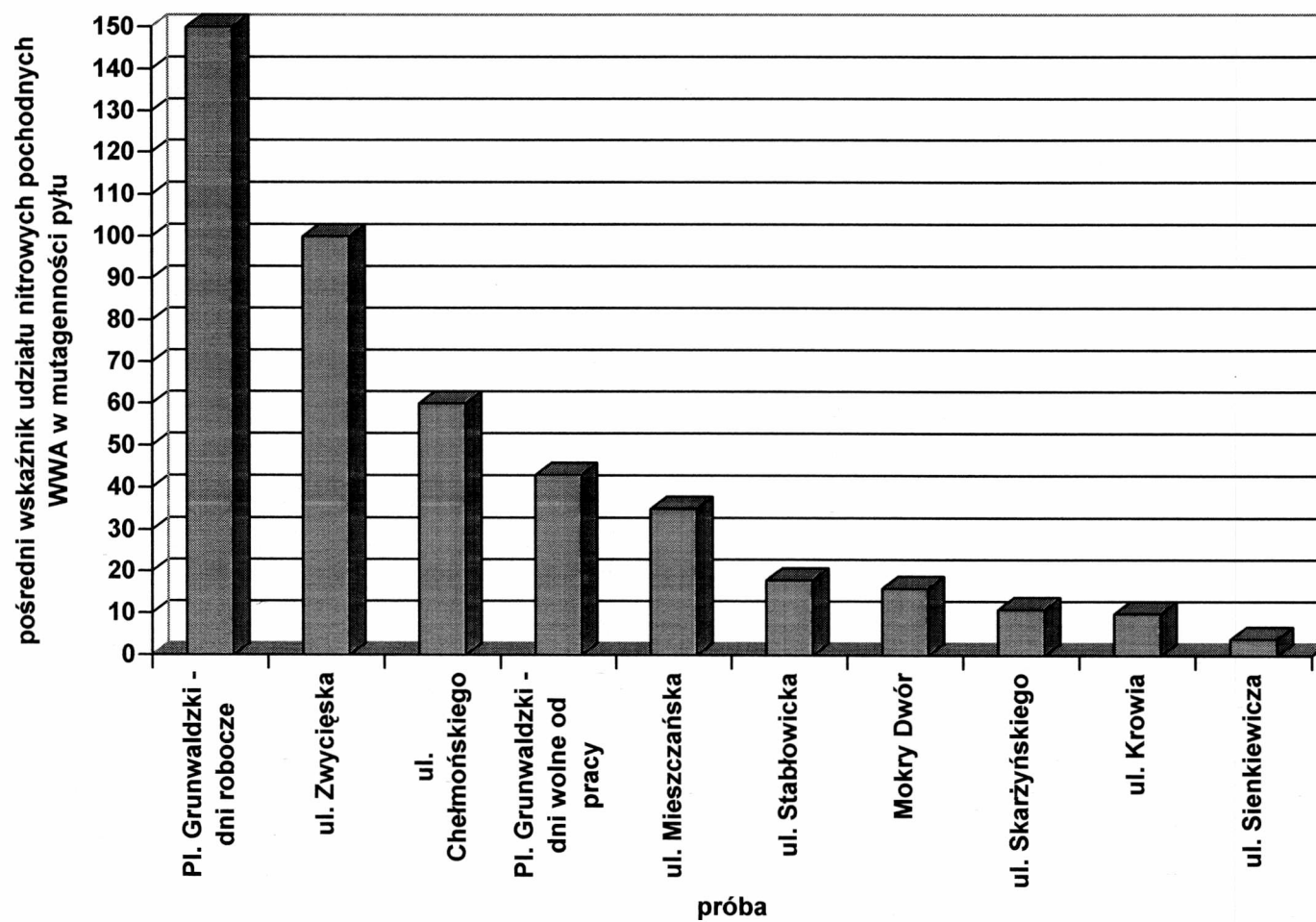
Ryc. 38. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – lato [m³]



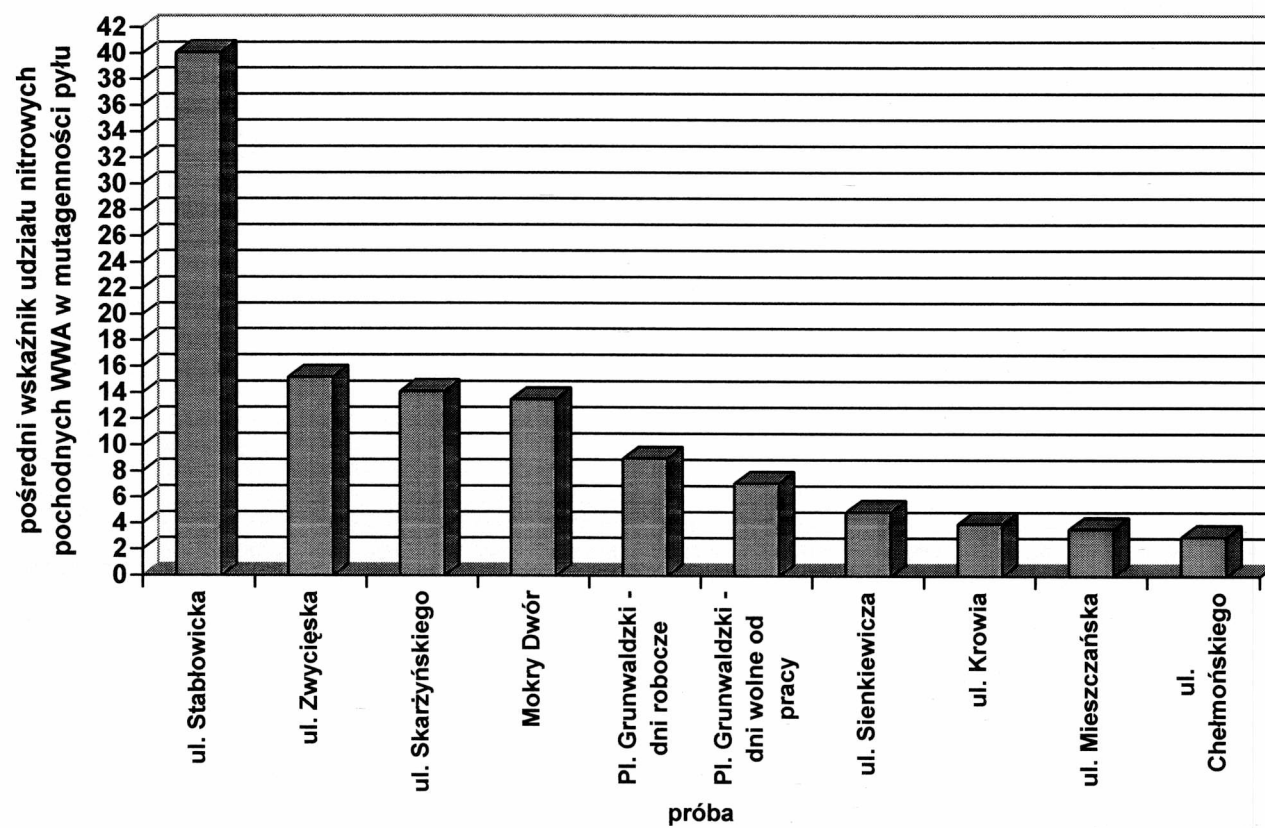
Ryc. 39. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – zima [m³]



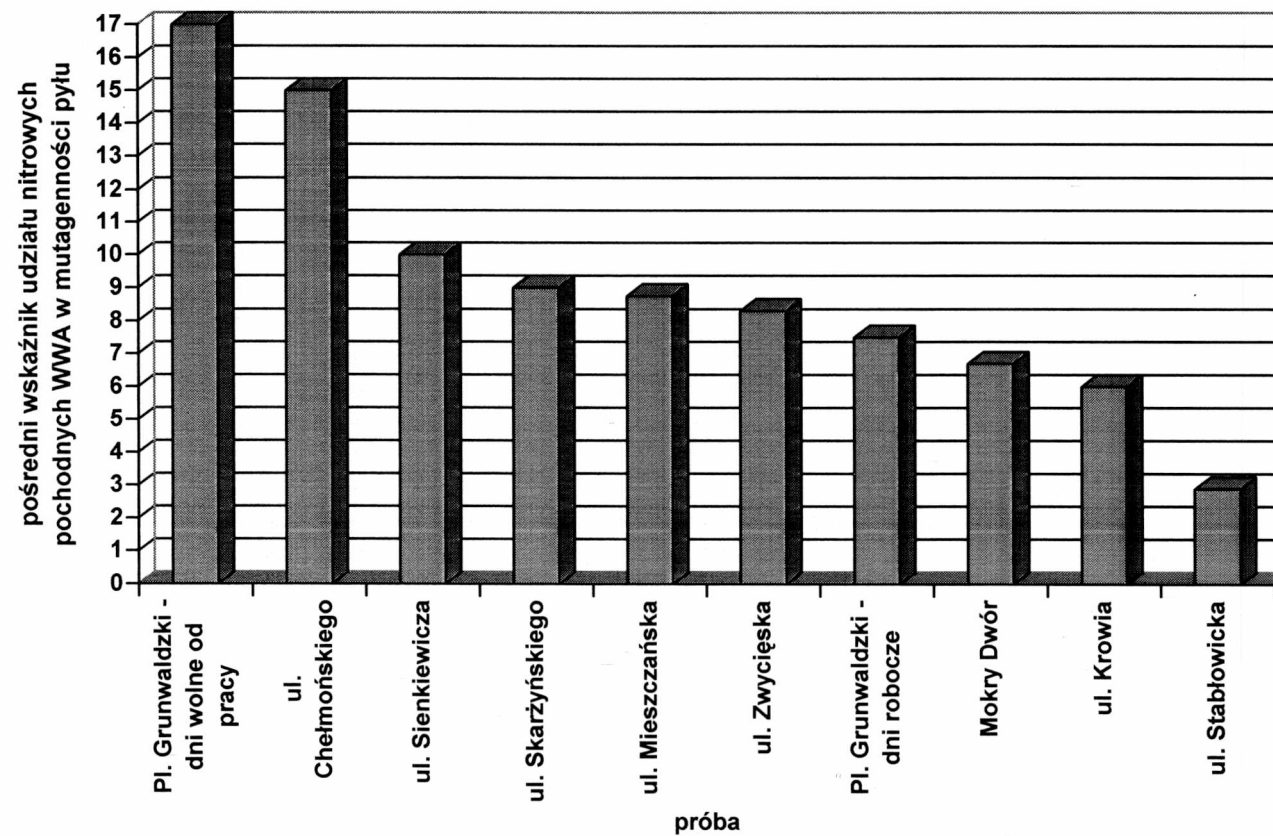
Ryc. 40. Iloraz objętości wywołujących efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 latem i zimą



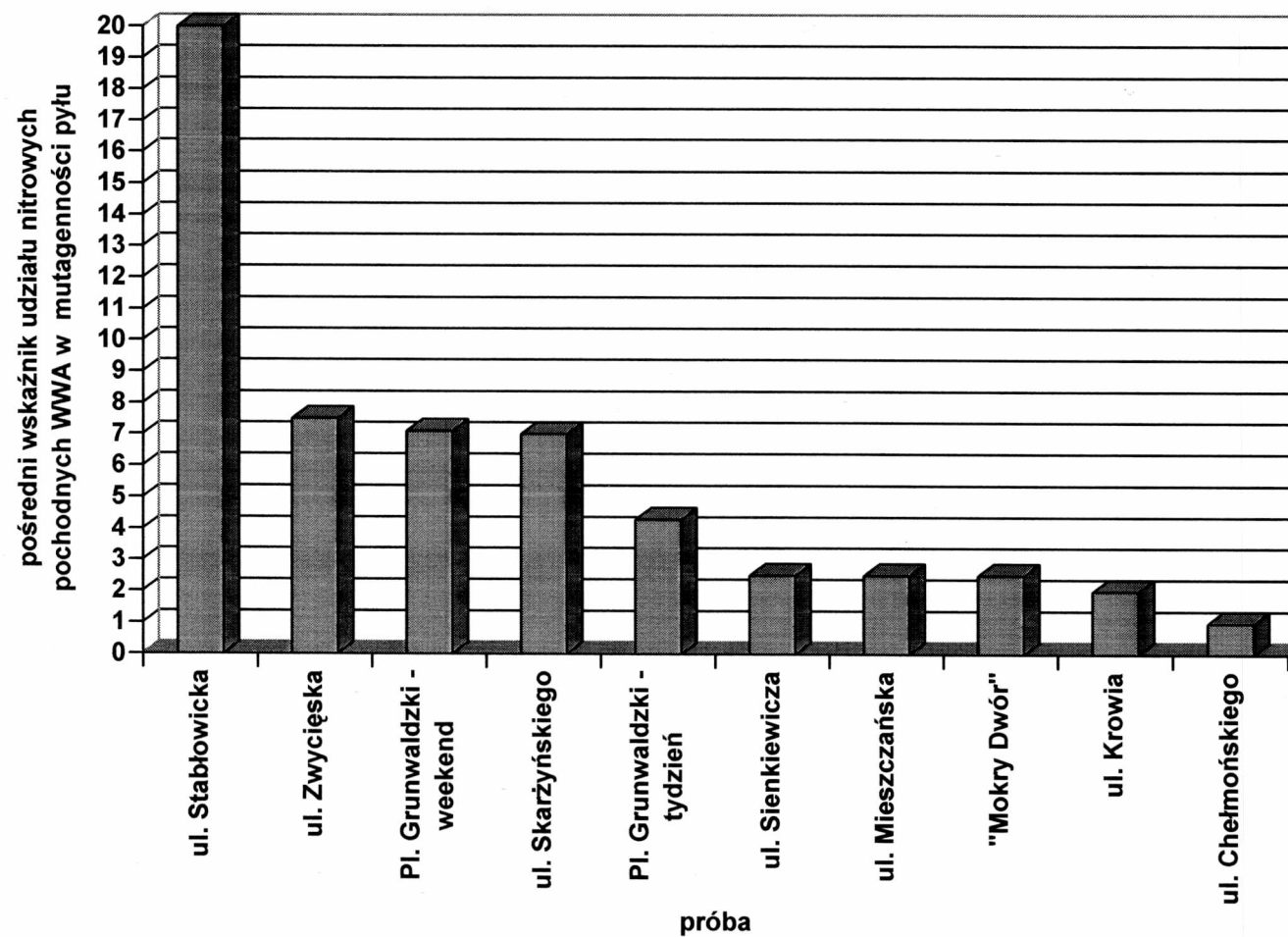
Ryc. 41. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 - lato



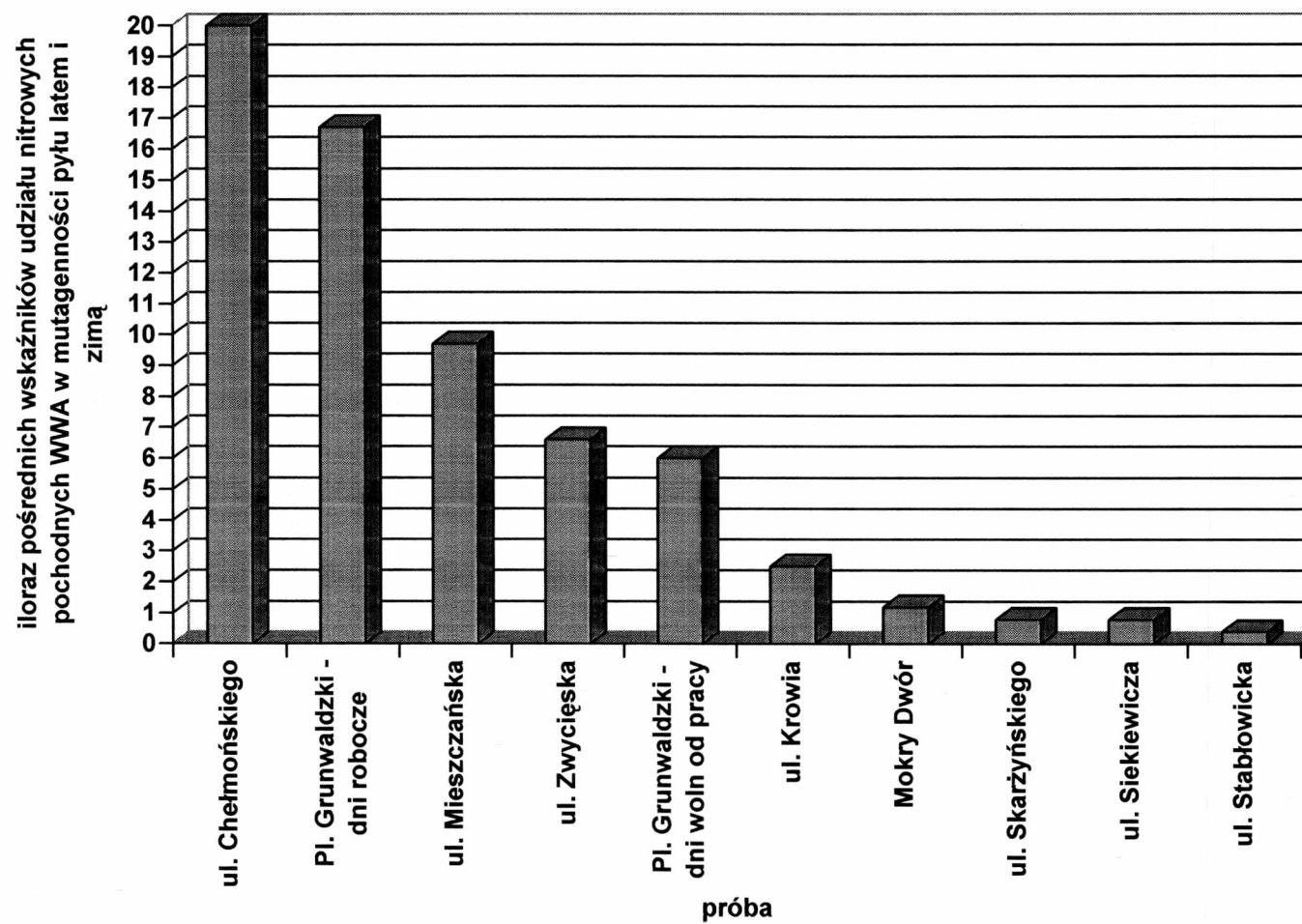
Ryc. 42. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepów YG 1024 - zima



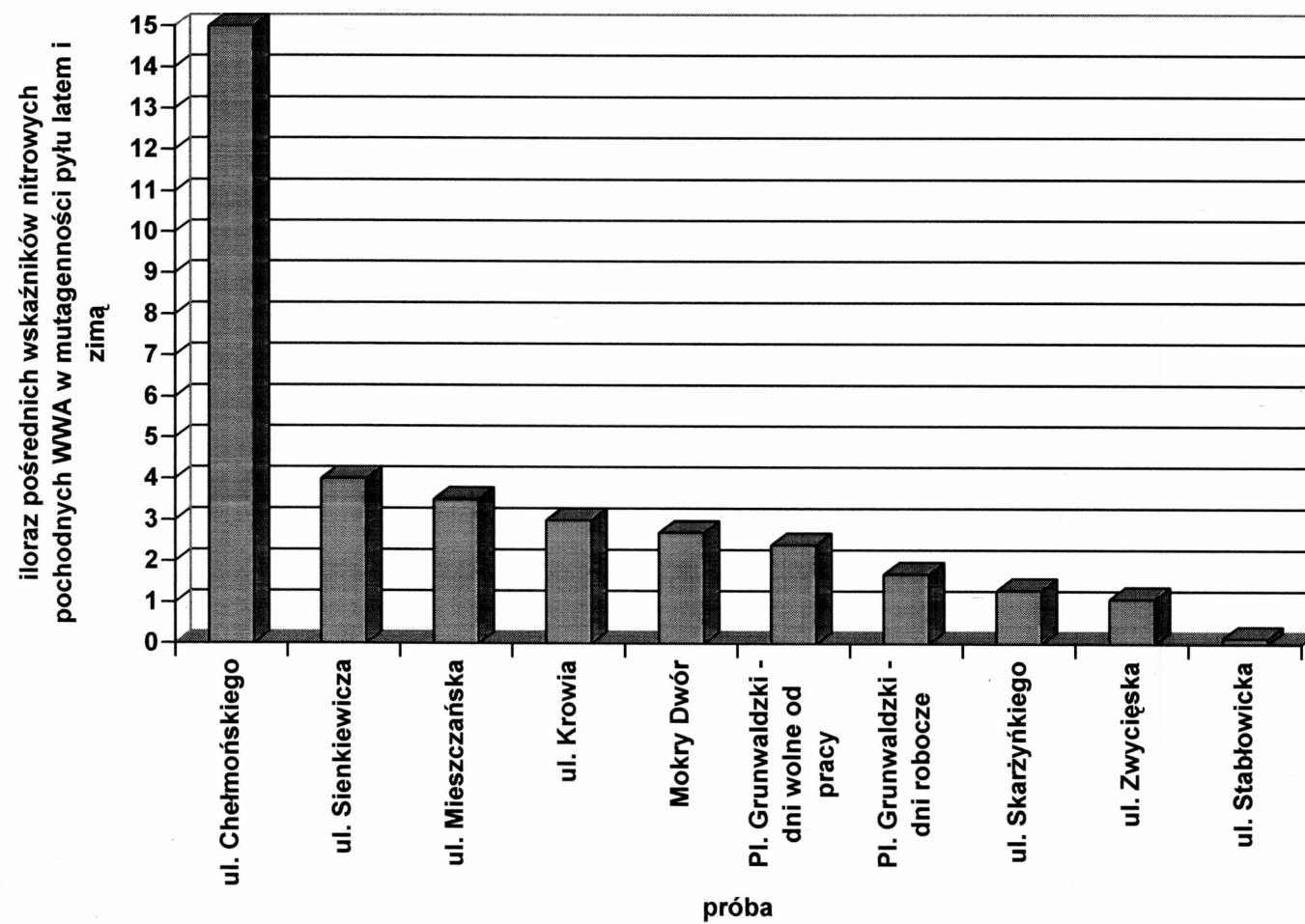
Ryc. 43. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 – lato



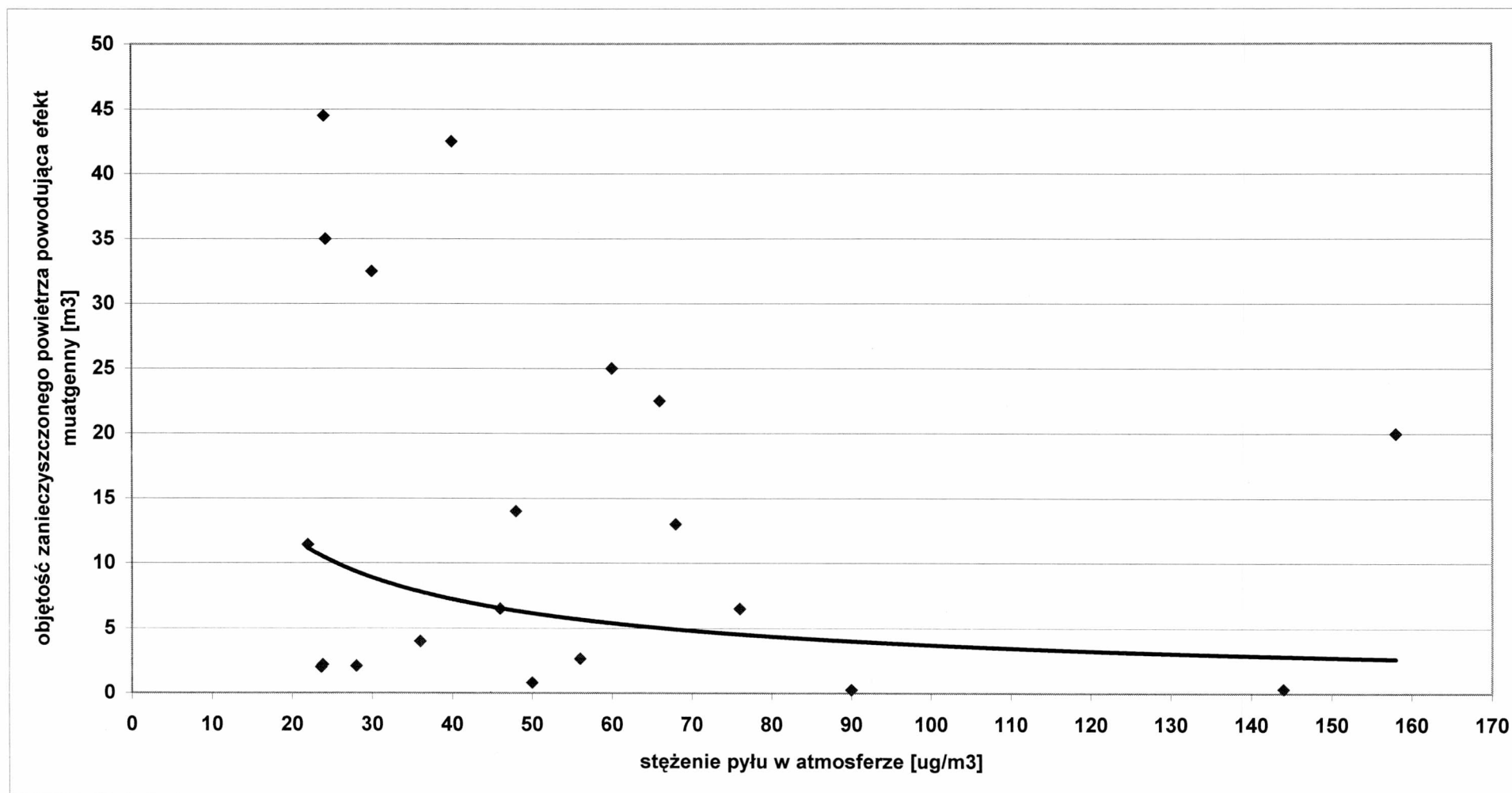
Ryc. 44. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 – zima



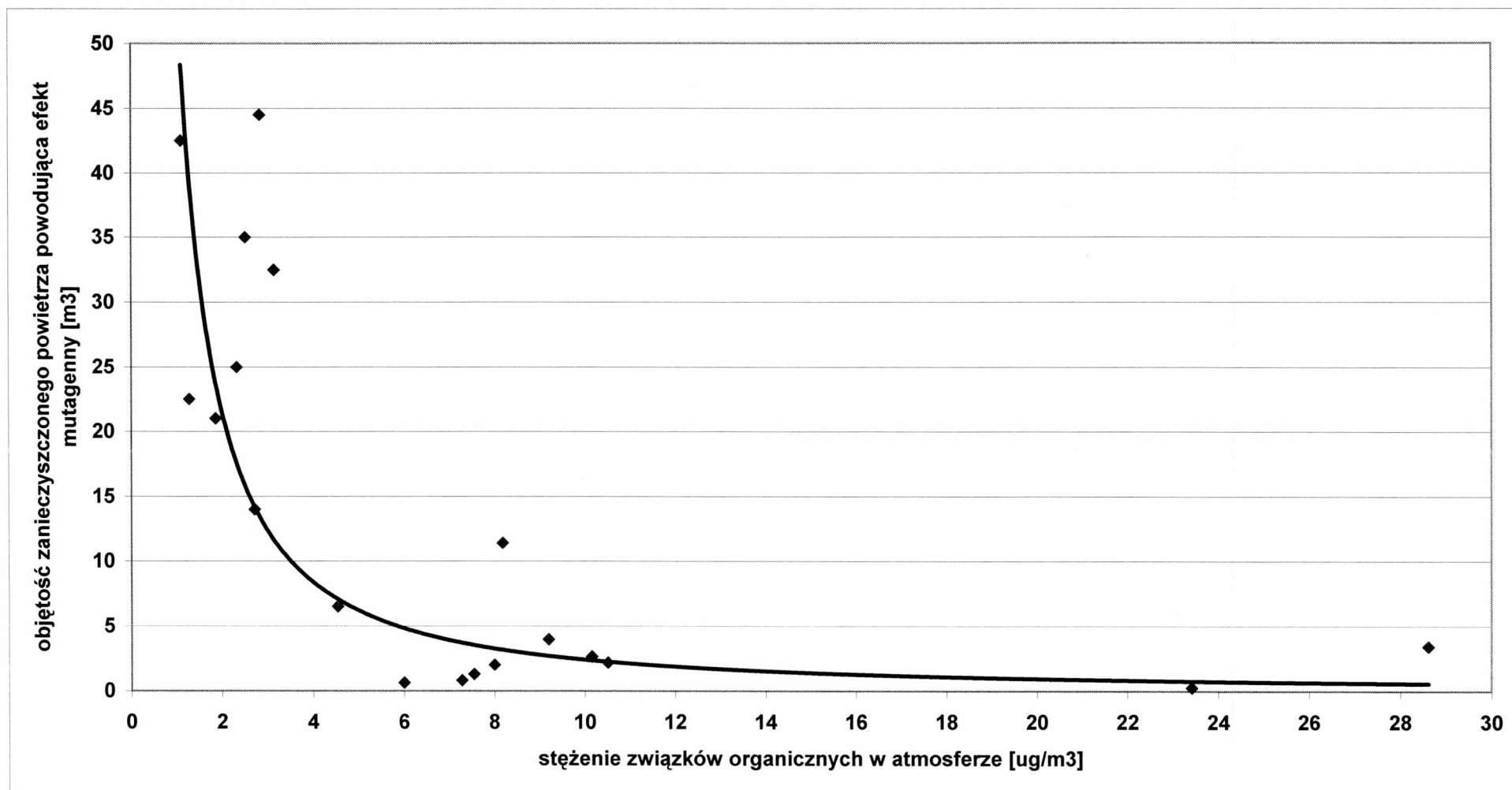
Ryc. 45. Iloraz pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 latem i zimą



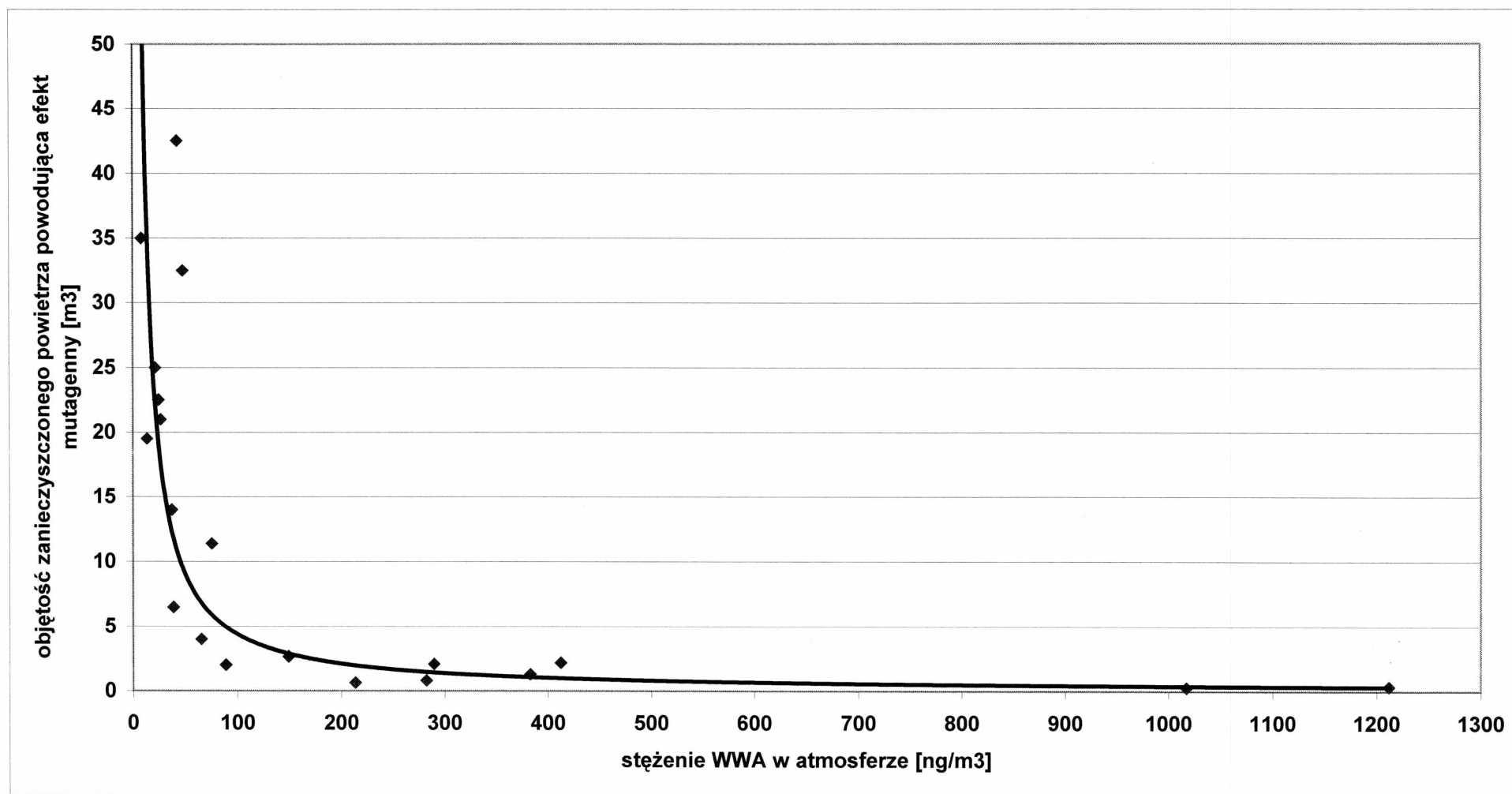
Ryc. 46. Iloraz pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 latem i zimą



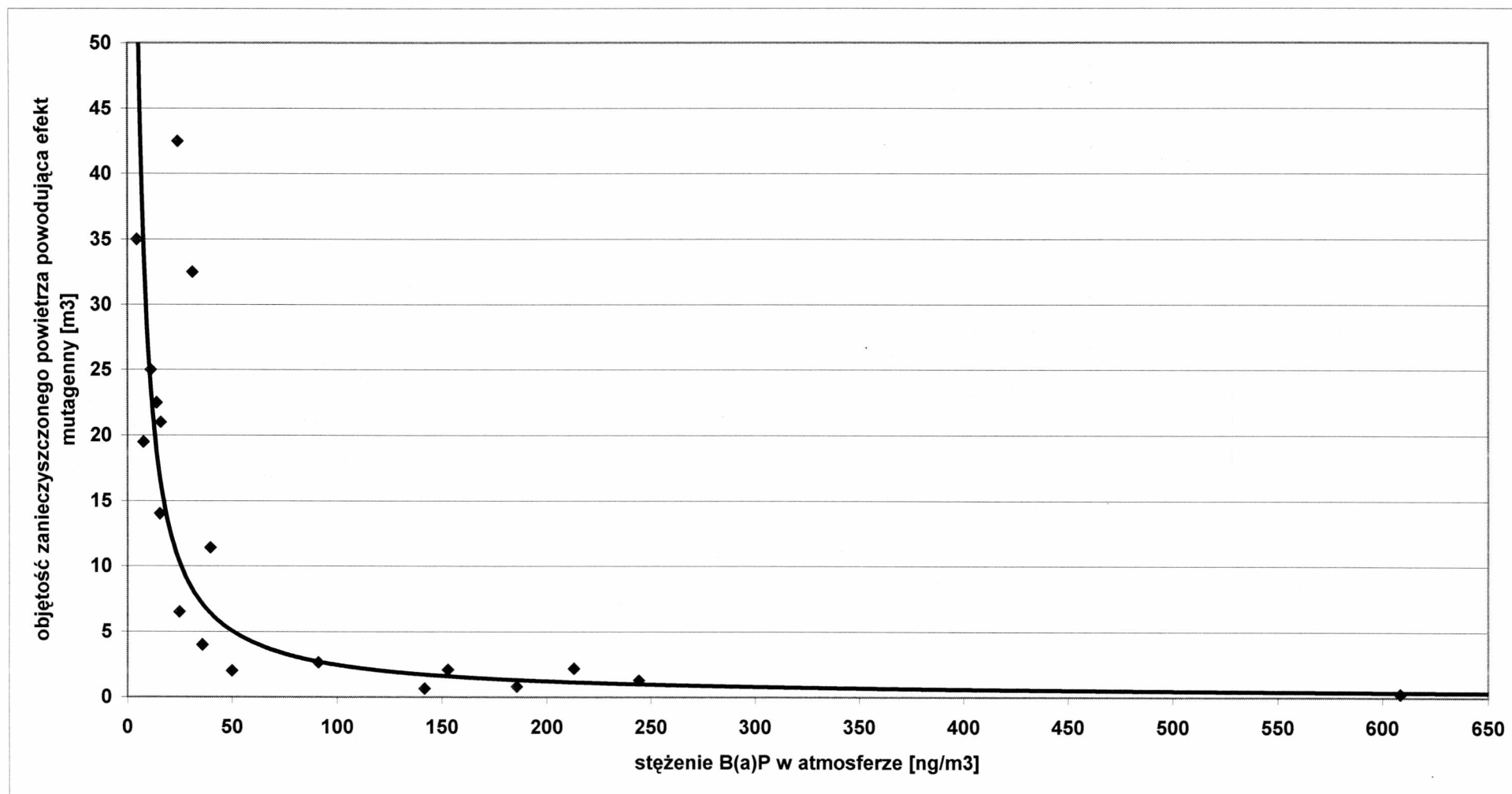
Ryc. 47. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze pyłu zawieszonego [m^3]



Ryc. 48. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze związków organicznych [m³]



Ryc. 49. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym [m^3]



Ryc. 50. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutageny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze benzo(a)pirenu [m^3]

8.4. SPIS TABEL

Tab. 1. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego PM 10

Tab. 2. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego pobranego latem

Tab. 3. Charakterystyka prób pyłu zawieszonego pobranego zimą

Tab. 4. Czasy retencji i jony fragmentacyjne WWA

Tab. 5. Występowanie WWA z listy EPA w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

Tab. 6. Występowanie innych WWA w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

Tab. 7. Występowanie innych związków o budowie pierścieniowej w badanych próbach pyłu zawieszonego PM 10

Tab. 8. Zawartość WWA z listy EPA w 1 g badanych pyłów pobranych latem [μg]

Tab. 9. Zawartość WWA z listy EPA w 1 g badanych pyłów pobranych zimą [μg]

Tab. 10. Stężenie w atmosferze WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych latem [ng/m^3]

Tab. 11. Stężenie w atmosferze WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą [ng/m^3]

Tab. 12. Inne WWA zaadsorbowane na pyłach pobranych latem

Tab. 13. Inne związki pierścieniowe zaadsorbowane na pyłach pobranych latem

Tab. 14. Inne WWA zaadsorbowane na pyłach pobranych zimą

Tab. 15. Inne związki pierścieniowe zaadsorbowane na pyłach pobranych zimą

Tab. 16. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w sierpniu 1997

Tab. 17. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego we wrześniu 1997

Tab. 18. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w październiku 1997

Tab. 19. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w listopadzie 1997

Tab. 20. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w grudniu 1997

Tab. 21. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w styczniu 1998

Tab. 22. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w lutym 1998

- Tab. 23. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w marcu 1998
- Tab. 24. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego we kwietniu 1998
- Tab. 25. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w maju 1998
- Tab. 26. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w czerwcu 1998
- Tab. 27. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego w lipcu 1998
- Tab. 28. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego latem
- Tab. 29. Współczynniki mutagenności MR pyłu pobranego zimą
- Tab. 30. Współczynniki mutagenności MR frakcji alifatycznej pyłu pobranego latem
- Tab. 31. Współczynniki mutagenności MR frakcji alifatycznej pyłu pobranego zimą
- Tab. 32. Współczynniki mutagenności MR frakcji aromatycznej pyłu pobranego latem
- Tab. 33. Współczynniki mutagenności MR frakcji aromatycznej pyłu pobranego zimą
- Tab. 34. Współczynniki mutagenności MR frakcji polarnej pyłu pobranego latem
- Tab. 35. Współczynniki mutagenności MR frakcji polarnej pyłu pobranego zimą
- Tab. 36. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 3 pyłu pobranego latem
- Tab. 37. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 3 pyłu pobranego zimą
- Tab. 38. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 4 pyłu pobranego latem
- Tab. 39. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 4 pyłu pobranego zimą
- Tab. 40. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 5 pyłu pobranego latem
- Tab. 41. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 5pyłu pobranego zimą
- Tab. 42. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 6 pyłu pobranego latem
- Tab. 43. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 6 pyłu pobranego zimą
- Tab. 44. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 7 pyłu pobranego latem
- Tab. 45. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 7 pyłu pobranego zimą
- Tab. 46. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 8 pyłu pobranego latem
- Tab. 47. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 8 pyłu pobranego zimą

Tab. 48. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 9 pyłu pobranego latem

Tab.49. Współczynniki mutagenności MR subfrakcji 9 pyłu pobranego zimą

Tab. 50. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze

Tab. 51. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy Pl. Grunwaldzkim w dni wolne od pracy

Tab. 52. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Sienkiewicza

Tab. 53. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Krowiej

Tab. 54. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Mieszczańskiej

Tab. 55. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Chełmońskiego

Tab. 56. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Zwycięskiej

Tab. 57. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Stabłowickiej

Tab. 58. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem na terenie Zakładu Uzdatniania Wody „Mokry Dwór”

Tab. 59. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego latem przy ul. Skarżyńskiego

Tab. 60. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy Pl. Grunwaldzkim w dni robocze

Tab. 61. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy Pl. Grunwaldzkim w dni wolne od pracy

Tab. 62. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Sienkiewicza

Tab. 63. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Krowiej

Tab. 64. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Mieszczańskiej

Tab. 65. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Chełmońskiego

Tab. 66. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Zwycięskiej

Tab. 67. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Stabłowickiej

Tab. 68. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą na terenie Zakładu Uzdatniania Wody „Mokry Dwór”

Tab. 69. Współczynniki mutagenności MR próby pyłu pobranego zimą przy ul. Skarżyńskiego

Tab. 70. Współczynniki mutagenności MR pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia w teście drożdżowym

8.5. SPIS RYCIN

- Ryc. 1. Rozmieszczenie punktów poboru prób
- Ryc. 2. Schemat testu Amesa
- Ryc. 3. Schemat testu drożdżowego
- Ryc. 4. Sezonowa zmienność stężenia pyłu zawieszonego PM 10 w atmosferze w centrum Wrocławia [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 5. Sezonowa zmienność udziału związków organicznych w pyłe zawieszonym PM 10 w centrum Wrocławia [%]
- Ryc. 6. Sezonowa zmienność stężenia w atmosferze związków organicznych zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym PM 10 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 7. Udział wagowy frakcji chromatograficznych w ekstrakcie pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia latem [%]. 1-frakcja alifatyczna, 2-frakcja aromatyczna, 3-9 kolejne subfrakcje polarne.
- Ryc. 8. Udział wagowy frakcji chromatograficznych w ekstrakcie pyłu zawieszonego PM 10 pobranego w centrum Wrocławia zimą [%]. 1-frakcja alifatyczna, 2-frakcja aromatyczna, 3-9 kolejne subfrakcje polarne.
- Ryc. 9. Stężenie pyłu na stanowiskach badawczych podczas poboru prób latem [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 10. Stężenie pyłu na stanowiskach badawczych podczas poboru prób zimą [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 11. Iloraz stężenia pyłu w atmosferze zimą i latem
- Ryc. 12. Stężenie związków organicznych w atmosferze latem [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 13. Stężenie związków organicznych w atmosferze zimą [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
- Ryc. 14. Iloraz stężeń w atmosferze związków organicznych zimą i latem
- Ryc. 15. Zawartość sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych latem [μg]
- Ryc. 16. Zawartość sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych zimą [μg]
- Ryc. 17. Iloraz zawartości sumy WWA z listy EPA w 1 g pyłów pobranych zimą i latem
- Ryc. 18. Stężenie w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych latem [ng/m^3]
- Ryc. 19. Stężenie w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą [ng/m^3]

- Ryc. 20. Iloraz stężeń w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłach pobranych zimą i latem
- Ryc. 21. Zawartość benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych latem [μg]
- Ryc. 22. Zawartość benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych zimą [μg]
- Ryc. 23. Iloraz zawartości benzo(a)pirenu w 1 g pyłów pobranych zimą i latem
- Ryc. 24. Stężenie w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych latem [ng/m^3]
- Ryc. 25. Stężenie w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych zimą [ng/m^3]
- Ryc. 26. Iloraz stężeń w atmosferze benzo(a)pirenu na pyłach pobranych zimą i latem
- Ryc. 27. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 [m^3]
- Ryc. 28. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu YG 1021 [m^3]
- Ryc. 29. Sezonowa zmienność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu YG 1024 [m^3]
- Ryc. 30. Sezonowa zmienność pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu dla szczepu YG 1024
- Ryc. 31. Sezonowa zmienność pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu dla szczepu YG 1021
- Ryc. 32. Sezonowa zmienność pośrednich wskaźników udziału nitrowych, aminowych i hydroksyloaminowych pochodnych WWA w mutagenności pyłu zawieszonego
- Ryc. 33. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze pyłu zawieszonego PM 10
- Ryc. 34. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze związków organicznych zaadsorbowanych na pyłach zawieszonym PM 10
- Ryc. 35. Masy pyłu wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – lato [mg]
- Ryc. 36. Masy pyłu wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – zima [mg]
- Ryc. 37. Iloraz mas pyłu wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 latem i zimą

Ryc. 38. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – lato [m^3]

Ryc. 39. Objętości zanieczyszczonego powietrza wywołujące efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 – zima [m^3]

Ryc. 40. Iloraz objętości wywołujących efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 latem i zimą

Ryc. 41. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 - lato

Ryc. 42. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 - zima

Ryc. 43. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 – lato

Ryc. 44. Pośredni wskaźnik udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 – zima

Ryc. 45. Iloraz pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1024 latem i zimą

Ryc. 46. Iloraz pośrednich wskaźników udziału nitrowych pochodnych WWA w mutagenności pyłów dla szczepu YG 1021 latem i zimą

Ryc. 47. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze pyłu zawieszonego [m^3]

Ryc. 48. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze związków organicznych [m^3]

Ryc. 49. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze sumy WWA z listy EPA zaadsorbowanych na pyłe zawieszonym [m^3]

Ryc. 50. Zależność objętości zanieczyszczonego powietrza wywołującej efekt mutagenny wobec szczepu TA 98 bez aktywacji frakcją S9 od stężenia w atmosferze benzo(a)pirenu [m^3]

Otrzymują:

1. Promotor
2. Recenzenci
3. Biblioteka Główna Politechniki Wrocławskiej
4. Biblioteka Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska
5. Komitet Badań Naukowych
6. Autor