

Agnieszka Kozłowska

Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Katowicach

Monika Dudra-Jastrzębska

Zakład Patofizjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Konrad Kozłowski

Student, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Paulina Wojtyła-Buciora

Wydział Medyczny i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta Stanisława
Wojciechowskiego, Kalisz

Katedra i Zakład Fizjologii, Uniwersytet Medyczny im. Prezydenta Stanisława
Wojciechowskiego w Poznaniu

Magdalena Matysiak-Kucharek

Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, Instytut Medycyny Wsi
im. W. Chodźki, Lublin

Andrzej Wojtyła

Światowy Instytut Zdrowia Rodziny,
Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta Stanisława Wojciechowskiego, Kalisz

Lucyna Kapka-Skrzypczak

Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych,
Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki, Lublin
Światowy Instytut Zdrowia Rodziny,
Uniwersytet Kaliski im. Prezydenta Stanisława Wojciechowskiego, Kalisz

BIOPALIWA JAKO ŚRODOWISKOWE ZAGROŻENIE ZDROWIA

BIOFUELS AS ENVIRONMENTAL HEALTH THREATS

I. Biopaliwa i ich znaczenie

Zanieczyszczenia stanowiące produkty uboczne procesu spalania benzyny lub oleju napędowego w silnikach samochodowych stanowią poważny problem środowiskowy i zdrowotny. Paliwem alternatywnym dla ropy naftowej i najbardziej bezpiecznym od strony ekologicznej jest m.in. sprężona mieszanka propanu i butanu (LPG – ang. *Liquified Petroleum Gas*) oraz sprężony gaz ziemny (CNG – ang. *Compressed Natural Gas*)¹. Do tej pory najbardziej bezpiecznym dla środowiska i zdrowia człowieka czynnikiem napędzającym samochody są napędy hybrydowe i elektryczne z tzw. „zerową emisją ditlenku węgla (CO_2)”, które stają się coraz bardziej popularne. Niestety nie do końca są zbadane zagrożenia z nimi związane np.: smog elektromagnetyczny czy recykling akumulatorów produkowanych z materiałów niebezpiecznych tj.: krzem, miedź, lit. Należy również brać pod uwagę emisję źródeł wytwórczych, które zapewniają zasilanie do samochodów elektrycznych, czy są to paliwa kopalniane, czy energia odnawialna. Biorąc pod uwagę energię elektryczną do zasilania samochodu pochodzącą wyłącznie z elektrowni węglowych to emisja ditlenku węgla w przeliczeniu na 1km jazdy jest na takim samym poziomie, jak z samochodu zasilanego olejem napędowym czy benzyną^{2,3,4}. Jednym z bardziej obiecujących rodzajów paliw alternatywnych i przyjaznych środowisku, mogących w pewnym stopniu zastąpić benzynę oraz olej napędowy (ON) stały się biopaliwa dla transportu, produkowane z biomasy.

Biopaliwo to określenie niejednoznaczne, przedstawiające różne interpretacje pojęcia bazowego, obejmujące swym zakresem bardzo szeroką gamę różnych substratów. Biopaliwa ciekłe lub gazowe są wytwarzane z domieszką biokomponentów roślinnych (rzepak, soja, słonecznik, olej palmowy i inne rośliny oleiste), co przyczynia się do ograniczenia stosowania paliw naftowych⁵. Najbardziej popularnym biopaliwem jest biodiesel, używany do napędzania silników wysokoprężnych. Zawiera w swym składzie biologiczny komponent

- 1 Gołębiowski P., Jachimowski R., Lewczuk K., Szczepański E., Wasiak M.: Uwarunkowania prawne kształtowania proekologicznego systemu transportowego. *Prace Naukowe Politechniki Wrocławskiej*, 135-145, 2013.
- 2 Filipowicz J., Kwiecień K.: Rozwój napędu elektrycznego pojazdów samochodowych w aspekcie ochrony środowiska. *Logistyka*, 3:567-573, 2012.
- 3 Polanowski K.: Samochód elektryczny a ochrona atmosfery. *Annual Set the Environment Protection*, 18: 628-639, 2016.
- 4 Chmieliński M.: Ekologizacja transportu przez zastosowanie fotowoltaiki do zasilania samochodów elektrycznych. *Ekonomia i Środowisko*, 2, 53, 2015.
- 5 Leme D.M., Grummt T., Palma de Oliveira D., Sehr A., Renz S., Reinelt S., Ferraz E.R.A., Marchi M.R.R., Machado M.C., Zacalo G.J., Marin-Morales M.A.: Genotoxicity assessment of water soluble fraction of biodiesel and its diesel blends using the Salmonella assay and the in vitro MicroFlow[®] kit (Litron) assay. *Chemosphere*, 86: 512-520, 2012.

w postaci metylowych lub etylowych estrów kwasów tłuszczowych, (ang. *Fatty Acid Methyl Esters*, FAME; *Fatty Acid Ethylesters*, FAEE). Cechy tych paliw zaliczanych do głównych odnawialnych paliw transportowych nie wykazują różnic, poza dodawanym w procesie alkalicznej transestryfikacji wyższych kwasów tłuszczowych, metanolem (FAME) lub etanolem (FAEE) z utworzeniem gliceryny, jako produktu ubocznego. Niemniej jednak za stosowaniem metanolu przeważają względy ekonomiczne. Biodiesel określany jest również, jako paliwo bezpieczne dla środowiska, głównie ze względu na zmniejszone ilości w emitowanych spalinach do środowiska: węglowodorów (HC), ditlenku węgla (CO₂), ditlenku siarki (SO₂), pyłów oraz intensywną biodegradowalność (do 88% do 98% w ciągu 21 - 28 dni), odnawialny charakter i naturalne pochodzenie^{6,7,8,9}. Biopaliwa nie do końca są tak nowatorskim odkryciem, gdyż już za czasów Rudolfa Diesla (konstruktora silnika Diesla, 1890r.) stosowany był olej arachidowy, jako paliwo do zasilania tych silników, lecz szybko został on wyparty przez paliwa naftowe¹⁰.

Innym rodzajem biokomponentu stanowiącego domieszkę w biopaliwach są biowęglowodory¹¹. Wytwarzane są one w technologii katalitycznej hydrogenacji oleju, podczas której usuwany jest tlen i wiązania nienasycone ze struktur triglicerydów (ang. *Hydrotreated Vegetable Oils*, HVO), a w ich składzie znajdują się głównie ciekłe węglowodory parafinowe¹². Szkodliwe dla środowiska i zdrowia ludzi spaliny z silników Diesla stanowią mieszaninę niebezpiecznych związków, które ze względu na skład – duża ilość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i nitrowych pochodnych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (NWWA) – posiadają właściwości mutagenne i rakotwórcze¹³. Zostało to również potwierdzone przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (ang. *International Agency for Research on Cancer*, IARC), a także Światową Organizację Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO), kwalifikując spaliny z silników Diesla do 1 grupy kancerogenów, a spaliny z silników benzynowych do grupy 2B (prawdopodobnie rakotwórcze dla ludzi)¹⁴. Przy-

6 Makarevicine V, Janulis P.: Environmental effect rapeseed oil ethyl ester. *Renewable Energy*, 28: 2395-2403, 2003.

7 Swanson K., Madden M., Ghio A.: Biodiesel exhaust: The need for health effects research. *Environmental Health Perspectives*, 115, 4: 496-499, 2007

8 Dąbrowski W., Bednarski W.: Ekologiczne aspekty produkcji oraz stosowania biodiesla. *Nauki Inżynierskie i Technologiczne*, 3, 10: 18-34, 2013.

9 Pilarski K.: Charakterystyka oleju rzepakowego jako paliwa do zasilania ciągnikowych silników z zapłonem samoczynny. *Technika Rolnicza Ogrodnicza i Leśna*, 1, 2009.

10 Mutlu E., Warren S.H., Matthews P.P., King C., Walsh L., Kligerman A.D., Schmid J.E., Janek D., Kooter I.M., Linak W.P., Gilmour M.I., DeMarini D.M.: Health effects of soy-biodiesel emissions: mutagenicity-emission factors. *Inhalation Toxicology*, 27, 11: 585-596, 2015.

11 Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006r o biokomponentach i biopaliwach ciekłych (Dz. U. z 2006 Nr 169 poz.1199 z póź. zm.), tekst jednolity (Dz. U. z 2013r., poz 1164), zmieniona ustawą z 21 marca 2014r. o zmianie ustawy o biokomponentach i biopaliwach ciekłych oraz niektórych innych ustaw (Dz. U. z 2014r., poz 457).

12 Westphal G.A., Krahl J., Munack A., Rosenkranz N., Schröder O., Schaak J., Pabst C., Brüning T., Brünger J.: Combustion of hydrotreated vegetable oil and jatropha methyl ester in a heavy duty engine: emissions and bacterial mutagenicity. *Environmental Science & Technology*, 4, 47, 11: 6038-6064, 2013.

13 Pośniak M., Makhniashvili I., Kozieł E., Kowalska J.: Spaliny silników Diesla – zagrożenie dla zdrowia pracowników. *Bezpieczeństwo Pracy*, 9: 11-14, 2001.

14 International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. IARC, 105, 1: 1-704, 2014.

kładowo, badania wykazały zależność pomiędzy ekspozycją na emisję z silników Diesla, a zwiększoną zachorowalnością na raka jelita grubego wśród mężczyzn z Kanady i raka płuc w populacji górników^{15,16,17,18,19}.

II. Charakterystyka zanieczyszczeń emitowanych z biopaliw i ich wpływ na zdrowie

Zanieczyszczenia emitowane ze spalania, benzyny, oleju napędowego czy biopaliw wpływają negatywnie, na jakość powietrza, środowisko i klimat, powodując reakcje biologiczne i niekorzystne skutki zdrowotne dla ludzi^{20,21}. Niska emisja, której źródłem są zanieczyszczenia z domowych kominów, palenisk i lokalnych kotłowni jak również z samochodów, ma bardzo destrukcyjny wpływ na nasze zdrowie. Zanieczyszczenia motoryzacyjne rozprzestrzeniają się na niskich wysokościach, w bezpośrednim sąsiedztwie ludzi. Pierwszą linią obrony przed działaniem substancji chemicznych i drobnoustrojów są komórki nabłonkowe dróg oddechowych²². Dysfunkcja układu oddechowego wywołana zanieczyszczeniami i długotrwałe narażenie stanowi ryzyko schorzeń chronicznych jak zapalenia oskrzeli, obniżenie wydolności płuc, zmiany neurobehawioralne, arteriosklerozy, choroby serca, przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP)^{23,24}. Natomiast krótkotrwała ekspozycja na zanieczyszczenia może być przyczyną astmy, zaburzeń rytmu serca, reakcji alergicznych²⁵.

- 15 Kachuri L., Villeneuve P.J., Parent M.E., Johnson K.C., Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group, Harris S.A.: Workplace exposure to diesel and gasoline engine exhausts and the risk of colorectal cancer in Canadian men. *Environmental Health*, 15, 4, 2016.
- 16 Attfield M.D., Schleiff P.L., Lubin J.H., Blair A., Steward P.A., Vermeulen R., Coble J.B., Silverman D.T.: The diesel exhaust in miners study: A cohort mortality study with emphasis on lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 104: 869-883, 2012.
- 17 Olsson A.C., Gustavsson P., Kromhout H., Peters S., Vermeulen R., Bröske I., Pesch B., Siemiatycki J., Pintos J., Brüning T., Cassidy A., Wichmann H.E., Consonni D., Landi M.T., Caporaso N., Plato N., Merletti F., Mirabelli D., Richiardi L., Jöckel K.H., Ahrens W., Pohlmann H., Lissowska J., Szeszenia-Dąbrowska N., Zaridze D., Stücker I., Benhamou S., Bencko V., Foretova L., Janout V., Rudnai P., Fabianova E., Dumitru R.S., Gross I.M., Kendzia B., Forastiere F., Bueno-de-Mesquita B., Brennan P., Boffetta P., Straif K.: Exposure to diesel motor exhaust and lung cancer risk in a pooled analysis from case-control studies in Europe and Canada. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 83: 941-948, 2011.
- 18 Silverman D.T., Samanic C.M., Lubin J.H., Blair A.E., Stewart P.A., Vermeulen R., Coble J.B., Rothman N., Schleiff P.L., Travis W.D., Ziegler R.G., Wacholder S., Attfield M.D.: The diesel exhaust in miners study: a nested case-control study of lung cancer and diesel exhaust. *Journal of the National Cancer Institute*, 104: 855-868, 2012.
- 19 Schröder O., Bünger J., Munack A., Knothe G., Kralh J.: Exhaust emissions and mutagenic effects of diesel fuel, biodiesel and biodiesel blends. *Fuel*, 103: 414-420, 2013.
- 20 Kamiński M., Pospolita W., Cholewiński M., Łagocka A.: Emisja zanieczyszczeń z sektora transportu lotniczego i jej wpływ na zdrowie człowieka. *Kosmos*, 65, 4: 487-493, 2016.
- 21 Madden M.C.: A paler shade green? The toxicology of biodiesel emissions: Recent findings from studies with this alternative fuel. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1860: 2856-2862, 2016.
- 22 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Mutagenic and cytotoxic properties of extracts of suspended particulate matter collected in Wrocław city area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 37- 48, 2009.
- 23 Kapka L., Zemła B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.: Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. *PZH, Przegląd Epidemiologiczny*, 63, 3: 437-442, Warszawa 2009.
- 24 Vieira J.L., Macedo F.Y., Benjo A.M., Guimaraes G.V., Contreras J.P., Bocchi E.A.: Systemic effect of controlled exposure to diesel exhaust: a meta-analysis from randomized controlled trials. *Annals of Medicine* 49, 2: 165-175, 2016.
- 25 Czarny A., Zaczynska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na produkcję TNF- α przez ludzkie komórki płuc, *in vitro*. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Koltwan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 56: 27-44, Wrocław 2008.

W przemianach substancji zanieczyszczających powietrze ważną rolę pełnią również reaktywne formy tlenu (RFT) powstające głównie w wyniku reakcji fotolizy. Powstające RFT, a zwłaszcza rodnik hydroksylowy ($\bullet\text{OH}$) utleniają obecne w środowisku substancje tj. ditlenek siarki, ditlenek azotu, tlenek węgla, metan²⁶. Reaktywne formy tlenu indukują stres oksydacyjny komórki, co stanowi kluczową rolę w powstawaniu niepożądanych skutków zdrowotnych. Uważane są za jedną z najważniejszych przyczyn pojawiania się chorób nowotworowych, układu krążenia, a zwłaszcza chorób o podłożu stanu zapalnego^{27,28,29}. Przyczyniają się do tego metale ciężkie ulegając przemianom chemicznym i WWA, ulegając biotransformacji w komórkach organizmów żywych³⁰. Większość zanieczyszczeń w atmosferze, które posiadają właściwości genotoksyczne i cytotoksyczne jest zaadsorbowana na pyłe zawieszonym.

Zanieczyszczenia pyłowe stanowią złożoną mieszaninę substancji organicznych i nieorganicznych o różnorodnym składzie chemicznym i mineralnym. Pyły można podzielić ze względu na wielkość cząstek na frakcję grubą PM₁₀, która powstaje głównie podczas poruszania się pojazdów po nieutwardzonych nawierzchniach czy z pylenia wtórnego i frakcję drobną PM_{2.5}, powstającą podczas spalania paliw w silnikach samochodowych, elektrociepłowniach, zakładach przemysłowych oraz paleniskach domowych^{31,32}. W strukturze emisji zanieczyszczeń powietrza rosnący jest udział transportu. Z bilansu sprzedawanych paliw wynika, że szacunkowy udział emisji z transportu wynosi ok. 10 – 15%^{33,34}. Stopień uciążliwości tej emisji jest jednak większy ze względu na toksyczność tych zanieczyszczeń oraz emisję nisko nad ziemią. W gazach spalinowych występują aerozole nieorganicznych połączeń ołowiu (bromochlorek, chlorki, bromki, siarczany, tlenki fosforany) powstające z tetraetylułowiu (środek przeciwstukowy) dodawanego do paliw samochodowych. Związki ołowiu i innych metali powodują trwałe zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym. Za jedną czwartą emisji ditlenku węgla do atmosfery odpowiada transport drogowy. Silniki Diesla, w przeciwieństwie do benzynowych, wytwarzają mniej tlenu węgla natomiast znacznie więcej dymu, WWA i tlenków azotu. Transport samochodowy jest także przyczyną

- 26 Bartosz G.: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo PWN, 289-290, Warszawa 2006.
- 27 Kruk J., Aboul-Enein H.Y.: Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Carcinogenesis: Implications of Oxidative Stress on the Progression and Development of Several Cancer Types. Mini- Reviews in Medicinal Chemistry, 17, 11: 904-919, 2017.
- 28 Siti H.N., Kamisah Y., Kamisah J.: The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). Vascular Pharmacology, 71: 40-56, 2015.
- 29 Incalza M.A., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., L'Aviola L., Giorgino F.: Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. Vascular Pharmacology, 2017, doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
- 30 Betha R., Pavagadhi S., Sethu S., Hande M.P., Balasubramanian R.: Comparative *in vitro* cytotoxicity assessment of airborne particulate matter emitted from stationary engine fuelled with diesel and waste cooking oil-derived biodiesel. Atmospheric Environment, 61: 23-29, 2012.
- 31 Jarosińska D., Biesiada M., Dąbkowska B., Muszyńska-Graca M., Pastuszka J., Pawlas K., Powązka E., Skiba M.: Środowiskowe zagrożenia zdrowia w Polsce – wybrane zagadnienia. Informator dla administracji rządowej i samorządowej. 1-62, IMPiZŚ, Sosnowiec 2001.
- 32 Kapka L., Mielżyńska D., Siwińska E.: Ocena sezonowej i przestrzennej zmienności stężeń PM₁₀ oraz wybranych WWA w powietrzu atmosferycznym województwa śląskiego. Medycyna Środowiskowa, 7, 1: 25-31, Sosnowiec 2004.
- 33 www.polskialarmsmogowy.pl, dostęp z dnia 20.02.2022.
- 34 Chłopek Z., Suchocka K.: Modelowane emisji i immisji frakcji wymiarowych cząstek stałych związanych z ruchem samochodowym.. Zeszyty Naukowe Instytutu Pojazdów, 1, 97: 5-20, 2014.

przedostawania się do powietrza dużej ilości cząstek, w tym rakotwórczego azbestu pochodzącego z okładzin hamulców i sprzęgieł oraz WWA z pirolizy benzyny i oleju napędowego w silnikach^{35,36,37}. Ponadto w wyniku spalania paliw w silnikach samochodów do powietrza atmosferycznego przedostają się kancerogenne związki metali ciężkich oraz produkty spalania biocydów. Biocydy są to substancje dodawanych do paliw, w celu ochrony magazynowanych paliw przed biodegradacją oraz zbiorników paliwowych przed korozją mikrobiologiczną³⁸. Wprowadzenie obowiązku dodawania do paliw płynnych tzw. biokomponentów³⁹ może dodatkowo przyczynić się do wzrostu zużycia paliwa, a w efekcie również do zwiększonej emisji szkodliwych związków. Wpływ na zdrowie człowieka poszczególnych zanieczyszczeń emitowanych z silników zasilanych paliwami konwencjonalnymi i biopaliwami przedstawiono w kolejnych podrozdziałach.

II.1. DITLENEK WĘGLA

Ditlenek węgla (CO_2) występuje w atmosferze w stałej ilości ze względu na jego cyrkulację, stanowi 0.03 – 0.1% obj. powietrza. Powstaje on w procesach oddychania, spalania związków organicznych, jest głównym gazem cieplarnianym pochłaniającym promieniowanie podczerwone. Natomiast ubywa go z atmosfery dzięki asymilacji przez rośliny. W ostatnich latach bardzo mocno została zaburzona równowaga CO_2 poprzez wykorzystywanie różnego rodzaju paliw w celu uzyskania energii. Zaliczany jest on do gazów trujących i „biernie duszących”. Około 4% zawartość CO_2 (70mg/dm^3 powietrza) we wdychanym przez człowieka powietrzu powoduje bóle i zawroty głowy, szum w uszach, zaburzenia oddechu, duszności, podwyższenie ciśnienia krwi. Natomiast przy 10% zawartości ditlenku węgla w powietrzu pojawiają się zaburzenia widzenia, silna duszność, utrata przytomności, sinica jest ono niebezpieczne dla życia, natomiast wzrost stężenia do 12% powoduje śmierć organizmu⁴⁰.

II.2. TLENEK WĘGLA

Tlenek węgla (CO) jest toksycznym produktem niepełnego spalania paliw, emitowany do atmosfery przez pojazdy spalinowe⁴¹. Bezwonny, bezbarwny, pozbawiony smaku gaz niebezpieczny dla człowieka, ze względu na łatwość łączenia się z hemoglobina. Skutkiem

35 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 669, Warszawa 2016.

36 Pośniak M., Makhniashvili I., Kozieł E., Kowalska J.: Spaliny silników Diesla – zagrożenie dla zdrowia pracowników. Bezpieczeństwo Pracy, 9: 11-14, 2001.

37 Łomankiewicz D., Brodzik K., Bielaczyc P.: GC-MS/FID analysis of aldehyde hydrocarbon emission from exhaust gases of a spark ignition engine fueled with different ethanol – gasoline blends. Combustion Engines, 2: 30-38, 2012.

38 Chłopek Z., Jarczewski M., Bardzinski W., Sar H.: Influence of fatty acid methyl esters' additive to diesel engine on ecology, fuel consumption and vehicle's performance. Journal of KONES Powertrain and Transport, 13, 1: 261-268, 2006.

39 Ustawa z 25 sierpnia 2006 roku o biokomponentach i biopaliwach ciekłych (Dz.U. z 2006r, Nr 169, poz. 1199z póź. zm.), tekst jednolity (Dz.U. z 2013r., poz. 1164), zmieniona Ustawą z 21 marca 2014 roku o zmianie ustawy o biokomponentach i biopaliwach ciekłych oraz niektórych innych ustaw (Dz.U. z 2014r., poz. 457).

40 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 458-459, Warszawa 2016.

41 Kutrzyk A., Filipczyk J.: Określenie poziomu emisji składników spalin dla różnych warunków pracy silnika. Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej, Transport, 64: 167-174, 2008.

tę jest powstawanie karboksyhemoglobiny. Powoduje niedotlenienie organizmu, w wyniku czego mogą powstawać uszkodzenia układu sercowo – naczyniowego, ośrodkowego układu nerwowego, zaburzenia psychiczne. W wyniku zatrucia tym związkiem w komórkach gromadzone są jego metabolity oraz zwolnieniu ulegają oksydacyjne procesy metaboliczne. Częste narażenie na małe stężenia tlenu węgla objawia się silnymi bólami głowy, uczuciem senności, kołataniem serca, zaburzeniami ciśnienia krwi⁴².

II.3. DITLENEK SIARKI

Ditlenek siarki (SO_2) jest ubocznym produktem działalności człowieka. Powstaje w procesach spalania węgla, ropy naftowej, benzyny oraz w wyniku działalności przemysłu hutniczego, chemicznego, chłodniczego, celulozowego, papierniczego, włókienniczego. Jest łatwo rozpuszczalny w wodzie i odpowiada za powstawanie tzw. kwaśnych deszczy. Do organizmu wchłania się przez skórę i drogi oddechowe. Działa silnie drażniąco na układ oddechowy, nabłonek migawkowy, powoduje zwężenie oskrzeli, przewlekłe zapalenie oskrzeli i tchawicy, utrudnia oddychanie. Zatrucie przewlekłe organizmu SO_2 objawia się zaburzeniem smaku i powonienia, bólami głowy, bólami brzucha, nudnościami, wymiotami, biegunkami, a także zmianami w rozmazie morfologicznym krwi. Przy zatruciach ostrych dużymi stężeniami SO_2 może dojść do odruchu skurczu głośni, co skutkuje natychmiastowym zgonem wskutek uduszenia⁴³.

II.4. TLENKI AZOTU

Tlenki azotu (NO_x) powstają po połączeniu azotu z tlenem. Występują głównie w postaci: tlenku azotu (NO), podtlenku azotu (N_2O), ditlenku azotu (NO_2), tritlenku diazotu (N_2O_3), tetratlenku azotu (N_2O_4), pentatlenku azotu (N_2O_5). Jedne z najbardziej toksycznych gazów spalinowych. W powietrzu atmosferycznym, przeważnie dużych aglomeracji miejskich największe znaczenie z punktu widzenia toksykologicznego ma ditlenek azotu występujący z tlenkiem azotu, którego źródłem są procesy spalania różnego rodzaju paliw przebiegające w wysokich temperaturach i ciśnieniu w komorze spalania silnika. Środki transportu zasilane benzyną emitują do atmosfery 40 – 50% całkowitej ilości tlenków azotu. Przyczyniają się one do powstawania ozonu w strefie przyziemnej⁴⁴. Szkodliwe działanie ozonu na organizm człowieka objawia się obrzękiem płuc, wpływa niekorzystnie na przemiany aminokwasów np.: cysteiny, tryptofanu, jest inhibitorem enzymów komórkowych i opóźnia procesy zachodzące w mitochondriach, uszkadza błony komórkowe. Na szkodliwe działanie ditlenków azotu narażeni są palacze papierosów (po wypaleniu jednego papierosa wchłonimy 160 – 500 μg tlenków azotu), spawacze, górnicy, pracownicy zatrudnieni w miejscach o dużym natężeniu ruchu pojazdów mechanicznych. Krótkotrwałe narażenie na ditlenki azotu powodują zaburzenia

42 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 451-457, 671, Warszawa 2016.

43 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 472-475, 671, Warszawa 2016..

44 Wodołański A., Rejman-Burzyńska A., Jędrzyk E.: Wykorzystanie biometanu jako paliwa w transporcie samochodowym efektywnym sposobem ograniczenie emisji zanieczyszczeń powietrza. Journal of Ekology and Health, 17, 4: 169-175, 2013.

czynnościowe układu oddechowego. NO powoduje tworzenie methemoglobiny, bierze udział w tworzeniu wolnych rodników tlenowych. Ostre zatrucia tlenkami azotu powodują duszności, wymioty, sinice, utraty przytomności, ostrą niewydolność krążenia, porażenie układu oddechowego. Natomiast przewlekłe zatrucie objawia się podrażnieniem spojówek, owrzodzeniem jamy ustnej, uszkodzeniem szkliwa i zębiny, spadkiem ciśnienia krwi i zwolnieniem tętna. Przy zatruciu tlenkami azotu występuje reakcja ksantoproteinowa, charakteryzująca się żółtym zabarwieniem skóry i włosów.

II.5. LOTNE ZWIĄZKI ORGANICZNE

Lotne związki organiczne (LZO, ang. *Volatile Organic Compound, VOC*) to między innymi: alkeny, aldehydy, ketony, cykloalkany. Przyczyniają się do powstawania smogu fotochemicznego. Wiele z nich posiada właściwości kancerogenne. LZO powodują podrażnienia błon śluzowych, dróg oddechowych, oczu i skóry, bóle głowy i zmęczenie⁴⁵. Źródłem antropogenicznej emisji LZO jest stosowanie rozpuszczalników (ok. 32%), transport drogowy (24%), kolej, żegluga, transport powietrzny (ok. 5%), oraz różnego rodzaju procesy spalania (19%), procesy produkcyjne (10%), pozostałe (10%)⁴⁶. Lotne węglowodory posiadają właściwości drażniące oraz działają narkotycznie na ośrodkowy układ nerwowy w wysokich dawkach⁴⁷.

Benzen C_6H_6 otrzymywany w wyniku destylacji ropy naftowej, stosowany, jako rozpuszczalnik. Wchłaniany jest do organizmu przez układ oddechowy i przez skórę, kumuluje się w tkance tłuszczowej. W wątrobie ulega przemianom przy udziale systemu oksydaz funkcji mieszanej (monooksygenaz) zależnych od cytochromu P-450 prowadząc do interakcji lub aktywacji toksycznego działania. Metabolizowany jest do fenolu czy kwasu fenylomerkapturowego, a także hydrolizowany do 1,2-dihydrodiolu i 1,4-dihydrodiolu. Metabolity benzenu działają genotoksycznie na układ krwiotwórczy i szpik kostny, wynikiem tego jest tworzenie aberracji chromosomowych i wymian chromatyd siostrzanych. Sklasyfikowany został przez IARC, jako substancja rakotwórcza dla ludzi, działa silnie narkotycznie na ośrodkowy układ nerwowy, osłabia funkcje immunologiczne organizmu. Przy ostrych zatruciach o ciężkim przebiegu mogą wystąpić zaburzenia psychiczne⁴⁸.

Etylobenzen $C_6H_5-C_2H_5$ jest jednym ze składników ropy naftowej, obecny w benzynie stosowany, jako rozpuszczalnik farb i lakierów. Wchłaniany do organizmu przez układ oddechowy. Ulega przemianom katalitycznym przez monooksygenazy zależne od cytochromu P-450. Działa narkotycznie oraz drażniąco na błony śluzowe. Długotrwały kontakt z parami

45 Wodolazski A., Rejman-Burzyńska A., Jędrzyk E.: Wykorzystanie biometanu jako paliwa w transporcie samochodowym efektywnym sposobem ograniczenie emisji zanieczyszczeń powietrza. *Journal of Ekology and Health*, 17, 4: 169-175, 2013.

46 Materiały dotyczące regulacji oraz wymagań w zakresie bilansowania Niemetanowych Lotnych Związków Organicznych. Krajowy Ośrodek Bilansowania i Zarządzania Emisjami, 2012r. <http://krajowabaza.kobize.pl/docs/NMLZO-21-12-2012.pdf>, dostęp z dnia 21.02.2022.

47 Prokopowicz A., Zaciera M., Szczota A., Sobczak A.: Wpływ zastosowania biodiesla oraz jego mieszanek z olejem napędowym na emisję lotnych węglowodorów aromatycznych. *Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine*, 16, 4: 57-63, 2013.

48 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 511-514, Warszawa 2016.

etylobenzenu powoduje ból i łzawienie oczu, pieczenie w gardle, senność. Przy ostrych zatruciach powstaje obrzęk płuc⁴⁹.

Toluen $C_6H_5CH_3$ stosowany jest jako rozpuszczalnik. Narażenie na pary toluenu występuje podczas dystrybucji paliw i emisji spalin z silników spalinowych. Wchłaniany jest do organizmu przez skórę, drogi oddechowe, z przewodu pokarmowego. Przy ostrym zatruciu pierwszymi objawami są: ból i zawroty głowy, podrażnienie oczu, nieskoordynowanie ruchów, mdłości, drgawki. Większe dawki wchłoniętego toluenu powodują blok przedsionkowo-komorowy, niewydolność i migotanie komór serca. Przy długotrwałym zatruciu obserwowane są: niewydolność nerek, neuropatię obwodową, drżenia, zmiany osobowości, zaburzenia funkcji poznawczych i pamięci, ubytki słuchu. Wskaźnikiem narażenia na toluen jest zawartość kwasu hipurowego w moczu a także oznaczenie stężenia par toluenu w powietrzu⁵⁰.

Ksylen $C_6H_4(CH_3)_2$ występuje w postaci izomerów: *orto*-ksylen (1,2-dimetylobenzen), *meta*-ksylen, (1,3-dimetylobenzen), *para*-ksylen (1,4-dimetylobenzen). Występuje w ropie naftowej, łupkach bitumicznych. Stosowany, jako rozpuszczalnik do farb drukarskich, do preparatów ochrony roślin, lakierów i syntezy barwników organicznych. Wchłania się do organizmu drogami oddechowymi i z przewodu pokarmowego, a także przez skórę. Jego przemiany metaboliczne powstają przy współdzialele monoooksygenaz wątrobowych zależnych od cytochromu P-450. Działa narkotycznie na ośrodkowy układ nerwowy i podrażnia błony śluzowe. Objawami ostrego zatrucia ksylenem są: pobudzenie, oszołomienie, zawroty głowy, nudności, pogorszenie pamięci, uszkodzenia nerek, zaburzenia funkcji wątroby. Metabolit ksyleny w postaci kwasu metylohipurowego, oznaczanego w moczu jest biomarkerem narażenia na ksylen⁵¹.

II.6. WIELOPIERŚCIENIOWE WĘGLOWODORY AROMATYCZNE

Węglowodory (HC) powstają podczas niepełnego spalania paliw, a także w wyniku parowania lekkich frakcji benzyny oraz podczas transportu i przeładunku paliw. Stanowią jeden z głównych składników spalin z silników Diesla⁵². Przy narażeniu na wysokie stężenia występuje zapalenie płuc i powikłania naczyniowo – sercowe, mogą być przyczyną chorób nowotworowych⁵³. Węglowodory nienasycone łączą się z hemoglobina we krwi i działają jak narkotyk, natomiast węglowodory aromatyczne rozpuszczają się w tłuszczach i są metabolizowane w wątrobie, działają rakotwórczo, gdyż posiadają zdolność reagowania z DNA i RNA. Stwierdzono, że WWA występują zawsze w mieszaninie, nigdy pojedynczo i są zaliczane do 5 grup chemicznych, pochodnych antracenu, fenantrenu, chryzenu, pirenu, cholantrenu⁵⁴.

49 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 518, Warszawa 2016.

50 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 514-516, Warszawa 2016.

51 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 516-517, Warszawa 2016..

52 He C., Ge Y., Tan J., You K., Han X., Wang J.: Characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons of diesel engine fueled with biodiesel and diesel. Fuel, 89: 2040-2046, 2010.

53 Pośniak M., Makhniashvili I., Kozieł E., Kowalska J.: Spaliny silników Diesla – zagrożenie dla zdrowia pracowników. Bezpieczeństwo Pracy, 9: 11-14, 2001.

54 Zasadowski A., Wysocki A.: Niektóre aspekty toksycznego działania wielopierscieniowych węglowodórów aromatycznych (WWA). Rocznik PZH, 53, 1: 27-35, 2002.

Część zanieczyszczeń mutagennych występuje w środowisku w postaci pyłów lotnych pełniących rolę nośników transportujących WWA a także w postaci cząstek stałych. Wysoka szkodliwość WWA dla ludzi przejawia się w tym, że wiele spośród nich po wchłonięciu drogą oddechową, pokarmową lub przez skórę działa pośrednio, ulegając metabolicznym przekształceniom w organizmie, tworzy pochodne o działaniu mutagennym i kancerogennym. Związki te wykazują zdolność do biokumulacji, co jest związane z procesami enzymatycznego utleniania przez mikrosomalny układ enzymatyczny zwany monooksygenazami w komórkach wątroby. Nawet krótki okres narażenia na co najmniej sześć związków występujących w spalinach tj.: benzo[a]piren, cyklopenta[c,d]piren, benzo[a]antracen, dibenzo[a,c]antracen, dibenzo[a,h]antracen, metylofenantren, powoduje że ulegają one metabolizmowi co przejawiać się może negatywnymi skutkami zdrowotnymi⁵⁵. Pozostałe związki z grupy WWA wykazują kancerogenne i mutagenne działanie po dłuższym czasie narażenia. Emisja z silników spalinowych jest jednym z istotnych źródeł skażenia środowiska naturalnego przez WWA, szczególnie w dużych aglomeracjach miejskich, okręgach przemysłowych czy obszarach o dużej gęstości zaludnienia. WWA ulegają aktywacji metabolicznej, tworząc reaktywne metabolity łączące się z DNA, białkami czy lipidami lub generując wysoce toksyczne, reaktywne formy tlenu. Posiadają zdolność do wiązania się pośrednich metabolitów WWA z DNA, co skutkuje powstawaniem adduktów DNA – WWA o charakterze uszkodzeń promutagennych, które po nieprawidłowym przebiegu procesów naprawczych lub błędnej replikacji ulegają przekształceniu do trwałych zmian o charakterze mutacji, które mają zdolność do inicjacji i progresji procesu nowotworowego⁵⁶.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem zaklasyfikowała benzo[a]piren do czynników o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla ludzi (grupa 1). Ponadto uznano, że istnieją wystarczające dane aby zakwalifikować takie związki, jak: dibenzo[a,h]antracen, benzo[a]antracen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, chryzen, indeno[1,2,3-c,d]piren, do substancji prawdopodobnie lub możliwie kancerogennych (grupa 2A i 2B).

II.7. CZĄSTKI STAŁE

Cząstki stałe (ang. *Particulate Matter*, PM) powstają w wyniku ubogiego lub niecałkowitego, ze względu na brak tlenu, spalania paliw głównie oleju napędowego w silnikach samochodowych, wydostające się z układu wylotowego silnika. Zawierają w swym składzie aktywnie biologiczne składniki toksyczne związki chemiczne tj.: metale ciężkie i WWA, które

55 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.

56 Zasadowski A., Wysocki A.: Niektóre aspekty toksycznego działania wielopierscieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Rocznik PZH, 53, 1: 27-35, 2002.

są emitowane do atmosfery wywołując ostre i przewlekłe skutki dla zdrowia^{57,58,59}. Badania epidemiologiczne wskazują, że narażenie na cząstki stałe prowadzi do stanów zapalnych, chorób układu oddechowego, sercowo-naczyniowego czy zwiększonej zachorowalności na nowotwory^{60,61}. Zanieczyszczenia pyłowe stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi, gdyż oddychać nim trzeba niezależnie od jego, jakości, a potencjalna szkodliwość zdrowotna różnych frakcji pyłu zależy od rozmiarów jego drobin, składu chemicznego, mineralogicznego, budowy fizycznej i stężenia^{62,63}. Spaliny z silników wysokoprężnych stwarzają zagrożenie zdrowotne ze względu na wydzielanie frakcji cząstek ultradrobnych. Cząstki o wymiarach $<0.25\mu\text{m}$ stanowią około 50% wszystkich cząstek emitowanych z silnika zasilanego biopaliwem B20 (20% FAME + 80% ON), i B40 (40% FAME + 60% ON)^{64,65}. Klasyfikacja pyłów uzależniona jest od ich umownych wymiarów i przedstawia się następująco:

- ▶ całkowity pył zawieszony – *ang. Total Suspended Particles (TSP)* pył o średnicy ziaren mniejszej niż $300\mu\text{m}$,
- ▶ pył drobny PM10 – *ang. Particulate Matter (PM10)* – cząstki o średnicy aerodynamicznej mniejszej niż $10\mu\text{m}$. Frakcja ta ma szczególne znaczenie biologiczne, gdyż przez długi czas utrzymuje się w powietrzu, bardzo powoli opada, co warunkuje większe prawdopodobieństwo przedostania się do górnych odcinków układu oddechowego człowieka,
- ▶ pył drobny PM2.5 – *ang. Particulate Matter (PM2.5)* – drobin pyłu o średnicy mniejszej niż $2.5\mu\text{m}$ są niebezpieczne dla zdrowia ludzi (także zwierząt), wnikają one najgłębiej do dróg oddechowych, posiadają rozdrobnienie koloidalne,
- ▶ pył PM1 – *ang. Particulate Matter (PM1)* – frakcja pyłów o średnicy aerodynamicznej mniejszej niż $1\mu\text{m}$, frakcja niewidzialna, identyfikowana w spalinach z silników samochodowych⁶⁶.

-
- 57 Szewczyńska M., Pośniak M., Obrzyńska E., Miranowicz-Dzierżawska K.: Zalecenia do ograniczenia narażenia na drobne frakcje cząstek w spalinach biodiesla. CIOP-PIB, 2013.
- 58 Bahavaraju L., Shannahan J., William A., McCormick R., McGee J., Kodavanti U., Madden M.: Diesel and biodiesel exhaust particle effects on rat alveolar macrophages with *in vitro* exposure. *Chemosphere*, 104: 126-133, 2014.
- 59 Betha R., Pavagadhi S., Sethu S., Hande M.P., Balasubramanian R.: Comparative *in vitro* cytotoxicity assessment of airborne particulate matter emitted from stationary engine fuelled with diesel and waste cooking oil-derived biodiesel. *Atmospheric Environment*, 61: 23-29, 2012.
- 60 Lin Y.C., Lee C.E., Fang T.: Characterization of particle size distribution from diesel engine fueled with palm-biodiesel blends and paraffinic fuel blends. *Atmospheric Environment*, 42, 6:1133-1143, 2008.
- 61 Atadashi I.M., Aroua M.K., Abdul A.: High quality biodiesel and its diesel engine application. A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 7:1999-2008, 2010.
- 62 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.
- 63 Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 64 Szewczyńska M., Pośniak M.: Wielopięścieniowe węglowodory aromatyczne i sucha organiczna pozostałość cząstek drobnych emitowanych ze spalin biodiesla. *Medycyna Pracy*, 63, 6: 659-666, 2012.
- 65 Szewczyńska M., Pośniak M., Obrzyńska E., Miranowicz-Dzierżawska K.: Zalecenia do ograniczenia narażenia na drobne frakcje cząstek w spalinach biodiesla. CIOP-PIB, 2013.
- 66 Chłopek Z., Suchocka K.: Modelowanie emisji i imisji frakcji wymiarowych cząstek stałych związanych z ruchem samochodowym. *Zeszyty Naukowe Instytutu Pojazdów Politechniki Warszawskiej*, 1, 97: 5-20, 2014

Transfer cząsteczek do określonego piętra układu oddechowego człowieka zależy od ich wielkości, a także od ich składu chemicznego i reaktywności. Na mechanizm osadzania się cząsteczek bioaerozolu wpływa sposób oddychania, wielkość wentylacji płuc oraz szybkość przepływu powietrza przez drogi oddechowe^{67,68,69}. Przy oddychaniu nosem duże cząstki (około 10µm) osadzają się głównie w górnych odcinkach układu oddechowego, natomiast mniejsze deponowane są w płucach oraz tchawiczo-oskrzelowej części układu oddechowego. W pęcherzykach płucnych cząsteczki pyłów pozostają przez pewien okres czasu, a związki zaadsorbowane na ich powierzchni ulegają rozpuszczeniu i przenikają do krwi. Trudno rozpuszczalne związki są wchłaniane na drodze fagocytozy, a zanieczyszczenia pochłonięte przez makrofagi wędrują i osadzają się w węzłach chłonnych. Budowa pęcherzyków płucnych sprzyja adsorpcji rozpuszczalnych związków mutagennych. Zanieczyszczenia przenikają przez błonę pęcherzyków płucnych do tkanki śródmiąższowej gdzie zostają sfagocytowane przez makrofagi, doprowadzając do ich aktywacji. Aktywowane makrofagi wydzielają szereg cytokin, które są odpowiedzialne za całą serię cytotoksycznych reakcji związanych z procesem zapalnym i wywołaniem stresu oksydacyjnego^{70,71}. Polega on na reakcjach chemicznych powodujących powstawanie reaktywnych form tlenu uszkadzających cząsteczkę DNA prowadzącą do powstawania komórek nowotworowych. Uszkodzone komórki powinny być wyeliminowane przez układ immunologiczny, aby nie doprowadzić do ich proliferacji⁷². Makrofagi pęcherzyków płucnych obok komórek migawkowych nabłonka oskrzeli, stanowią obronę organizmu przed wnikającymi zanieczyszczeniami. Kluczową rolę makrofagów w oczyszczaniu dróg oddechowych obrazuje fakt częstego zapadania na schorzenia infekcyjne dolnych dróg oddechowych⁷³.

Cząsteczki o zróżnicowanych rozmiarach osadzają się w określonym piętrze układu oddechowego. W rejonie pęcherzyków płucnych osadzają się cząsteczki o rozmiarach poniżej 0.65µm. W oskrzelikach płucnych i końcowych kumulują się cząsteczki o rozmiarach 0.65 – 2.1µm. Do rejonu tchawicy, oskrzeli pierwszorzędowych i drugorzędowych docierają

-
- 67 Szewczyńska M., Pośniak M., Obrzyńska E., Miranowicz-Dzierżawska K.: Zalecenia do ograniczenia narażenia na drobne frakcje cząstek w spalinalach biodiesla. CIOP-PIB, 2013.
- 68 Wlazło A.: Określenie narażenia pracowników bibliotek i archiwów na wybrane szkodliwe czynniki biologiczne z uwzględnieniem wpływu systemów wentylacyjno-klimatyzacyjnych. Rozprawa doktorska. IMPiZŚ, Sosnowiec 2009.
- 69 Chłopek Z.: Badania emisji cząstek stałych PM10, PM2.5 i PM1 w aglomeracji miejskiej. Wydawnictwo ITS, Transport Samochodowy, 03, 2011.
- 70 Kapka L., Zemla B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.: Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. PZH, Przegląd Epidemiologiczny, 63, 3: 437-442, Warszawa 2009.
- 71 Czarny A., Zaczynska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych na produkcję TNF-α przez ludzkie komórki płuc, *in vitro*. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 56: 27-44, Wrocław 2008.
- 72 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.
- 73 Jalava P.I., Salonen R.O., Pennanen A.S., Sillanpää M., Hälinen A.I., Happonen M.S., Hillamo R., Brunekreef B., Katsouyanni K., Sunyer J., Hirvonen M.R.: Heterogeneities in inflammatory and cytotoxic response of RAW264.7 macrophage cell line to urban air coarse, fine and ultrafine particles from six European sampling campaigns. *Inhalation Toxicology*, 19, 3: 213-225, 2007.

cząsteczki z przedziału wielkości 2.1 – 4.7µm. Natomiast rejon gardła i kanały jamy nosowej penetrują cząsteczki o wielkościach 4.7 – 11.0µm. Cząsteczki powyżej 11.0µm praktycznie nie wędrują w głąb układu oddechowego⁷⁴. Ograniczenie emisji cząstek stałych emitowanych przez silniki Diesla nastąpiło wraz z wprowadzeniem bardziej rygorystycznych norm w tym normy EURO 5 dla samochodów osobowych. Wraz z tą regulacją prawną konieczne stało się zastosowanie w tych samochodach filtrów cząstek stałych DPF (ang. *Diesel Particulate Filter*)⁷⁵.

II.8. NANOCZĄSTKI

Nanocząstki, czyli struktury na poziomie molekularnym o rozmiarach od 1nm do 100nm zgodnie z definicją Komisji Europejskiej są wykorzystywane m.in. w medycynie, kosmetologii, biotechnologii, elektronice, rolnictwie. Nanocząstki srebra, ze względu na swoje działanie posiadają właściwości bakteriobójcze. Nanocząstki węglowe (nanorurki) dodawane do benzyn czy oleju napędowego powodują zwiększenie przewodnictwa elektrycznego i wydajność energetyczną, podwyższają lepkość, poprawiają efektywność spalania, posiadają zdolność wyłapywania wolnych rodników, mogą służyć, jako dodatki przeciwstukowe i podnoszące liczbę cetanowa oleju napędowego^{76,77}. Materia w nanoskali może również stanowić zagrożenie dla środowiska czy zdrowia ludzi ze względu na cytotoksyczne lub genotoksyczne właściwości. Ich działanie może prowadzić do generowania RFT, uszkodzenia DNA, indukowania stresu oksydacyjnego, specyficznych dla komórek szlaków zapalnych, martwiczych, czy śmierci^{78,79}. Dodawanie nanocząstek tlenku ceru (o średnicy 5 – 25nm), jako katalizatora obniżającego emisję substancji toksycznych z silników Diesla budzi wątpliwości EPA (ang. *Environmental Protection Agency*), gdyż w wyniku spalania w silnikach do środowiska mogą przedostawać się niebezpieczne dla człowieka nowe rodzaje cząstek⁸⁰. Badania prowadzone na zwierzętach dowodzą szkodliwego działania nanocząstek srebra na układ rozrodczy i hormonalny szczurów⁸¹. Stają się, więc one nie tylko lekiem, ale także jednym z poważniejszych zanieczyszczeń stanowiących zagrożenie dla zdrowia człowieka między innymi ze względu na swoje rozmiary oraz możliwości osadzania się w głębokich piętach układu oddechowego. Zanieczyszczenia o rozmiarach nano stanowią części składowe spalin emitowanych zarówno przez

74 Włazło A.: Określenie narażenia pracowników bibliotek i archiwów na wybrane szkodliwe czynniki biologiczne z uwzględnieniem wpływu systemów wentylacyjno-klimatyzacyjnych. Rozprawa doktorska. IMPiZS, Sosnowiec 2009.

75 Rozporządzenie WE nr 715/2007 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie homologacji typu pojazdów silnikowych w odniesieniu do emisji zanieczyszczeń pochodzących z lekkich pojazdów pasażerskich i użytkowych (Euro 5 i Euro 6) oraz w sprawie dostępu do informacji dotyczących naprawy i utrzymania pojazdów z dnia 20 czerwca 2007.

76 Mazela W., Krasodomski W., Pajda M.: Dyspersje funkcjonalizowanych nanostruktur węglowych w oleju napędowym. *Nafta-Gaz*, 10: 773-778, 2013.

77 Krasodomski M., Krasodomski W., Ziemiański L.: Nanotechnologia a przemysł naftowy. *Nafta-Gaz*, 1: 83-92, 2009.

78 Bartłomiejczyk T., Lankoff A., Kruszewski M., Szumiel I.: Silver nanoparticles – allies or adversaries? *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20, 1: 48-54, 2013.

79 Lankoff A., Brzoska K., Czarnocka J., Kowalska M., Lisowska H., Mruk R., Øvevik J., Wegierek-Ciuk A., Zuberek M., Kruszewski M.: A comparative analysis of in vitro toxicity of diesel exhaust particles from combustion of 1st- and 2nd- generation biodiesel fuels in relations to their physiochemical properties – the Fuel Health project. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 19357-19374, 2017.

80 Krasodomski M., Krasodomski W., Ziemiański L.: Nanotechnologia a przemysł naftowy. *Nafta-Gaz*, 1: 83-92, 2009.

81 Dziendzikowska K., Krawczyńska A., Oczkowski M., Królikowski T., Brzoska K., Lankoff A., Dziendzikowski M., Stępkowski T., Kruszewski M., Gromadzka-Ostrowska J.: Progressive effects of silver nanoparticles of hormonal regulation of reproduction in male rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 313: 35-46, 2016.

silniki benzynowe, silniki wysokoprężne zasilane paliwami produkowanymi z kopalnych surowców energetycznych jak i biopaliwami. Badania eksperymentalne prowadzone przez zespół Chuepeng i wsp. dotyczące ilości nanocząstek w zakresie 5nm do 1000nm, ze spalania paliwa ultra czystego diesla (ang. *Ultra-low-sulfur diesel, ULSD*) i biodiesla (B30, 30% FAME + 70% ON) dostarczają informacji o mniejszej całkowitej liczbie cząstek (z zakresu wielkości 40 – 200nm) w gazach spalinowych silnika zasilanego B30 z dodatkową recyrkulacją spalin w porównaniu do ULSD. W przypadku braku recyrkulacji spalin badacze zaobserwowali większą liczbę cząstek dla biopaliwa B30, w porównaniu do ultra czystego diesla⁸². Coraz częściej stosowane jest stwierdzenie, że nanocząstki emitowane z paliw (diesla, biodiesla) wykazują różne działanie cytotoksyczne na komórki organizmów żywych, co potwierdzają badania prowadzone na komórkach linii HaCaT oraz A549⁸³.

III. Potencjał genotoksyczny związków występujących w oleju napędowym i biopaliwach

Substancje o udowodnionym działaniu rakotwórczym, mutagennym, kancerogennym można zaliczyć do kilku grup chemicznych są to: związki nieorganiczne np.: sole chromu, arsenu, niklu; związki organiczne np.: WWA, chlorek winylu; substancje złożone np.: oleje mineralne, sadza, smoła; substancje naturalne np.: mitomycyna C, aflatoksyny. Aktywność biologiczna tych związków ujawnia się poprzez działanie cytotoksyczne, hepatoksyczne, immunosupresyjne. Jednymi z bardziej zbadanych i poznanych mutagenów i kancerogenów są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne^{84,85,86,87,88}. Stwierdzono, że warunkiem ujawnienia się rakotwórczości WWA jest obecność w ich strukturze układu pierścieni aromatycznych odpowiadających cząsteczce fenantrenu. Zarówno jednopierścieniowe i dwupierścieniowe węglowodory aromatyczne, węglowodory alifatyczne, cykloalkany, jak i związki organiczne zawierające w cząsteczce atomy tlenu, azotu, siarki, chloru oraz metali powodują powstawanie mutacji⁸⁹. Znaczną

82 Chuepeng S., Xu H.M., Tsolakis A., Wyszynski M.L., Harland J.: Nanoparticle number from biodiesel blends combustion in a common rail fuel injection system diesel engine equipped with exhaust gas recirculation. *Combustion Engines*, 3: 28-36, 2009.

83 Malorni L., Guida V., Sirignano M., Genovese G., Petrarca C., Pedata P.: Exposure to sub-10nm particles emitted from a biodiesel – fueled diesel engine: *In vitro* toxicity inflammatory potential. *Toxicology Letters*, 270: 51-61, 2017.

84 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.

85 Zaciera M., Mniszek W., Smolik E.: Kryteria szkodliwości spalin z silników Diesla. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Marty Janosz – Rajczyk: *Mikrozanieczyszczenia w środowisku człowieka*. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, 141-149, Częstochowa 2002.

86 Jadczyk P.: Korelacje między mutagennością pyłu zawieszonego a stężeniami zanieczyszczeń w atmosferze. *Rocznik PZH*, 52, 1: 25-33, Warszawa 2001.

87 Mielżyńska D., Siwińska E., Bubak A.: Genotoksyczność 13 wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych w wybranych systemach *in vitro*. Wydawnictwo IMPiZS, Sosnowiec 1998.

88 Sapota A.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (substancje smołowe rozpuszczalne w cykloheksanie). Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, 2, 32: 179-208, 2002.

89 Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.

aktywnością mutagenną wyróżniają się wśród nich nitrowe i aminowe pochodne WWA oraz dioksyny i furany. Aktywność mutagenną i kancerogenną wykazują także niektóre czynniki fizyczne, np. promienie UV. Rakotwórcze działanie WWA jest zróżnicowane i wzrasta wraz z liczbą pierścieni w cząsteczce^{90,91}. Trzypierścieniowe WWA, tj.: antracen i fenantren, nie są rakotwórcze, natomiast ich metylowe pochodne wykazują właściwości rakotwórcze. Czteropierścieniowe WWA, np.: chryzen jest słabym kancerogenem, natomiast benzo[a]antracen silnym kancerogenem. Najbardziej mutagenne i kancerogenne właściwości posiadają pięciopierścieniowe WWA, a wśród nich: benzo[a]piren i dibenzo[a,h]antracen⁹². Benzo[a]piren jest uznawany jako reprezentant całej grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych⁹³. Jak większość WWA należy do związków działających pośrednio, czyli po zastosowaniu aktywacji metabolicznej charakteryzuje się właściwościami mutagennymi i kancerogennymi.

Spaliny generowane przez silniki Diesla stanowią złożoną mieszaninę szkodliwych gazów i cząstek stałych zawierających substancje rakotwórcze takie jak WWA, benzen, 1,3-butadien, formaldehyd, tlenek etylenu, naftalen, styren, toluen, ksylen, metale, tlenki azotu, siarki i węgla^{94,95}. Skład i ilość emitowanych przez silnik zanieczyszczeń zależy głównie od rodzaju silnika, składu paliwa oraz dodatków uszlachetniających, zawartości frakcji aromatycznej w paliwie, warunków eksploatacji i urządzeń kontroli emisji. Mechanizmy tworzenia się WWA w silnikach oraz ich emisja ze spalinami są słabo poznane i skomplikowane. Przyjmuje się dwa główne źródła tworzenia WWA. Pierwsze to WWA powstające z niespalonej ilości paliwa w cylindrze, drugie to WWA tworzące się w procesie pirosyntezy niewielkich cząstek, w tym wolnych rodników powstających podczas rozkładu termicznego organicznych składników⁹⁶. Narażenie na spaliny emitowane przez silniki Diesla, a tym samym szkodliwe skutki zdrowotne (rak płuc), są odnotowywane, szczególnie w niektórych zawodach między innymi wśród:

- ▶ pracowników sektora transportu (np. pracowników kolei i zawodowych kierowców), a także pracowników warsztatów, którzy są odpowiedzialni za naprawę i przeprowadzanie przeglądów pojazdów,
- ▶ pracowników kontroli ruchu drogowego,
- ▶ pracowników sektora górnictwa podziemnego,

90 Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 10, 2: 68-75, Sosnowiec 2007.

91 Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.

92 Mielżyńska D., Siwińska E., Bubak A.: Genotoksyczność 13 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wybranych systemach *in vitro*. Wydawnictwo IMPiZ, Sosnowiec 1998.

93 Smolik Ewa Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne. http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/10-smolik.pdf.

94 Mazur-Badura X., Krasodomski W.: Analiza profili WWA w cząsteczkach stałych (PM) emitowanych przy zastosowaniu paliw z biokomponentami. *Nafta-Gaz*, 12: 1169-1175, 2010.

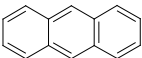
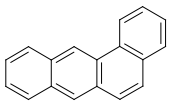
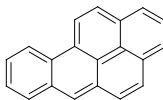
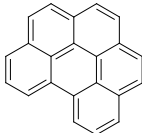
95 Swanson K.J., Madden M.C., Ghio A.J.: Biodiesel exhaust: The need for health effects research. *Environmental Health Perspectives*, 115: 496-499, 2007.

96 Mazur-Badura X., Krasodomski W.: Analiza profili WWA w cząsteczkach stałych (PM) emitowanych przy zastosowaniu paliw z biokomponentami. *Nafta-Gaz*, 12: 1169-1175, 2010.

- ▶ pracowników sektora pozyskiwania drewna,
- ▶ funkcjonariuszy straży pożarnej,
- ▶ operatorzy dźwigów, wózków widłowych i podnośników,
- ▶ pracowników portów i pracowników obsługujących sprzęt ciężki,
- ▶ pracownicy zajezdni autobusowych^{97,98}.

W tabeli 1 przedstawiono wartości działania kancerogennego w stosunku do organizmów ludzkich w odniesieniu do benzo[a]pirenu oraz względny współczynnik kancerogenności związków z grupy WWA.

Tabela 1. Wzory sumaryczne, strukturalne i kancerogenność WWA w biopaliwach^{99,100,101,102,103}.

Nazwa związku	Skrót	Wzór sumaryczny	Wzór strukturalny	Numer CAS*	Kancerogenność**	Współczynnik kancerogenności k***
Antracen	A	C ₁₄ H ₁₀		120-12-7	3	0,01
Benzo[a]antracen	B[a]A	C ₁₈ H ₁₂		56-55-3	2B	0,1
Benzo[a]piren	B[a]P	C ₂₀ H ₁₂		50-32-8	1	1
Benzo[g,h,i]perylen	B[g,h,i]P	C ₂₂ H ₁₂		191-24-2	3	0,01

97 <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/pl/12-sposobow/zanieczyszczenia/665-zanieczyszczenia-ramka>, dostęp z dnia 15.02.2022.

98 Pośniak M., Makhniashvili I., Kozieł E., Kowalska J.: Spaliny silników Diesla – zagrożenie dla zdrowia pracowników. Bezpieczeństwo Pracy, 9: 11-14, 2001.

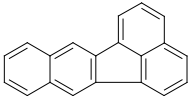
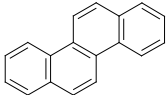
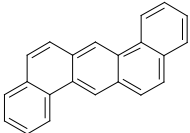
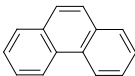
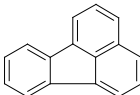
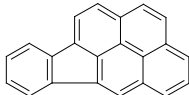
99 Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-117, <https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>

100 Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. Medycyna Środowiskowa, 10, 2: 68-75, Sosnowiec 2007.

101 Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.

102 IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. Volume 105, 2014.

103 Polska Norma PN-Z-04240-5:2006 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo[a]antracenu, chryzenu, benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]peryleny i indeno[1,2,3 c,d]pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, 2006.

Nazwa związku	Skrót	Wzór sumaryczny	Wzór strukturalny	Numer CAS*	Kancerogenność**	Współczynnik kancerogenności k***
Benzo[k]fluoranten	B[k]F	C ₂₀ H ₁₂		207-08-9	2B	0,1
Chryzen	Chr	C ₁₈ H ₁₂		218-01-9	2B	0,01
Dibenzo[a,h]antracen	D[a,h]A	C ₂₂ H ₁₄		53-70-3	2A	5
Fenantren	Fen	C ₁₄ H ₁₀		85-01-8	3	0,001
Fluoranten	Flu	C ₁₆ H ₁₀		86-73-7	3	0,001
Indeno[1,2,3-c,d]piren	I[1,2,3-c,d]P	C ₂₂ H ₁₂		193-39-5	2B	0,1

* oznaczenie numeryczne substancji wg Chemical Abstract Service Registry Number

** według IARC: grupa 1 – rakotwórczy dla ludzi; grupa 2A – prawdopodobny kancerogen; grupa 2B – możliwy kancerogen; grupa 3 – niesklasyfikowany, jako kancerogen dla ludzi¹⁰⁴

*** względne współczynniki kancerogenności dla poszczególnych WWA w stosunku do B[a]P¹⁰⁵,

¹⁰⁴ Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–117, <https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>

¹⁰⁵ Polska Norma PN-Z-04240-5:2006 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo[a]antracenu, chryzenu, benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]peryleny i indeno[1,2,3 c,d]pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, 2006.

IV. Monitoring biologiczny i jego znaczenie w ocenie negatywnych skutków oddziaływania substancji emitowanych ze spalin

W związku z szybkim rozwojem technologicznym i motoryzacyjnym coraz większe zapotrzebowanie na paliwo ekologiczne skłania naukowców do oceny skutków jego oddziaływania na zdrowie i życie ludzi, a także środowisko. Toksyczność emitowanych spalin i zmiana w profilu emitowanych zanieczyszczeń przy użyciu paliw odnawialnych jest niezwykle ważnym zagadnieniem, z uwagi na zanieczyszczenie powietrza, a w konsekwencji wpływu na zdrowie. W ostatnich latach nastąpił alarmujący wzrost zachorowalności na choroby układu krążenia, choroby nowotworowe, choroby układu oddechowego^{106,107,108}. Na przełomie ostatnich 10 lat odnotowuje się coraz więcej przypadków alergii, zarówno u niemowląt, małych dzieci jak i dorosłych. Jest to wynikiem działania substancji toksycznych na organizm^{109,110,111,112}. Wiele związków chemicznych o znacznej koncentracji w otaczającym nas środowisku, może w różnorodny sposób oddziaływać na tkanki, narządy i układy budujące organizm człowieka powodując zwiększoną zachorowalność u osób zamieszkujących duże aglomeracje^{113,114}.

Układ oddechowy stanowi wrota, przez które wnikają do organizmu cząstki respirabilne i substancje lotne. Zanieczyszczenia często przenikają przez błonę pęcherzyków płucnych do tkanki śródmiąższowej gdzie zostają sfagocytowane przez makrofagi, prowadząc do ich aktywacji. Aktywowane makrofagi wydzielają szereg cytokin m.in. indukujących odpowiedź zapalną, reakcje alergiczne oraz pobudzających fibroblasty tkanki śródmiąższowej do wydzielania włókien retikuliny i kolagenu. Makrofagi pęcherzyków płucnych, obok komórek migawkowych nabłonka oskrzeli, stanowią obronę organizmu przed wnikającymi zanieczyszczeniami, a ze względu na zachodzącą fagocytozę cząstek respirabilnych, które następnie są w nich akumulowane i osiągają duże stężenia. Kluczową rolę makrofagów w oczysz-

- 106 Lim S.S., Vos T., Flaxman A.D., et al.: A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Oncology*, 380: 2224-2260, 2012.
- 107 Loomis D., Grosse Y., Lauby-Secretan B., Ghissassi F., Benbrahim-Tallaa L., Guha N., Bean R., Mattock H., Straif K.: The carcinogenicity of outdoor air pollution. *Lancet Oncology* 14:1262-1263, 2013.
- 108 Vermeulen R., Silverman D.T., Garshick E., Vlaanderen J., Portengen L., Steenland K.: Exposure-response estimates for diesel engine exhaust and lung cancer mortality based on data from three occupational cohorts. *Environmental Health Perspectives*, 122: 172-177, 2014.
- 109 Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 10, 2: 68-75, 2007.
- 110 Piekarska K., Zaciera M.: Mutagenność zanieczyszczeń organicznych zaadsorbowanych na cząstkach pyłu frakcji PM10 i PM2,5 pobranego na terenie Wrocławia. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 1: 27-34, 2008.
- 111 Pac A., Jacek R., Sochacka-Tatara E., Spengler J.D., Camman D.E., Perera F.P., Wędrychowski W.: Zanieczyszczenie powietrza pyłem drobnym (PM2,5) oraz Benzo(a)pirenem w Krakowie. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 2: 17-22, 2008.
- 112 Kapka L., Wdowiak L.: Negatywne skutki zdrowotne wywołane przez pyłowe zanieczyszczenia powietrza. *Medycyna Ogólna*, 15, XLIV, 3: 421-429, 2009.
- 113 Kapka L., Zemła B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.: Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. *PZH, Przegląd Epidemiologiczny*, 63, 3: 437-442, 2009.
- 114 Czarny A., Zaczynska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na produkcję TNF- α przez ludzkie komórki płuc, *in vitro*. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 56: 27-44, Wrocław, 2008.

czaniu dróg oddechowych dobrze ilustruje fakt częstszego zapadania na schorzenia infekcyjne dolnych dróg oddechowych u palaczy papierosów, u których przewlekła ekspozycja na dym tytoniowy upośledza funkcje komórek żernych^{115,116}.

W badaniu substancji emitowanych ze spalin silników, wnikaących do organizmu przez układ oddechowy wykorzystywane są linie wyprowadzone z makrofagów oraz komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych. Przydatność linii mysich makrofagów RAW 264.7 do oceny cząstek respirabilnych została potwierdzona w badaniach cytotoksyczności oraz mutagenności *in vitro*^{117,118}. W badaniach toksykologicznych linie komórkowe są stosowane od niedawna porównując z okresem ich stosowania w innych dyscyplinach biomedycznych, ale stanowią cenną metodę alternatywną, pomimo, że istnieją trudności z bezpośrednim odniesieniem wyników do układu *in vivo*. Jeszcze krócej prowadzone są na nich badania potencjału mutagennego substancji. Szybko dzielące się, jak na komórki eukariotyczne, makrofagi mogą stanowić cenne źródło informacji uzupełniające klasyczne testy mutagenności prowadzone na bakteriach. Charakteryzują się one bardzo prostą budową, posiadają pojedynczą okrągłą cząsteczkę DNA, którą łatwo penetrują związki chemiczne. Ulegają częstym podziałom i w ciągu kilku godzin można uzyskać dziesiątki milionów organizmów¹¹⁹.

Szczep bakterii *Salmonella typhimurium* jest stosowany na szeroką skalę do oceny zanieczyszczeń na całym świecie^{120,121,122,123}. Badania fizykochemiczne (regulaminowe) zanieczyszczeń zawartych w biopaliwach z użyciem chromatografii wykazują obecność związków mutagennych, lecz są niewystarczające do oceny stopnia genotoksyczności i cytotoksyczności¹²⁴. Dlatego bardzo ważną rolę odgrywają badania biologiczne prowadzone *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórek, bakterii lub innych organizmów doświadczalnych. W obu przypadkach obserwuje się zmiany w materiale genetycznym ekspozowanych komórek, które są podstawą do prognozowania mutagennego lub cytotoksycznego działania próby. Badania

115 Hodgson E., [ed], A Textbook of Modern Toxicology, Third Edition Copyright, 2004, John Wiley & Sons, Inc. .

116 Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications, Phillip L. Williams, Robert C. James, and Stephen M. Roberts [ed.], Second Edition. John Wiley & Sons, Inc.

117 Poma A, Limongi T, Pisani C, Granato V, Picozzi P: Genotoxicity induced by fine urban air particulate matter in the macrophages cell line RAW 264.7. *Toxicology in Vitro*, 20, 6: 1023-1029, 2006

118 Bahavaraju L., Shannahan J., William A., William A., McCormick R., McGee J., Kodavanti U., Madden M.: Diesel and biodiesel exhaust particle effects on rat alveolar macrophages with *in vitro* exposure. *Chemosphere*, 104: 126-133, 2014.

119 Sadowska A., Obidoska G., Rumowska M.: Ekotoksykologia. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43-112, Warszawa, 2000.

120 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.

121 Nikoyan A., De M'eo M., Sari-Minodier I., Chaspoul F., Gallice P., Botta A.: Evaluation of a battery of *Salmonella typhimurium* tester strains for biomonitoring of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons, nitroarenes and aromatic amines. *Mutation Research*, 626: 88-101, 2007.

122 Mertelmans K., Zeiger E.: The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 455: 29-60, 2000.

123 Claxton L.D., Woodall M.: A review of the mutagenicity and rodent carcinogenicity of ambient air. *Mutation Research*, 636: 36-94, 2007.

124 Mendyka B., Radek P., Wargacka A., Czarny A., Zaczynska E., Pawlik M.: Cytotoksyczność i mutagenność preparatów zawierających domieszkę estru metylowego oleju rzepakowego. *Medycyna Środowiskowa* 8, 2: 139-146, 2005.

na bakteriach mogą być również uznane, jako biomarkery ekspozycji na czynniki uszkadzające DNA na poziomie molekularnym w badaniach zanieczyszczeń emitowanych przez silniki zasilane biodieslem.

Wiele związków charakteryzuje się toksycznością genetyczną powodującą różnego rodzaju uszkodzenia materiału genetycznego komórki w postaci mutacji genomowych i chromosomowych, mogą również działać zgodnie z różnorodnymi mechanizmami i mieć wiele komórkowych systemów docelowych¹²⁵. Uszkodzenia w materiale genetycznym mogą prowadzić do różnych zmian patologicznych, między innymi chorób nowotworowych, jak i następstw zdrowotnych u potomstwa. Warunkiem skutecznego eliminowania zagrożeń zdrowotnych wywołanych substancjami mutagennymi i kancerogennymi jest zidentyfikowanie narażenia na tego typu czynniki oraz poszukiwanie wskaźników wczesnych skutków biologicznych. Stwierdzono wyraźną zależność między zdolnością do wywoływania mutacji a potencjałem rakotwórczym danego czynnika^{126,127,128,129}. Nurtujące pytanie: w jaki sposób zminimalizować skutki mutagennego i toksycznego działania substancji oddziaływujących na organizmy żywe? jest wciąż przedmiotem badań naukowych na całym świecie. Warunkiem pomyślności badań naukowców jest skuteczne eliminowanie zagrożeń zdrowotnych wywołanych substancjami mutagennymi i kancerogennymi oraz identyfikowanie narażenia na tego typu czynniki i poszukiwanie wskaźników wczesnych zmian biologicznych. Substancje genotoksyczne i cytotoksyczne są wszechobecne w środowisku, a tym samym stanowią zagrożenie dla populacji ludzkiej, konieczne jest prowadzenie badań i skuteczne wprowadzanie ich do monitoringu biologicznego środowiska, jako standardu.

Pomiar substancji szkodliwych w poszczególnych elementach środowiska ma na celu określenie ilości tych substancji, które dostają się do organizmu. Do tego celu można stosować techniki badań monitoringu biologicznego, przedstawionego, jako¹³⁰:

- monitoring biologiczny – prowadzony systematycznie pomiar stężeń substancji toksycznych lub ich metabolitów w tkankach, wydzielinach lub wydalinach, mający na celu ocenę wielkości narażenia oraz ryzyka dla zdrowia. W monitoringu tym mogą być wykorzystane organizmy wskaźnikowe, jak i zjawiska obserwowane w przyrodzie np.: funkcjonowanie ekosystemów, liczebność zagrożonych gatunków^{131,132},

125 Karpińska-Smulikowska J., Piekarska K.: Obecność zanieczyszczeń genotoksycznych w powietrzu atmosferycznym na terenie miasta Wrocławia. *Medycyna Środowiskowa*, 7, 1: 25-31, Sosnowiec 2004.

126 Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: *Człowiek, środowisko, zagrożenie*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.

127 Ćwiklak K. 2006.: Występowanie WWA w powietrzu wybranych miast Małopolski. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczynskiego. *Ochrona powietrza w teorii i praktyce*, 2: 43-52. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.

128 Brzuzan P., Woźny M., Łuczniński M.K.: Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń, Uniwersytet Warmiński Mazurski, 1-75, Olsztyn 2007.

129 DeMarini D.M.: Genotoxicity biomarkers associated with exposure to traffic and near-road atmospheres: a review. *Mutagenesis*, 28: 485-505, 2013.

130 Jakubowski M.: Monitoring biologiczny narażenia na czynniki toksyczne. *Medycyna Pracy* 55, 1: 13-18, Łódź 2004.

131 Adamiak W., Kołwzan B.: Bioindykatory zanieczyszczeń atmosfery. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: *Człowiek, Środowisko, Zagrożenie*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 147-163, Wrocław 2002.

132 Jakubowski M.: Monitoring biologiczny narażenia na czynniki toksyczne. *Medycyna Pracy* 55, 1: 13-18, Łódź 2004.

- monitoring biologiczny skutków działania – pomiar i ocena wczesnych skutków działania substancji toksycznych, które nie posiadają określonego znaczenia zdrowotnego. Wyniki takich badań mogą stanowić podstawę do określenia wielkości narażenia lub oceny ryzyka wystąpienia skutków zdrowotnych¹³³.

Monitoring biologiczny stosuje się w ocenie narażenia na szkodliwe substancje na poziomie grupy i na poziomie osobniczym. Zastosowanie monitoringu biologicznego do oceny narażenia środowiskowego na czynniki chemiczne zwraca uwagę na wykorzystanie biomarkerów do tej oceny. W związku z tym, możemy wyróżnić¹³⁴:

- biomarkery ekspozycji (narażenia) – substancje chemiczne, ich metabolity oraz produkty wiązania substancji wewnątrz organizmu np. z hemoglobina lub DNA, które można podzielić na biomarkery dawki wewnętrznej biomarkery dawki biologicznie skutecznej¹³⁵,
- biomarkery skutków (efektu) – wykrywane zmiany biochemiczne, fizjologiczne lub behawioralne w ustroju, związane z możliwością wystąpienia zaburzeń stanu zdrowia. Przykładem biomarkerów wczesnych skutków biologicznych są: zmiany cytogenetyczne (aberracje chromosomowe, wymiany chromatyd siostrzanych, mikrojądra), uszkodzenia łańcucha DNA (pęknięcia jedno- lub dwuniciowe), mutacje punktowe, markery nowotworowe¹³⁶,
- biomarkery wrażliwości – wskaźniki organizmu nabyte lub wrodzone zdolne do odpowiedzi na określony czynnik szkodliwy. Mogą to być przebyte choroby, czynniki genetyczne czy fizjologiczne¹³⁷.

Do badań wpływu czynników środowiskowych, jakie stanowią zanieczyszczenia emitowane przez silniki pojazdów mechanicznych zasilanych różnymi mieszankami paliw z dodatkiem biokomponentów, jako biomarker narażenia można zastosować bakteryjny test Ames.

V. Testy biologiczne stosowane w badaniach negatywnego oddziaływania ksenobiotyków

Badania fizykochemiczne biopaliw z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej wykazują obecność związków mutagennych, lecz są niewystarczające do oceny ich genotoksyczności i cytotoksyczności. Dlatego bardzo ważną rolę odgrywają badania biologiczne prowadzone *in vivo* – badając organizmy narażone na różnego rodzaju zanieczyszczenia lub *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórek, bakterii lub innych organizmów doświadczal-

133 Mielżyńska D.: Narażenie na substancje o działaniu kancerogennym – biomarkery narażenia. http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/09_mielzynska.pdf.

134 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 717-721, Warszawa 2016.

135 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 718-719, Warszawa 2016.

136 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 720-721, Warszawa 2016.

137 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 721, Warszawa 2016.

nych^{138,139,140}. W obu przypadkach obserwuje się zmiany w materiale genetycznym ekspozowanych komórek, które są podstawą do prognozowania mutagennego lub cytotoksycznego działania próbki na komórki ludzkie. Badania biologiczne można prowadzić z wykorzystaniem testów krótkoterminowych, gdzie wyniki otrzymujemy w krótkim czasie (kilka dni) od ich rozpoczęcia, testów długoterminowych, w których odpowiedź uzyskujemy po długim okresie oczekiwania (kilka lat) lub/i badań epidemiologicznych przez obserwację odpowiednio licznej populacji narażonej na czynniki środowiskowe będące przyczyną chorób^{141,142}.

Testy krótkoterminowe są bardzo pomocne w badaniu próbek różnego pochodzenia w tym również ekstraktów organicznych z wybranych biopaliw i wykorzystaniu uniwersalności DNA, jako materiału genetycznego, pomimo istnienia gatunkowych różnic w metabolizmie ksenobiotyków i procesów fizjologicznych¹⁴³. Niebezpieczne związki mutagenne posiadają zdolność do wiązania się z DNA komórki, mogą uszkadzać strukturę materiału genetycznego powodując powstawanie mutacji genomowych, chromosomowych, genowych czy rozwój nowotworów^{144,145}. Natomiast testy długoterminowe prowadzone na zwierzętach (myszy, szczury), określają zdolność do wywołania nowotworów przez testowany związek w okresie życia zwierzęcia w laboratorium. Stosowane głównie przy wprowadzaniu na rynek nowego preparatu np. leku, kosmetyków, proszku do prania, środka ochrony roślin. Testy te są czasochłonne i kosztowne, budzą kontrowersje komisji bioetycznej i dlatego coraz częściej naukowcy sięgają do testów krótkoterminowych, lecz nie zastąpią one w pełni testów prowadzonych na zwierzętach. Aby uzyskać wiarygodne wyniki najlepsze rozwiązanie to przeprowadzenie doświadczeń wielotestowych określających mutagenne czy cytotoksyczne działanie szkodliwego związku¹⁴⁶. Zgodnie z wytycznymi OECD (ang. *Organization for Economic Cooperation and Development*) polecany jest zestaw pięciu testów, wśród których najbardziej popularny jest test Ames (test *Salmonella*)¹⁴⁷.

- 138 Piekarska K.: Mutagenic effect of main groups of organic pollutants adsorbed on suspended particulate matter (PM10 and PM2.5) collected within Wrocław urban area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 23-35, 2009.
- 139 Lankoff A., Brzoska K., Czaenocka J., Kowalska M., Lisowska H., Mruk R., Øvrevik J., Węgierek-Ciuk A., Zubersek M., Kruszewski M.: A comparative analysis of *in vitro* toxicity of diesel exhaust particles from combustion of 1st- and 2nd- generation biodiesel fuels in relations to their physicochemical properties - the Fuel Health project. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 19357-19374, 2017.
- 140 Bünger J., Krahel J., Baum K., Schröder O., Müller M., Westphal G., Ruhnau P., Schulz T.G., Hallier E.: Cytotoxic and mutagenic effects particle size and concentration analysis of diesel engine emissions using biodiesel and petrol diesel as fuel. *Archives of Toxicology*, 74, 8: 490-498, 2000.
- 141 Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.
- 142 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 143 Kapka L., Pawlas N., Olewińska E., Kozłowska A., Górny R.L.: Analiza właściwości cytotoksycznych pyłów zawieszonych pobranych w wybranych miejscowościach województwa śląskiego badanych z wykorzystaniem linii makrofagów mysich RAW264.7. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 1: 19-26, Sosnowiec 2008.
- 144 Sadowska A., Obidowska G., Rumowska M.: Ekotoksykologia. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43-112, Warszawa, 2000.
- 145 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 146 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 147 OECD Guideline for testing of chemical. Bacterial Reverse Mutation Test. No 471.

V.1. DETEKCJA POTENCJAŁU MUTAGENNEGO

Wśród testów biologicznych stosownych do określania mutagennego działania różnego rodzaju czynników zaliczamy: Test SOS Chromotest, Test UMU, Mutatox, test drożdżowy oraz test Amesa. Każdy z tych testów wykazuje inną czułość w stosunku do badanych próbek^{148,149}.

Test SOS Chromotest opiera się na wykorzystaniu genetycznie zmodyfikowanego szczepu *Escherichia Coli* K12PQ37, który posiada dwa geny: gen operatorowy systemu SOS *sfi A* oraz gen kodujący β -galaktozydazę (*lacZ*). System zwany SOS prowadzi do procesu naprawy DNA w przypadku zaburzeń replikacji bakteryjnego DNA pod wpływem działania związku genotoksycznego. Podczas ekspresji genów biorących udział w naprawie SOS następuje ekspresja genu *lacZ* i synteza β -galaktozydazy. Test ten daje bardzo dobre wyniki przy zastosowaniu frakcji S9, jako aktywacji metabolicznej, podobnie jak ma to miejsce w teście Amesa^{150,151,152}. Jest on prostym, szybkim, tanim testem, dającym w ciągu kilku godzin wynik jednoznaczny i całkowicie obiektywny. Wyniki uzyskane w teście SOS Chromotest wykazują dużą zgodność z wynikami w teście Amesa, dlatego po dokładnym zoptymalizowaniu danych uzyskanych przez badaczy może mieć szerokie zastosowanie w badaniach genotoksyczności.

Test UMU wykorzystuje bakterie *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK10002 jako organizm testowy. Zawiera zwielokrotniony plazmid pSK10002 z fuzją genów *umuC*, *umuD*, *lacZ*, mutację *uvrB* oraz mutację *rfa*. Test ten opiera się na indukcji *umuC*, który w powiązaniu z genem *umuD* a także represorem operonów SOS (*lexA*) i aktywatorem operonów SOS (*recA*) bierze udział w odpowiedzi SOS. Jest testem stosowanym od niedawna, lecz wyniki uzyskane przez naukowców potwierdzają skuteczność tego testu w wykrywaniu mutagenów zawartych w testowanych próbkach, charakteryzuje się dużą czułością^{153,154,155,156}. Test ten cały

- 148 Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 10, 2: 68-75, Sosnowiec 2007.
- 149 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.
- 150 Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.
- 151 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 152 Bonisławska A., Semkowicz-Dobrzański K., Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J.: Ocena przydatności krótkoterminowych testów bakteryjnych SOS Chromotest oraz UMU Test w badaniach genotoksyczności związków chemicznych oraz prób środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 37-44, Wrocław 2008.
- 153 Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.
- 154 Bubak A.: Biomonitoring mutagenności powietrza atmosferycznego i wody. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materiały_szkoleniowe/Szkol12/18.
- 155 Kołwzan B., Adamiak W., Czarny A., Jadczyk P., Karpińska-Sulimowska J., Kucharczyk J., Moskal J., Pawlik M., Piekarska K., Traczewska T.: Zastosowanie testów bioindykacyjnych do oceny, jakości powietrza. Raport z działalności Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska, materiały niepublikowane udostępnione przez Politechnikę Wrocławską.
- 156 Sadowska A., Obidoska G., Rumowska M.: *Ekotoksykologia*. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43-112, Warszawa, 2000.

czas jest udoskonalany i obecnie prowadzony jest przez laboratoria naukowe w wersji mikropłytkowej¹⁵⁷.

Test Mutatox działa przy zastosowaniu *Vibrio fischeri* – morskich bakterii luminescencyjnych jako organizmów testowych, które w wyniku mutacji zostały pozbawione możliwości emisji światła. Poddane działaniu ksenobiotyku powoduje mutację powrotną, co pozwala na przywrócenie zdolności do emisji światła¹⁵⁸. Wykorzystywany głównie do oceny właściwości mutagennych wód i ścieków.

Wykorzystanie organizmów eukariotycznych w teście drożdżowym pozwala na ocenę genotoksyczności substancji. W teście tym wykorzystuje się szczepy *Saccharomyces cerevisiae* XV185-14C oraz D7 i *Schizosaccharmyces pombe* cechujące się genetycznymi uszkodzeniami w postaci braku zdolności wykrywania niektórych aminokwasów. Jeżeli badane szczepy zostaną poddane działaniu mutagenów, następuje naprawa wad genetycznych i daje pozytywny wynik testu^{159,160}.

Standardowo do oceny efektu mutagennego różnych związków i/lub mieszanin stosowany jest test *Salmonella*, opracowany w latach siedemdziesiątych XX wieku przez amerykańskiego profesora Bruca Ames^{161,162,163,164,165,166,167,168,169}. Krótkoterminowy test umożliwia wykrywanie potencjalnych mutagenów i kancerogenów przy użyciu prostych organizmów. Dużą zaletą tego testu jest przeprowadzenie doświadczeń w krótkim czasie i szybkie oszacowanie

- 157 Bonisławska A., Semkowicz-Dobrzański K., Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J.: Ocena przydatności krótkoterminowych testów bakteryjnych SOS Chromotest oraz UMU Test w badaniach genotoksyczności związków chemicznych oraz prób środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 37-44, Wrocław 2008.
- 158 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 159 Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.
- 160 Bubak A. Biomonitoring mutagenności powietrza atmosferycznego i wody. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materiały_szkoleniowe/Szkol12/18.
- 161 Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. Medycyna Środowiskowa, 10, 2: 68-75, Sosnowiec 2007.
- 162 Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.
- 163 Mielżyńska D., Siwińska., Kapka L.: Efekt mutageny pyłów zawieszonych jako wskaźnik jakości powietrza. Wydawnictwo IMPiZŚ, Sosnowiec 2002.
- 164 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: Ekotoksykologia w ochronie środowiska. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.
- 165 Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
- 166 Mertelmans K., Zeiger E.: The Ames Salmonella/microsome mutagenicity test. Mutation Research, 455: 29-60, 2000.
- 167 Claxton L.D., Matthews P.P., Warren S.H.: The genotoxicity of ambient outdoor air, a review: Salmonella mutagenicity. Mutation Research, 567: 347-399, 2004.
- 168 Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Sezonal variability in mutagenicity of airborne particulate pollution in Wrocław urban area. Polish Journal of Environmental Studies, 16, 3B: 408-413, 2007.
- 169 Piekarska K., Karpińska – Smulikowska J.: Mutagenic activity of environmental air samples from the area of Wrocław. Polish Journal of Environmental Studies, 16, 5: 757-764, 2007.

wyników^{170,171,172}. Test Amesa służy do określania poziomu mutacji powrotnych z histydynowej aukstotrofi do prototrofi w specjalnie skonstruowanych mutagenach szczepu *Salmonella typhimurium* LT2^{173,174,175}. Komórki bakterii *Salmonella typhimurium* szczepów testowych, oprócz mutacji w różnych genach operonu histydynowego, posiadają dodatkowe mutacje zwiększające ich wrażliwość na czynniki mutagenne, które należy sprawdzić określając przydatność organizmów bakteryjnych do testu¹⁷⁶.

V.2. DETEKCJA POTENCJAŁU CYTOTOKSYCZNEGO

Zgodnie z obowiązującym prawem o ochronie zwierząt i jednoczesnym wspieraniu metod alternatywnych w badaniach, które mogłyby jak najszybciej realizować ideę 3R: *replacement* (zastępowanie) – *reduction* (redukcja) – *refinement* (ulepszenie), konieczne jest wprowadzenie i optymalizowanie hodowli różnego rodzaju linii komórkowych, na których oparta jest znaczna część już istniejących alternatywnych metod *in vitro* do oceny toksyczności, cytotoksyczności substancji chemicznych^{177,178}. Cytotoksyczność to procesy i reakcje biologiczne określające szeroko pojętą toksyczność różnych substancji względem komórek w danym organizmie. Jest to efekt oddziaływania komórek odpornościowych lub ich produktów wobec innych komórek prowadzący do uszkodzenia i śmierci komórki poddanej oddziaływaniu czynnika szkodliwego¹⁷⁹. W badaniach naukowych linie komórkowe stosowane są od niedawna szczególnie do oceny potencjału cytotoksyczności związków zanieczyszczających atmosferę. Szybko dzielące się, jak na komórki eukariotyczne makrofagi, mogą stanowić cenne źródło informacji uzupełniające klasyczne testy mutagenności prowadzone na bakteriach. Dużą zaletą linii komórkowych jest ich stabilność, łatwe prowadzenie hodowli, krótki cykl komórkowy, wysoka powtarzalność wyników. Ważny jest również aspekt etyczny – poznanie mechanizmów uszkodzania komórek przy równoczesnym ograniczeniu badań

170 Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.

171 Sadowska A., Obidowska G., Rumowska M.: Ekotoksykologia. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43-112, Warszawa, 2000.

172 Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 lipca 2003 r. w sprawie metod przeprowadzania badań właściwości fizykochemicznych, toksyczności i ekotoksyczności substancji i preparatów chemicznych (Dz. U. z 2003r., Nr 232, poz. 2343).

173 Maron D.M., Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research, 113: 173-215, 1983.

174 Ames B.N., McCann J., Yamasaki E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonell/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutation Research, 31: 347-364, 1975.

175 Watanabe M., Nohmi T., Ishidate M.Jr.: New tester strains of Salmonella typhimurium highly sensitive to mutagenic nitroarenes. Biochemical and Biophysical Research Communications, 146: 974-979, 1987.

176 Maron D.M., Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research, 113: 173-215, 1983.

177 Kapka L., Pawlas N., Olewińska E., Kozłowska A., Górny R.L.: Analiza właściwości cytotoksycznych pyłów zawieszonych pobranych w wybranych miejscowościach województwa śląskiego badanych z wykorzystaniem linii makrofagów mysich RAW264.7. Medycyna Środowiskowa, 11, 1: 19-26, Sosnowiec 2008.

178 Sevastynova O., Binkova B., Topinka J., Sram R.J., Kalina I., Popov T., Novakova Z., Farmer P.B.: *In vitro* genotoxicity of PAH mixtures and organic extract from urban air Particles Part II: Human cell lines. Mutation Res, 620, 1-2:123-134, 2007.

179 Encyklopedia PWN. www.encyklopedia.pwn.pl, dostęp z dnia 03.03.2022.

na zwierzętach i ludziach *in vivo*. Do badań na liniach komórkowych nie jest wymagana zgoda komisji bioetycznej¹⁸⁰.

Zastosowanie modeli komórkowych w badaniach cytotoksyczności posiada wiele zalet między innymi: szybkość i łatwość badania procesów komórkowych i molekularnych, zastosowanie niewielkich ilości badanych substancji, powtarzalność wyników czy możliwość pracy na komórkach ludzkich. Aktywność metaboliczna komórek jest uzależniona od stanu fizjologicznego, na który mają wpływ czynniki wewnętrzne jak i zewnętrzne. Do ilościowego określenia aktywności cytotoksycznej związków obecnych w ekstraktach organicznych z biodiesla można wykorzystać badania wymagające określenia aktywności metabolicznej i proliferacyjnej komórek eukariotycznych w różnego rodzaju testach komórkowych. Powszechnie stosowanym testem służącym pomiarowi aktywności metabolicznej komórek jest test MTT oparty na zdolności enzymu – dehydrogenazy mitochondrialnej do przekształcania soli tetrazolowej (bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylo-tetrazolowy) do nierozpuszczalnego formazanu, który po raz pierwszy opisany został 1983 roku¹⁸¹, a w 1986 roku wykorzystany jako technika kolorymetrycznego pomiaru aktywności komórek w badaniach biologicznych¹⁸². Test MTT umożliwia pomiar aktywności przemian energetycznych w mitochondriach.

W badaniach substancji wnikaających do organizmu człowieka przez układ oddechowy wykorzystuje się linie wyprowadzone z makrofagów oraz komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych. Badania cytotoksyczności były prowadzone w Polsce głównie na liniach ludzkich komórek raka płuc A549^{183,184}. Linia makrofagów mysich RAW264.7 była również stosowana do oceny cytotoksyczności cząstek respirabilnych, co potwierdzono w badaniach *in vitro*^{185,186,187}.

-
- 180 Sevastynova O., Binkova B., Topinka J., Sram R.J., Kalina I., Popov T., Novakova Z., Farmer P.B.: *In vitro* genotoxicity of PAH mixtures and organic extract from urban air Part II: Human cell lines. *Mutation Res*, 620, 1-2:123-134, 2007.
- 181 Mosmann T.: Rapid colorimetric assay cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods*, 65, 1-2: 55-63, 1983.
- 182 Gerlier D., Thomasset N.: Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *Journal of Immunological Methods*, 94, 1-2: 57-63, 1986.
- 183 Czarny A., Zaczyńska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na produkcję TNF- α przez ludzkie komórki płuc, *in vitro*. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 56: 27-44, Wrocław 2008.
- 184 Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczyńska E.: Mutagenic and cytotoxic properties of extracts of suspended particulate matter collected in Wrocław city area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 37-48, 2009.
- 185 Jalava P.I., Salonen R.O., Pennanen A.S., Sillanpää M., Hälinen A.I., Happonen M.S., Hillamo R., Brunekreef B., Katsouyanni K., Sunyer J., Hirvonen M.R.: Heterogeneities in inflammatory and cytotoxic response of RAW264.7 macrophage cell line to urban air coarse, fine and ultrafine particles from six European sampling campaigns. *Inhalation Toxicology* 19, 3: 213-225, 2007.
- 186 Jalava P.I., Salonen R.O., Pennanen A.S., Happonen M.S., Penttinen P., Hälinen A.I., Sillanpää M., Hillamo R., Hirvonen M.R.: Effects of solubility of urban air fine and coarse particles on cytotoxic and inflammatory responses in RAW264.7 macrophage cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 229, 2: 146 -160, 2008.
- 187 Poma A., Limongi T., Pisani C., Granato V., Picozzi P.: Genotoxicity induced by fine Urban air particulate matter in the macrophages cell line RAW264.7. *Toxicological in Vitro*, 20, 6: 1023-1029, 2006.

V.3. DETEKcja POTENCJAŁU GENOTOKSYCZNEGO

Genotoksyczność to zdolność do wywoływania trwałych zmian w materiale genetycznym, naruszania struktury DNA, jego funkcji lub systemu naprawy przez określone czynniki takie jak: WWA, wolne rodniki, metale ciężkie, promieniowanie UV oraz różne substancje chemiczne, które są zawsze mutagenne^{188,189,190}.

Zastosowanie testów cytogenetycznych do oceny narażenia na substancje o działaniu genotoksycznym umożliwia obserwację wczesnych skutków biologicznych będących wynikiem narażenia. Testy te stosowane są, jako biomarkery ekspozycji na czynniki uszkadzające DNA. Z pośród testów cytogenetycznych najczęściej wykonywane są: test wykrywania aberracji chromosomowych (ang. *Chromosome Aberrations*, CA), test wymiany chromatyd siostrzanych (ang. *Sister Chromatid Exchange*, SCE), test mikrojądrowy (ang. *Micronucleus Test*, MN), test kometowy (ang. *Comet Assay*)^{191,192,193,194,195}.

Test aberracji chromosomowych polega na zidentyfikowaniu złamanych, pękniętych lub przemieszczonych fragmentów chromosomów, które powstają najczęściej pod wpływem czynników bezpośrednio uszkadzających podwójną nić DNA. Zmiany w chromosomach obserwowane są w metafazie mitotycznej. Zależnie od fazy (G1, G2, S), w której znajduje się komórka mutacje w chromosomach mogą występować jako aberracje chromosomowe lub chromatydowe. W teście tym można wykorzystać, jako materiał badawczy limfocyty, fibroblasty, trofoblasty, a także hodowle komórkowe jajnika chomika chińskiego¹⁹⁶. Badanie ma charakter testu przesiewowego wykrywającego potencjalne mutageny i kancerogeny dla ssaków.

W teście wymiany chromatyd siostrzanych działanie substancji genotoksycznych powoduje wymianę pomiędzy chromatydami w jednym chromosomie. Następuje złamanie czterech nici DNA (dwóch podwójnych spirali), przesunięcia nici z jednego do drugiego ramienia tego samego chromosomu oraz zagojenia się złamanego odcinka w nowym miejscu. W badaniach SCE wykorzystywane są właściwości procesu replikacji. Synteza nowych łań-

188 Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K.: Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń, Uniwersytet Warmińsko Mazurski, 1-75, Olsztyn 2007.

189 Kapka L., Olewińska E., Kozłowska A., Kwapiński J.: Wykorzystanie testu kometowego jako wskaźnika środowiskowej i zawodowej ekspozycji na czynniki o działaniu prooksydacyjnym i genotoksycznym Medycyna Środowiskowa 11, 2: 116-123, Sosnowiec 2008.

190 Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 934, 2016,

191 Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.

192 Kołwan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.

193 Piekarska K.: Modyfikacja testu Salmonella do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.

194 Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K.: Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń, Uniwersytet Warmińsko Mazurski, 1-75, Olsztyn 2007.

195 Kapka L., Olewińska E., Kozłowska A., Kwapiński J.: Wykorzystanie testu kometowego jako wskaźnika środowiskowej i zawodowej ekspozycji na czynniki o działaniu prooksydacyjnym i genotoksycznym Medycyna Środowiskowa 11, 2: 116-123, Sosnowiec 2008.

196 Bubak A. Biomonitoring mutagenności powietrza atmosferycznego i wody. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/18.

cuchów DNA odbywa się po zastosowaniu bromodezoksyurydyny (BrdU), co prowadzi do powstania w chromosomach – po dwóch rundach replikacji DNA – chromatyd siostrzanych różniących się budową chemiczną. Po zastosowaniu odpowiedniej metody barwienia uzyskujemy możliwość zaobserwowania wzajemnych wymian jasnych i ciemnych fragmentów w obrębie jednego chromosomu^{197,198}. Wyniki tego testu bezpośrednio odzwierciedlają interakcję związku tworzącego wiązania kowalencyjne z DNA. W teście tym wykorzystywane są ludzkie limfocyty lub komórki z jajnika chomika chińskiego.

Test mikrojądrowy polega na wykrywaniu zmian w strukturach chromosomów. Mikrojądra powstają w zależności od fazy cyklu życiowego komórki i tworzone są przez uszkodzone chromosomy lub chromatydy przez działanie czynnika genotoksycznego¹⁹⁹. Są to chromatynowe struktury wewnątrz cytoplazmy, przypominające małe dodatkowe jądra w komórce. Powstają one na skutek złamań chromosomów i uszkodzeń wrzeczona podziałowego. Formują się z chromosomów opóźnionych i utraconych podczas anafazy podziału mitotycznego komórki bądź z acentrycznych fragmentów chromatynowych. Wówczas mikrojądro stanowi część chromosomu, lecz jest pozbawione centromeru lub, przy złamaniu całych chromosomów w wyniku uszkodzenia wrzeczona kariokinetycznego zawierają centromery^{200,201}. Proces ten prowadzi do wyodrębnienia się jednego lub kilku małych mikrojąder.

Za pomocą testu kometowego oznaczana jest częstość występowania jedno- i dwuniciowych pęknięć DNA oraz uszkodzeń oksydacyjnych za pomocą analizy stopnia fragmentacji DNA, z wykorzystaniem elektroforezy żelowej pojedynczych komórek²⁰². Zasada testu polega na umieszczeniu badanego materiału w cienkim żelu agarozowym na szkiełku mikroskopowym, poddaniu komórek lizie usuwającej białka komórkowe i umożliwiającej rozcięcie nici DNA, a następnie elektroforezie, podczas której następuje migracja poza obręb jądra komórkowego uszkodzonych fragmentów DNA. Następnie badany materiał poddawany jest działaniu barwników fluorescencyjnych i analizie mikroskopowej^{203,204}. Długotrwałe naraże-

197 Bubak A. Biomonitoring mutagenności powietrza atmosferycznego i wody. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materiały_szkoleniowe/Szkol12/18.

198 Mielżyńska D., Siwińska E., Kapka L., Kozłowska A., Porwolik M., Reniszak M., Staroń G.: Badanie poziomu wymian chromatyd siostrzanych (SCE) w limfocytach krwi obwodowej pracowników koksowni. Raport z działalności statutowej Zakładu Toksykologii Genetycznej IMPiZS, Materiały niepublikowane udostępnione przez Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, Sosnowiec 2002.

199 Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.

200 Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.

201 Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K.: Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń, Uniwersytet Warmiński Mazurski, 1-75, Olsztyn 2007.

202 Collins A.R., Oscoz A.A., Brunborg G., Gaiva I., Giovanelli L., Kruszewski M., Smith C.C., Stetina R.: The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, 23: 143-151, 2008.

203 Kapka L., Olewińska E., Kozłowska A., Kwapiński J.: Wykorzystanie testu kometowego jako wskaźnika środowiskowej i zawodowej ekspozycji na czynniki o działaniu prooksydacyjnym i genotoksycznym *Medycyna Środowiskowa* 11, 2: 116-123, Sosnowiec 2008.

204 Czubaszek M., Szostek M., Wójcik E., Andraszek K.: Test kometowy, jako metoda identyfikacji niestabilności chromosomów. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 68:695-700, 2014.

nie na związki mutagenne może prowadzić do licznych uszkodzeń DNA, stanowiących jeden z etapów kancerogenezy. Test ten stosowany jest też do zbadania działania genotoksycznego ekstraktów organicznych z cząstek generowanych przez spalanie paliw diesla, biodiesla^{205,206}. Test kometowy to małoinwazyjna, czuła i szybka technika ilościowej analizy uszkodzeń DNA, stosowana do badań ekspozycji środowiskowej. Cechuje go duża wizualność, wyniki obserwowane są w postaci charakterystycznych komet o różnym stosunku wielkości głowy do ogona. Zależność między zawartością DNA w ogonie komety i jego długością określa stopień uszkodzenia komórki przez czynnik genotoksyczny. Jak wykazały badania test kometowy może być wykorzystany, jako biomarker w monitoringu środowiskowej ekspozycji na czynniki uszkadzające materiał genetyczny²⁰⁷.

VI. PODSUMOWANIE

Zanieczyszczenie powietrza atmosferycznego jest w obecnych czasach poważnym problemem współczesnej cywilizacji. Stanowią one zagrożenie o charakterze lokalnym, regionalnym, kontynentalnym i globalnym. Znaczącym źródłem zanieczyszczeń w powietrzu atmosferycznym są procesy niepełnego spalania związków organicznych, wysokotemperaturowe procesy spalania i przeróbki paliw, a także reakcje chemiczne zachodzące w atmosferze, które odpowiadają za część aktywności genotoksycznej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych^{208,209}. Wskutek ruchów mas powietrza zanieczyszczenia mogą łatwo być przenoszone na duże odległości i podnosić poziom skażenia atmosfery w zupełnie nieoczekiwanych miejscach, z dala od punktów emisji. Zanieczyszczenia powietrza stanowią zagrożenie dla człowieka ze względu na łatwość ich penetracji przez układ oddechowy i możliwości szybkiego wystąpienia działania toksycznego. Niekorzystne zmiany klimatu Ziemi, obawy o przyszłość energetyczną oraz potrzeba ochrony zasobów naturalnych stają się powodem do poszukiwania alternatywnych rozwiązań. Ponadto regulacje i przepisy prawne obligują kraje Unii Europejskiej do zmniejszenia emisji zanieczyszczeń do atmosfery (redukcja emisji gazów cieplarnianych pochodzących z transportu o 60% do 2050 r., w porównaniu z 1990 r.),

205 Øvrevik J., Refsnes M., Låg M., Holme J.A., Schwarze P.E.: Activation of proinflammatory responses in cells of the airway mucosa by particulate matter: oxidant – and non-oxidant-mediated triggering mechanism. *Biomolecules & Therapeutics*, 5: 1399-1440, 2015

206 Araldi R.P., de Melo T.C., Mendes T.B., de Sá Junior P.L., Nozima B.H., Ito E.T., de Carvalho R.F., de Souza E.B., de Sassita Stocco.: Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 72: 74-82, 2015.

207 Kapka L., Olewińska E., Kozłowska A., Kwapiński J.: Wykorzystanie testu kometowego, jako wskaźnika środowiskowej i zawodowej ekspozycji na czynniki o działaniu prooksydacyjnym i genotoksycznym *Medycyna Środowiskowa* 11, 2: 116-123, Sosnowiec 2008.

208 Kapka L., Zemła B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.: Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. *PZH, Przegląd Epidemiologiczny*, 63, 3: 437-442, Warszawa 2009.

209 Bezak-Mazur E.: Elementy toksykologii środowiskowej. Wydawnictwo Politechniki Świętokrzyskiej, 372: 69-80, Kielce 2001.

a w związku z tym zwiększenia udziału biodiesla w ogólnym użyciu^{210,211}. Zgodnie z danymi publikowanymi przez Międzynarodową Agencję Energetyczną (ang. *International Energy Agency*, IEA) szacunkowa liczba samochodów na świecie wzrośnie do około 3 miliardów w 2050 roku, co związane będzie z wielokrotnym zapotrzebowaniem na paliwa w tym w dużej mierze na biopaliwa²¹². Z chemicznego punktu widzenia biopaliwa mają potencjał ograniczenia negatywnego oddziaływania na środowisko, jednak do wykorzystania tego potencjału niezbędne są dalsze badania ich biologicznego oddziaływania na organizmy żywe, w tym na zdrowie ludzi. Niestety, zarówno w Polsce jak i na świecie brakuje monitoringu dotyczącego zapadalności na choroby powodowane przez zanieczyszczenia środowiska czynnikami związanymi ze spalaniem paliw zasilających silniki samochodowe. W związku z powyższym wyodrębnienie chorób spowodowanych przez emisję szkodliwych związków, pyłów ze spalanych przez samochody paliw jest niezwykle trudne i wymaga obserwacji zdrowia dużej populacji ludzi przez dłuższy okres czasu, z uwzględnieniem innych czynników mających wpływ na stan ich zdrowia. Tym samym biopaliwa stanowią wciąż aktualny problem zdrowia publicznego oraz zdrowia środowiskowego.

BIBLIOGRAFIA

1. Adamiak W., Kołwzan B.: Bioindykatory zanieczyszczeń atmosfery. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, Środowisko, Zagrożenie, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 147-163, Wrocław 2002.
2. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-117, <https://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>
3. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31: 347-364, 1975.
4. Atadashi I.M., Aroua M.K., Abdul A.: High quality biodiesel and its diesel engine application. A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 7:1999-2008, 2010.

210 Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/28/WE z dnia 23 kwietnia 2009r. w sprawie promowania stosowania energii ze źródeł odnawialnych zmieniająca i w następstwie uchylająca dyrektywy 2001/77/WE oraz 2003/30/WE.

211 Banaszuk P., Szpica D., Czaban J., Ribbe L., Weresa E.: A framework for biofuel production in the rural areas. *Combustion Engines*, 162, 3: 212-218, 2015.

212 www.iea.org/publications, dostęp z dnia 10.02.2022.

5. Attfield M.D., Schleiff P.L., Lubin J.H., Blair A., Steward P.A., Vermeulen R., Coble J.B., Silverman D.T.: The diesel exhaust in miners study: A cohort mortality study with emphasis on lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 104: 869-883, 2012.
6. Bahavaraju L., Shannahan J., William A., William A., McCormick R., McGee J., Kodavanti U., Madden M.: Diesel and biodiesel exhaust particle effects on rat alveolar macrophages with *in vitro* exposure. *Chemosphere*, 104: 126-133, 2014.
7. Banaszuk P., Szpica D., Czaban J., Ribbe L., Weresa E.: A framework for biofuel production in the rural areas. *Combustion Engines*, 162, 3: 212-218, 2015.
8. Bartłomiejczyk T., Lankoff A., Kruszewski M., Szumiel I.: Silver nanoparticles – allies or adversaries? *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20, 1: 48-54, 2013.
9. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo PWN, 289-290, Warszawa 2006.
10. Betha R., Pavagadhi S., Sethu S., Hande M.P., Balasubramanian R.: Comparative *in vitro* cytotoxicity assessment of airborne particulate matter emitted from stationary engine fuelled with diesel and waste cooking oil-derived biodiesel. *Atmospheric Environment*, 61: 23-29, 2012.
11. Bezak-Mazur E.: *Elementy toksykologii środowiskowej*. Wydawnictwo Politechniki Świętokrzyskiej, 372: 69-80, Kielce 2001.
12. Bonisławska A., Semkowicz-Dobrzański K., Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J.: Ocena przydatności krótkoterminowych testów bakteryjnych SOS Chromotest oraz UTM Test w badaniach genotoksyczności związków chemicznych oraz prób środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 37-44, Wrocław 2008.
13. Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K.: *Toksykologia molekularna, przewodnik do ćwiczeń*, Uniwersytet Warmińsko Mazurski, 1-75, Olsztyn 2007.
14. Bubak A.: Biomonitoring mutagenności powietrza atmosferycznego i wody. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materiały_szkoleniowe/Szkol12/18.
15. Bünger J., Krah J., Baum K., Schröder O., Müller M., Westphal G., Ruhnau P., Schulz T.G., Hallier E.: Cytotoxic and mutagenic effects particle size and concentration analysis of diesel engine emissions using biodiesel and petrol diesel as fuel. *Archives of Toxicology*, 74, 8: 490-498, 2000.
16. Chłopek Z., Jarczewski M., Bardzinski W., Sar H.: Influence of fatty acid methyl esters' additive to diesel engine on ecology, fuel consumption and vehicle's performance. *Journal of KONES Powertrain and Transport*, 13, 1: 261-268, 2006.
17. Chłopek Z., Suchocka K.: Modelowanie emisji i imisji frakcji wymiarowych cząstek stałych związanych z ruchem samochodowym. *Zeszyty Naukowe Instytutu Pojazdów Politechniki Warszawskiej*, 1, 97: 5-20, 2014.
18. Chłopek Z.: *Badania imisji cząstek stałych PM10, PM2.5 i PM1 w aglomeracji miejskiej*. Wydawnictwo ITS, Transport Samochodowy, 03, 2011.
19. Chmieleński M.: *Ekologizacja transportu przez zastosowanie fotowoltaiki do zasilania samochodów elektrycznych*. *Ekonomia i Środowisko*, 2, 53, 2015.

20. Chuepeng S., Xu H.M., Tsolakis A., Wszyński M.L., Harland J.: Nanoparticle number from biodiesel blends combustion in a common rail fuel injection system diesel engine equipped with exhaust gas recirculation. *Combustion Engines*, 3: 28-36, 2009.
21. Claxton L.D., Matthews P.P., Warren S.H.: The genotoxicity of ambient outdoor air, a review: *Salmonella mutagenicity*. *Mutation Research*, 567: 347-399, 2004.
22. Claxton L.D., Woodall M.: A review of the mutagenicity and rodent carcinogenicity of ambient air. *Mutation Research*, 636: 36-94, 2007.
23. Czarny A., Zaczynska E., Janicka A., Szczepaniak W., Walkowiak W.: Wpływ wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na produkcję TNF- α przez ludzkie komórki płuc, *in vitro*. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 56: 27-44, Wrocław, 2008.
24. Ćwiklak K. 2006.: Występowanie WWA w powietrzu wybranych miast Małopolski. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jana Konieczynskiego. *Ochrona powietrza w teorii i praktyce*, 2: 43-52. Wydawnictwo IPIŚ PAN, Zabrze 2006.
25. Dąbrowski W., Bednarski W.: Ekologiczne aspekty produkcji oraz stosowania biodiesla. *Nauki Inżynierskie i Technologiczne*, 3, 10: 18-34, 2013.
26. DeMarini D.M.: Genotoxicity biomarkers associated with exposure to traffic and near-road atmospheres: a review. *Mutagenesis*, 28: 485-505, 2013.
27. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/28/WE z dnia 23 kwietnia 2009r. w sprawie promowania stosowania energii ze źródeł odnawialnych zmieniająca i w następstwie uchylająca dyrektywy 2001/77/WE oraz 2003/30/WE.
28. Dziendzikowska K., Krawczyńska A., Oczkowski M., Królikowski T., Brzóska K., Lankoff A., Dziendzikowski M., Stępkowski T., Kruszewski M., Gromadzka-Ostrowska J.: Progressive effects of silver nanoparticles of hormonal regulation of reproduction in male rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 313: 35-46, 2016.
29. Encyklopedia PWN. www.encyklopedia.pwn.pl, dostęp z dnia 03.03.2017.
30. Filipowicz J., Kwiecień K.: Rozwój napędu elektrycznego pojazdów samochodowych w aspekcie ochrony środowiska. *Logistyka*, 3:567-573, 2012.
31. Gerlier D., Thomasset N.: Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *Journal of Immunological Methods*, 94, 1-2: 57-63, 1986.
32. He C., Ge Y., Tan J., You K., Han X., Wang J.: Characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons of diesel engine fueled with biodiesel and diesel. *Fuel*, 89: 2040-2046, 2010.
33. Hodgson E., [ed], *A Textbook of Modern Toxicology*, Third Edition Copyright, 2004, John Wiley & Sons, Inc. ISBN 0-471-26508-X.
34. <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/pl/12-sposobow/zanieczyszczenia/665-zanieczyszczenia-ramka>, dostęp z dnia 15.02.2022.
35. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. Volume 105, 2014.

36. Incalza M.A., D'Oria R., Natalicchio A., Perrini S., L'Aviola L., Giorgino F.: Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*, 2017, doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
37. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. IARC, 105, 1: 1-704, 2014.
38. Jadczyk P.: Mutagenność pyłowych zanieczyszczeń powietrza w środowisku miejskim. Rozprawa doktorska. Politechnika Wrocławska, Wrocław 2000.
39. Jakubowski M.: Monitoring biologiczny narażenia na czynniki toksyczne. *Medycyna Pracy* 55, 1: 13-18, Łódź 2004.
40. Jalava P.I., Salonen R.O., Pennanen A.S., Happonen M.S., Penttinen P., Hälinen A.I., Sillanpää M., Hillamo R., Hirvonen M.R.: Effects of solubility of urban air fine and coarse particles on cytotoxic and inflammatory responses in RAW264.7 macrophage cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 229, 2: 146-160, 2008.
41. Jalava P.I., Salonen R.O., Pennanen A.S., Sillanpää M., Hälinen A.I., Happonen M.S., Hillamo R., Brunekreef B., Katsouyanni K., Sunyer J., Hirvonen M.R.: Heterogeneities in inflammatory and cytotoxic responses of RAW264.7 macrophage cell line to urban air coarse, fine and ultrafine particles from six European sampling campaigns. *Inhalation Toxicology* 19, 3: 213-225, 2007.
42. Jarońska D., Biesiada M., Dąbkowska B., Muszyńska-Graca M., Pastuszka J., Pawlas K., Powąska E., Skiba M.: Środowiskowe zagrożenia zdrowia w Polsce – wybrane zagadnienia. Informator dla administracji rządowej i samorządowej. 1-62, IMPiZŚ, Sosnowiec 2001.
43. Kachuri L., Villeneuve P.J., Parent M.E., Johnson K.C., Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group, Harris S.A.: Workplace exposure to diesel and gasoline engine exhausts and the risk of colorectal cancer. *Środowiskowa* 11, 2: 116-123, Sosnowiec 2008.
44. Kapka L., Pawlas N., Olewancer in Canadian men. *Environmental Health*, 15, 4, 2016.
45. Kamiński M., Pospolita W., Cholewiński M., Łagocka A.: Emisja zanieczyszczeń z sektora transportu lotniczego i jej wpływ na zdrowie człowieka. *Kosmos*, 65, 4: 487-493, 2016.
46. Kapka L., Mielżyńska D., Siwińska E.: Ocena sezonowej i przestrzennej zmienności stężeń PM10 oraz wybranych WWA w powietrzu atmosferycznym województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 7, 1: 25-31, Sosnowiec 2004.
47. Kapka L., Olewińska E., Kozłowska A., Kwapiński J.: Wykorzystanie testu kometowego jako wskaźnika środowiskowej i zawodowej ekspozycji na czynniki o działaniu prooksydacyjnym i genotoksycznym. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 1: 19-26, Sosnowiec 2008.
48. Kapka L., Wdowiak L.: Negatywne skutki zdrowotne wywołane przez pyłowe zanieczyszczenia powietrza. *Medycyna Ogólna*, 15, XLIV, 3: 421-429, 2009.

49. Kapka L., Zemła B.F., Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N.: Jakość powietrza atmosferycznego a zapadalność na nowotwory płuc w wybranych miejscowościach i powiatach województwa śląskiego. *PZH, Przegląd Epidemiologiczny*, 63, 3: 437-442, Warszawa 2009.
50. Karpińska-Smulikowska J., Piekarska K.: Obecność zanieczyszczeń genotoksycznych w powietrzu atmosferycznym na terenie miasta Wrocławia. *Medycyna Środowiskowa*, 7, 1: 25-31, Sosnowiec 2004.
51. Kołwzan B., Adamiak W., Czarny A., Jadczyk P., Karpińska-Sulimowska J., Kucharczyk J., Moskal J., Pawlik M., Piekarska K., Traczewska T.: Zastosowanie testów bioindykacyjnych do oceny jakości powietrza. Raport z działalności Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska, materiały niepublikowane udostępnione przez Politechnikę Wrocławską.
52. Kołwzan B., Pawlaczyk-Szpilowa M., Adamiak W.: Bioindykacja zanieczyszczeń mutagennych i rakotwórczych w próbach środowiskowych. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Jerzego Zwoździaka: Człowiek, środowisko, zagrożenie. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 165-181, Wrocław 2002.
53. Kozłowska A., Kapka L., Jasiński R.: Analiza efektu mutagennego przechowywanych ekstraktów pyłowych zanieczyszczeń powietrza w wybranych miastach województwa śląskiego. *Medycyna Środowiskowa*, 10, 2: 68-75, Sosnowiec 2007.
54. Krasodomski M., Krasodomski W., Ziemiański L.: Nanotechnologia a przemysł naftowy. *Nafta-Gaz*, 1: 83-92, 2009.
55. Kruk J., Aboul-Enein H.Y.: Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Carcinogenesis: Implications of Oxidative Stress on the Progression and Development of Several Cancer Types. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17, 11: 904-919, 2017.
56. Kutrzyk A., Filipczyk J.: Określenie poziomu emisji składników spalin dla różnych warunków pracy silnika. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej, Transport*, 64: 167-174, 2008.
57. Lankoff A., Brzoska K., Czarnocka J., Kowalska M., Lisowska H., Mruk R., Øvevik J., Wegierek-Ciuk A., Zuberek M., Kruszewski M.: A comparative analysis of *in vitro* toxicity of diesel exhaust particles from combustion of 1st- and 2nd- generation biodiesel fuels in relations to their physiochemical properties – the Fuel Health project. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 19357-19374, 2017.
58. Leme D.M., Grummt T., Palma de Oliveira D., Sehr A., Renz S., Reinelt S., Ferraz E.R.A., Marchi M.R.R., Machado M.C., Zacalo G.J., Marin-Morales M.A.: Genotoxicity assessment of water soluble fraction of biodiesel and its diesel blends using the Salmonella assay and the *in vitro* Micro-Flow[®] kit (Litron) assay. *Chemosphere*, 86: 512-520, 2012.
59. Lim S.S., Vos T., Flaxman A.D., et al.: A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Oncology*, 13: 2224-2260, 2012.
60. Lin Y.C., Lee C.E., Fang T.: Characterization of particle size distribution from diesel engine fueled with palm-biodiesel blends and paraffinic fuel blends. *Atmospheric Environment*, 42, 6:1133-1143, 2008.
61. Loomis D., Grosse Y., Lauby-Secretan B., Ghissassi F., Benbrahim-Tallaa L., Guha N., Bean R., Mattock H., Straif K.: The carcinogenicity of outdoor air pollution. *Lancet Oncology* 14:1262-1263, 2013.

62. Łomankiewicz D., Brodzik K., Bielaczyc P.: GC-MS/FID analysis of aldehyde hydrocarbon emission from exhaust gases of a spark ignition engine fueled with different ethanol – gasoline blends. *Combustion Engines*, 2: 30-38, 2012.
63. Madden M.C.: A paler shade green? The toxicology of biodiesel emissions: Recent findings from studies with this alternative fuel. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1860: 2856-2862, 2016.
64. Makarevicine V, Janulis P.: Environmental effect rapeseed oil ethyl ester. *Renewable Energy*, 28: 2395-2403, 2003.
65. Malorni L., Guida V., Sirignano M., Genovese G., Petrarca C., Pedata P.: Exposure to sub-10nm particles emitted from a biodiesel – fueled diesel engine: *In vitro* toxicity inflammatory potential. *Toxicology Letters*, 270: 51-61, 2017.
66. Maron D.M., Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173-215, 1983.
67. Materiały dotyczące regulacji oraz wymagań w zakresie bilansowania Niemetanowych Lotnych Związków Organicznych. Krajowy Ośrodek Bilansowania i Zarządzania Emisjami, 2012r. <http://krajowabaza.kobize.pl/docs/NMLZO-21-12-2012.pdf>, dostęp z dnia 21.02.2022.
68. Mazela W., Krasodomski W., Pajda M.: Dyspersje funkcjonalizowanych nanostruktur węglowych w oleju napędowym. *Nafta-Gaz*, 10: 773-778, 2013.
69. Mazur-Badura X., Krasodomski W.: Analiza profili WWA w cząsteczkach stałych (PM) emitowanych przy zastosowaniu paliw z biokomponentami. *Nafta-Gaz*, 12: 1169-1175, 2010.
70. Mendyka B., Radek P., Wargacka A., Czarny A., Zaczynska E., Pawlik M.: Cytotoksyczność i mutagenność preparatów zawierających domieszkę estru metylowego oleju rzepakowego. *Medycyna Środowiskowa* 8, 2: 139-146, 2005.
71. Mertelmans K., Zeiger E.: The Ames Salmonella/microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 455: 29-60, 2000.
72. Mielżyńska D., Siwińska E., Bubak A.: Genotoksyczność 13 wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych w wybranych systemach *in vitro*. Wydawnictwo IMPiZŚ, Sosnowiec 1998.
73. Mielżyńska D., Siwińska E., Kapka L., Kozłowska A., Porwolik M., Reniszak M., Staroń G.: Badanie poziomu wymian chromatyd siostrzanych (SCE) w limfocytach krwi obwodowej pracowników koksowni. Raport z działalności statutowej Zakładu Toksykologii Genetycznej IMPiZŚ, Materiały niepublikowane udostępnione przez Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, Sosnowiec 2002.
74. Mielżyńska D., Siwińska, Kapka L.; Efekt mutageny pyłów zawieszonych jako wskaźnik jakości powietrza. Wydawnictwo IMPiZŚ, Sosnowiec 2002.
75. Mielżyńska D.: Narażenie na substancje o działaniu kancerogennym – biomarkery narażenia. http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/09_mielzynska.pdf.
76. Mosmann T.: Rapid colorimetric assay cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods*, 65, 1-2: 55-63, 1983.

77. Mutlu E., Warren S.H., Matthews P.P., King C., Walsh L., Kligerman A.D., Schmid J.E., Janek D., Kooter I.M., Linak W.P., Gilmour M.I., DeMarini D.M.: Health effects of soy-biodiesel emissions: mutagenicity-emission factors. *Inhalation Toxicology*, 27, 11: 585-596, 2015.
78. Nikoyan A., De M'eo M., Sari-Minodier I., Chaspoul F., Gallice P., Botta A.: Evaluation of a battery of *Salmonella typhimurium* tester strains for biomonitoring of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons, nitroarenes and aromatic amines. *Mutation Research*, 626: 88-101, 2007.
79. OECD Guideline for testing of chemical. Bacterial Reverse Mutation Test. No 471.
80. Olsson A.C., Gustavsson P., Kromhout H., Peters S., Vermeulen R., Bröske I., Pesch B., Siemiatycki J., Pintos J., Brüning T., Cassidy A., Wichmann H.E., Consonni D., Landi M.T., Caporaso N., Plato N., Merletti F., Mirabelli D., Richiardi L., Jöckel K.H., Ahrens W., Pohlmann H., Lissowska J., Szeszenia-Dąbrowska N., Zaridze D., Stücker I., Benhamou S., Bencko V., Foretova L., Janout V., Rudnai P., Fabianova E., Dumitru R.S., Gross I.M., Kendzia B., Forastiere F., Bueno-de-Mesquita B., Brennan P., Boffetta P., Straif K.: Exposure to diesel motor exhaust and lung cancer risk in a pooled analysis from case-control studies in Europe and Canada. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 83: 941-948, 2011.
81. Pac A., Jacek R., Sochacka-Tatara E., Spengler J.D., Camman D.E., Perera F.P., Wędrychowski W.: Zanieczyszczenie powietrza pyłem drobnym (PM_{2,5}) oraz Benzo(a)piranem w Krakowie. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 2: 17-22, 2008.
82. Piekarska K., Karpińska – Smulikowska J.: Mutagenic activity of environmental air samples from the area of Wrocław. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 5: 757-764, 2007.
83. Piekarska K., Karpińska-Smulikowska J.: Sezonal variability in mutagenicity of airborne particulate pollution in Wrocław urban area. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 3B: 408-413, 2007.
84. Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Mutagenic and cytotoxic properties of extracts of suspended particulate matter collected in Wrocław city area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 37- 48, 2009.
85. Piekarska K., Zaciera M., Czarny A., Zaczynska E.: Właściwości mutagenne i cytotoksyczne ekstraktów pyłu zawieszonego pobranego na terenie Wrocławia. Cytowane w pracy zbiorowej pod redakcją Barbary Kołwzan i Kazimierza Grabasa: *Ekotoksykologia w ochronie środowiska*. PZITS, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 303-312, Wrocław 2008.
86. Piekarska K., Zaciera M.: Mutagenność zanieczyszczeń organicznych zaadsorbowanych na cząstkach pyłu frakcji PM₁₀ i PM_{2,5} pobranego na terenie Wrocławia. *Medycyna Środowiskowa*, 11, 1: 27-34, 2008.
87. Piekarska K.: Modyfikacja testu *Salmonella* do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Monografia 52: 16-179, Wrocław 2008.
88. Piekarska K.: Mutagenic effect of main groups of organic pollutants adsorbed on suspended particulate matter (PM₁₀ and PM_{2,5}) collected within Wrocław urban area. *Environment Protection Engineering*, 35, 1: 23-35, 2009.
89. Pilarski K.: Charakterystyka oleju rzepakowego jako paliwa do zasilania ciągnikowych silników

- z zapłonem samoczynny. Technika Rolnicza Ogrodnicza i Leśna, 1, 2009.
90. Polanowski K.: Samochód elektryczny a ochrona atmosfery. *Annual Set the Environment Protection*, 18: 628-639, 2016.
 91. Polska Norma PN-Z-04240-5:2006 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo[a]antracenu, chryzenu, benzo[b]fluorantenu, benzo[k]fluorantenu, benzo[a]pirenu, dibenzo[a,h]antracenu, benzo[g,h,i]peryleny i indeno[1,2,3 c,d]pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, 2006.
 92. Poma A, Limongi T, Pisani C, Granato V, Picozzi P.: Genotoxicity induced by fine urban air particulate matter in the macrophages cell line RAW 264.7. *Toxicology in Vitro*, 20, 6: 1023-1029, 2006
 93. Pośniak M., Makhniashvili I., Kozieł E., Kowalska J.: Spaliny silników Diesla – zagrożenie dla zdrowia pracowników. *Bezpieczeństwo Pracy*, 9: 11-14, 2001.
 94. Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications, Phillip L. Williams, Robert C. James, and Stephen M. Roberts [ed.], Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. ISBN 0-471-29321-0 © 2000.
 95. Prokopowicz A., Zaciera M., Szczota A., Sobczak A.: Wpływ zastosowania biodiesla oraz jego mieszanek z olejem napędowym na emisję lotnych węglowodorów aromatycznych. *Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine*, 16, 4: 57-63, 2013.
 96. Rozporządzenie WE nr 715/2007 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie homologacji typu pojazdów silnikowych w odniesieniu do emisji zanieczyszczeń pochodzących z lekkich pojazdów pasażerskich i użytkowych (Euro 5 i Euro 6) oraz w sprawie dostępu do informacji dotyczących naprawy i utrzymania pojazdów z dnia 20 czerwca 2007.
 97. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 28 lipca 2003 r. w sprawie metod przeprowadzania badań właściwości fizykochemicznych, toksyczności i ekotoksyczności substancji i preparatów chemicznych (Dz. U. z 2003r., Nr 232. poz. 2343).
 98. Sadowska A., Obidoska G., Rumowska M.: Ekotoksykologia. Toksyczne czynniki środowiskowe i metody ich wykrywania. Wydawnictwo SGGW, 43-112, Warszawa, 2000.
 99. Sapota A.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (substancje smołowe rozpuszczalne w cykloheksanie). Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, 2, 32: 179-208, 2002.
 100. Schröder O., Bünger J., Munack A., Knothe G., Krahel J.: Exhaust emissions and mutagenic effects of diesel fuel, biodiesel and biodiesel blends. *Fuel*, 103: 414-420, 2013.
 101. Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 720-721, Warszawa 2016, ISBN 978-83-200-4506-2.
 102. Sevastynova O., Binkova B., Topinka J., Sram R.J., Kalina I., Popov T., Novakova Z., Farmer P.B.: *In vitro* genotoxicity of PAH mixtures and organic extract from urban air Particles Part II: Human cell lines. *Mutation Res*, 620, 1-2:123-134, 2007.
 103. Silverman D.T., Samanic C.M., Lubin J.H., Blair A.E., Stewart P.A., Vermeulen R., Coble J.B.,

- Rothman N., Schleiff P.L., Travis W.D., Ziegler R.G., Wacholder S., Attfield M.D.: The diesel exhaust in miners study: a nested case-control study of lung cancer and diesel exhaust. *Journal of the National Cancer Institute*, 104: 855-868, 2012.
104. Siti H.N., Kamisah Y., Kamisah J.: The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular Pharmacology*, 71: 40-56, 2015.
105. Smolik Ewa Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne. http://www.srodowiskoazdrowie.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol12/10-smolik.pdf.
106. Swanson K., Madden M., Ghio A.: Biodiesel exhaust: The need for health effects research. *Environmental Health Perspectives*, 115, 4: 496-499, 2007.
107. Szewczyńska M., Pośniak M., Obrzyńska E., Miranowicz-Dzierżawska K.: Zalecenia do ograniczenia narażenia na drobne frakcje cząstek w spalinach biodiesla. CIOP-PIB, 2013, ISBN 978-83-7373-144-8.
108. Szewczyńska M., Pośniak M.: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i sucha organiczna pozostałość cząstek drobnych emitowanych ze spalin biodiesla. *Medycyna Pracy*, 63, 6: 659-666, 2012.
109. Ustawa z 25 sierpnia 2006 roku o biokomponentach i biopaliwach ciekłych (Dz.U. z 2006r, Nr 169, poz. 1199z póź. zm.), tekst jednolity (Dz.U. z 2013r., poz. 1164), zmieniona Ustawą z 21 marca 2014 roku o zmianie ustawy o biokomponentach i biopaliwach ciekłych oraz niektórych innych ustaw (Dz.U. z 2014r., poz. 457).
110. Vermeulen R., Silverman DT, Garshick E., Vlaanderen J., Portengen L., Steenland K.: Exposure-response estimates for diesel engine exhaust and lung cancer mortality based on data from three occupational cohorts. *Environmental Health Perspectives*, 122: 172-177, 2014.
111. Vieira J.L., Macedo F.Y., Benjo A.M., Guimarães G.V., Contreras J.P., Bocchi E.A.: Systemic effect of controlled exposure to diesel exhaust: a meta-analysis from randomized controlled trials. *Annals of Medicine* 49, 2: 165-175, 2016.
112. Watanabe M., Nohmi T., Ishidate M.Jr.: New tester strains of *Salmonella typhimurium* highly sensitive to mutagenic nitroarenes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 146: 974-979, 1987.
113. Westphal G.A., Krahl J., Munack A., Rosenkranz N., Schröder O., Schaak J., Pabst C., Brüning T., Brünger J.: Combustion of hydrotreated vegetable oil and jatropha methyl ester in a heavy duty engine: emissions and bacterial mutagenicity. *Environmental Science & Technology*, 4, 47, 11: 6038-6064, 2013.
114. Wlazło A.: Określenie narażenia pracowników bibliotek i archiwów na wybrane szkodliwe czynniki biologiczne z uwzględnieniem wpływu systemów wentylacyjno-klimatyzacyjnych. Rozprawa doktorska. IMPiZŚ, Sosnowiec 2009.
115. Wodołażski A., Rejman-Burzyńska A., Jędrzyk E.: Wykorzystanie biometanu jako paliwa w transporcie samochodowym efektywnym sposobem ograniczenie emisji zanieczyszczeń powietrza. *Journal of Ecology and Health*, 17, 4: 169-175, 2013.
116. www.iea.org/publications, dostęp z dnia 10.02.2022.
117. www.polskialarmsmogowy.pl, dostęp z dnia 20.02.2022.
118. Zaciera M., Mniszek W., Smolik E.: Kryteria szkodliwości spalin z silników Diesla. Cytowane

- w pracy zbiorowej pod redakcją Marty Janosz – Rajczyk: Mikrozanieczyszczenia w środowisku człowieka. Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, 141-149, Częstochowa 2002.
119. Zasadowski A., Wysocki A.: Niektóre aspekty toksycznego działania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Rocznik PZH, 53, 1: 27-35, 2002.
120. Gołębiowski P., Jachimowski R., Lewczuk K., Szczepański E., Wasiak M.: Uwarunkowania prawne kształtowania proekologicznego systemu transportowego. Prace Naukowe Politechniki Wrocławskiej, 135-145, 2013.
121. Mertelmans K., Zeiger E.: The Ames Salmonella/microsome mutagenicity test. Mutation Research, 455: 29-60, 2000.

STRESZCZENIE

Niekorzystne zmiany klimatu, obawy o przyszłość energetyczną oraz potrzeba ochrony zasobów naturalnych stają się powodem do poszukiwania alternatywnych rozwiązań, co skutkuje m.in. zwiększeniem udziału biopaliw w ogólnym użyciu. Najbardziej popularnym biopaliwem jest biodiesel, używany do napędzania silników wysokoprężnych. Szkodliwe dla środowiska i zdrowia ludzi spaliny z silników Diesla stanowią mieszaninę niebezpiecznych związków, które ze względu na zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i ich nitrowych pochodnych posiadają właściwości mutagenne i rakotwórcze. Spaliny z silników wysokoprężnych stwarzają również zagrożenie zdrowotne ze względu na wydzielanie frakcji cząstek ultradrobnych. Dlatego też metody monitoringu biologicznego, w tym zwłaszcza testy biologiczne, mogą stanowić potencjalne narzędzie do oceny negatywnych skutków oddziaływania substancji emitowanych ze spalin samochodowych na zdrowie ludzi. Niestety, zarówno w Polsce, jak i na świecie, brakuje rzetelnych danych dotyczących zapadalności na choroby spowodowane przez zanieczyszczenia środowiska generowane podczas spalania biopaliw. Tym samym stanowią one wciąż aktualny problem zdrowia publicznego.

SŁOWA KLUCZOWE: biodiesel, zanieczyszczenia powietrza, skutki zdrowotne, monitoring biologiczny

ABSTRACT

Unfavorable climate changes, concerns about the energy future, and the need to protect natural resources spur the search for alternative solutions, such as increasing the use of biofuels. The most popular biofuel is biodiesel used to power diesel engines. Diesel exhaust gases, which are harmful to the environment and human health due to the content of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitro derivatives, are a mixture of dangerous compounds with mutagenic and carcinogenic properties. Exhaust gases from diesel engines also pose a health risk as they release ultrafine particle fractions. Therefore, biological monitoring methods, including in particular biological tests, may constitute a potential tool for assessing the negative effects of substances emitted from car exhaust fumes on human health. Unfortunately, both in Poland and worldwide, there is a lack of reliable data on the incidence of diseases caused by environmental pollution generated during the combustion of biofuels. Therefore, they remain a current public health problem.

KEYWORDS: biodiesel, air pollution, health effects, biological monitoring