

Bogusław Barański, Jadwiga Palus, Ewa Janik-Spiechowicz

IDENTYFIKACJA GRUP PRACOWNIKÓW NARAŻONYCH
NA CZYNNIKI MUTAGENNE ORAZ ŹRÓDEŁ NARAŻENIA
W ODLEWNIACH Z UŻYCIEM TESTU AMESA *

Z Zakładu Kancerogenezy Zawodowej Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi
Dyrektor: prof. dr hab. med. J. Indulski

Przeprowadzone badania pozwoliły na wykrycie substancji mutagennych w aerozolu występującym na wielu stanowiskach pracy w odlewniach żeliwa i stali, które okazały się bezpośrednimi, jak i pośrednimi mutagenami. Analiza uzyskanych danych wskazuje, że głównymi źródłami emisji substancji mutagennych w odlewniach są piece do produkcji żeliwa i stali, nalewanie żeliwa i stali do form oraz produkcja rdzeni odlewniczych. Głównym źródłem substancji mutagennych wydalanych z moczem pracowników jest palenie papierosów.

1. WSTĘP

Na całym świecie, a zwłaszcza w krajach rozwiniętych gospodarczo statystyki notują stały wzrost umieralności z powodu chorób nowotworowych. Stanowią one po chorobach układu krążenia drugą z kolei przyczynę zgonów.

Nie wiadomo dokładnie, jaki jest udział chorób nowotworowych pochodzenia zawodowego w ogólnej liczbie chorób nowotworowych. Jest on obecnie szacowany na około 2 - 5% [10, 12], ale niektórzy oceniają jego wartość znacznie wyżej na 10 - 40% [6, 13, 34]. Niezależnie od wielkości tego udziału, który zapewne zależy od stopnia uprzemysłowienia kraju i profilu gospodarki, należy uwzględnić, że czynniki zawodowe o działaniu rakotwórczym mogą w znacznym stopniu zwiększać ryzyko chorób nowotworowych poprzez interakcję z innymi czynnikami zależnymi od sposobu życia i zanieczyszczenia środowiska naturalnego.

Wiadomo, że w środowisku pracy oprócz znanych i zidentyfikowanych dotychczas substancji kancerogennych mogą występować również substancje o podobnym działaniu biologicznym, które dotychczas nie zostały rozpoznane. Często występuje narażenie na wiele substancji chemicznych, z których nie wszystkie zostały zidentyfikowane pod względem chemicznym. Taka sytuacja występuje między innymi w odlewniach.

*Opracowanie wykonano w ramach tematu CPBR 11.5.68.3 - program "Zwalczanie Chorób Nowotworowych" - jako materiał szkoleniowy dla pracowników służb nadzoru nad warunkami pracy w przemyśle

Badania epidemiologiczne ujawniły zwiększone ryzyko zachorowań na nowotwory układu oddechowego w odlewniach żeliwa lanego i stali [17, 27, 33]. Według ekspertów Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem w Lyonie narażenie zawodowe pracowników w odlewniach żeliwa i stali związane jest ze wzrostem ryzyka choroby nowotworowej, głównie raka dróg oddechowych [21]. W środowisku pracy odlewni, zwłaszcza w powietrzu stwierdzono występowanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) [31]. Związki te powstają podczas termicznego rozkładu składników mieszaniny formierskiej, zawierających węgiel. Podczas odlewania WWA są syntetyzowane i częściowo odparowywane, przede wszystkim w strefie kontaktu gorącego żeliwa z wewnętrzną powierzchnią formy odlewniczej. Następnie WWA są adsorbowane na cząstkach sadzy, piasku i dymu odlewniczego. Proces pirosyntezy zależy od wielu zmiennych, takich jak skład gazowej atmosfery w obrębie odlewu oraz struktura chemiczna związków zawierających węgiel. Organiczne substancje wiążące masę formierską, sproszkowany węgiel oraz inne, zawierające węgiel dodatki, stosowane w odlewnictwie są głównym źródłem WWA w odlewniach żeliwa i stali [19]. Wstępne badania stężeń WWA okazały się jednak mało pomocne w wyjaśnieniu zwiększonego ryzyka zapadalności na choroby nowotworowe pracowników odlewni [17]. Okazało się również, że aktywność mutagenna aerozolu odlewniczego jest słabo skorelowana ze stężeniem benz[a]pirenu w powietrzu [29, 31]. Jest prawdopodobne, że w środowisku pracy odlewni oprócz WWA mogą znajdować się inne nie rozpoznane dotychczas kancerogeny chemiczne.

Kancerogeny syntetyczne i występujące w naturze są związkami o różnej strukturze chemicznej. Aczkolwiek mechanizm działania kancerogenów chemicznych nie został ostatecznie poznany, zebrano dość dużo dowodów podtrzymujących hipotezę, że molekułą przede wszystkim atakowaną w procesie kancerogenezy jest kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) – nośnik informacji genetycznej.

Ze względu na najbardziej prawdopodobny mechanizm działania chemiczne substancje rakotwórcze dzielone są na kancerogeny epigenetyczne i kancerogeny genotoksyczne. Do kancerogenów genotoksycznych zalicza się substancje, o których wiadomo, że wywołują uszkodzenia DNA komórek, pozostałe zaś substancje rakotwórcze, których mechanizm działania jest inny, niekiedy nie w pełni poznany zaliczane są do czynników epigenetycznych. Fakt, że wiele kancerogenów chemicznych powoduje uszkodzenie DNA komórki, wywierając w ten sposób działanie genotoksyczne, stworzył możliwość wykorzystania technik wykrywających właściwości genotoksyczne substancji chemicznych do identyfikacji potencjalnych kancerogenów. Wśród testów genotoksyczności umożliwiających wykrycie zarówno trwałych, jak i nietrwałych uszkodzeń DNA szczególne miejsce zajmują metody pozwalające na stwierdzenie, czy dany związek chemiczny indukuje mutacje. Mutacja jest to każda dziedziczna, a więc przekazywana komórkom potomnym, zmiana materiału genetycznego. Może ona polegać na chemicznym przekształceniu jednego lub kilku genów (mutacja genowa) lub nieprawidłowym przemieszczeniu części lub całego chromosomu (mutacja chromosomowa). Problem, czy wystąpienie mutacji jest w każdym przypadku wstępnym warunkiem kancerogenezy pozostaje nie rozstrzygnięty. Wiele mutagenów okazało się kancerogenami, ale też o niektórych znanych kancerogenach wiadomo, że nie mają właściwości mutagennych [25].

Jednym z najczęściej stosowanych testów do oceny mutagenności związków chemicznych jest test Ames, w którym wykorzystywane są dobrze określone genetycznie histydynozależne mutanty bakterii *Salmonella typhimurium*. Pod wpływem działania mutagenów chemicznych dochodzi do mutacji w materiale genetycznym komórek tych bakterii, w następstwie czego mogą się one namnażać również na podłożach



pozbawionych histydy. Częstość mutacji spontanicznych, pojawiających się bez udziału czynników zewnętrznych, w różnych szczepach tych bakterii jest dobrze poznana i za mutagen uważa się związek, który powoduje co najmniej dwukrotnie większą niż spontaniczna częstość mutacji. Ze względu na to, że w stosowanych w teście Amesa bakteriach *S. typhimurium* dochodzi do mutacji powrotnej (rewersji mutacji już istniejącej) komórki bakteryjne, w których doszło do tego typu mutacji zwane są rewertantami.

2. OCENA AKTYWNOŚCI MUTAGENNEJ AEROZOLI

Od wielu lat test Amesa stosowany jest nie tylko do oceny właściwości mutagennych substancji chemicznych stosowanych lub nowo wprowadzanych do produkcji, ale również do oceny aktywności genetycznej substancji występujących w powietrzu różnych środowisk pracy, a także powietrzu środowiska komunalnego. Najczęściej do badań pobierane są próby fazy stałej aerozolu występującego na różnych stanowiskach pracy lub wybranych miejscach środowiska komunalnego. Z pobranych próbek pyłu lub/i dymu substancje mutagenne ekstrahowane są rozpuszczalnikami, które następnie są odparowywane. Zatężone w ten sposób ekstrakty dodawane są do podłoża hodowlanego bakterii w celu oceny ich wpływu na liczbę obserwowanych kolonii rewertantów. Dla ułatwienia porównań między różnymi próbami aerozolu wyniki wyrażane są liczbą rewertantów indukowanych przez substancje wyekstrahowane z 1 mg pobranego pyłu (aktywność mutagenna pyłu) lub fazy stałej zawartej w 1 m³ aerozolu (aktywność mutagenna aerozolu). W przeprowadzonych przez nas badaniach próby aerozolu pobierano na filtry z włókien szklanych firmy Whatman typu GF/A o średnicy 9 cm, zasysając przez nie powietrze pompą o dużej wydajności firmy Staplex. Ocena właściwości mutagennych wyekstrahowanych substancji przeprowadzano płytkowym testem Amesa [2, 26]. Jako układ metabolizujący stosowano frakcję S9 (zawiera enzymy mikrosomalne) otrzymaną z wątroby szczurów po indukcji enzymów Aroclorem 1254.

W wielu różnych laboratoriach, zajmujących się badaniem zanieczyszczeń środowiska pracy i życia człowieka, ekstrakcję substancji mutagennych zaadsorbowanych na cząstkach pyłu i dymu pobranych na filtry przeprowadza się dwiema metodami: w aparacie Soxleta lub sonikując filtry zanurzone w rozpuszczalniku ultradźwiękami [28, 31, 38]. Do ekstrakcji substancji mutagennych z filtrów używa się wielu rozpuszczalników organicznych lub ich mieszaniny. Najczęściej używanymi czynnikami ekstrahującymi są: aceton, benzen, cykloheksan, chlorek metylu lub ich mieszaniny w różnych proporcjach objętościowych [8, 28, 30, 31, 38]. Z otrzymanych ekstraktów odparowywany jest rozpuszczalnik, a otrzymana pozostałość rozpuszczana w DMSO (dwumetylosulfotlenku).

W trakcie eksperymentów metodycznych wykazano, że aktywność mutagenna substancji ekstrahowanych acetonem z fazy stałej aerozolu odlewniczego w aparacie Soxleta lub płuczce ultradźwiękowej jest zbliżona, chociaż czas ekstrakcji przy sonifikacji ultradźwiękami był znacznie krótszy (tab. 1). Następnie sprawdzono zależność wydajności ekstrakcji substancji mutagennych z aerozolu odlewniczego od rodzaju stosowanego do ekstrakcji rozpuszczalnika. Ekstrakcję przeprowadzano każdorazowo w płuczce ultradźwiękowej, stosując następujące rodzaje rozpuszczalników: metanol:woda (85:15); benzen:metanol (60:40); aceton; metanol; cykloheksan

i chlorek metylenu. Zależność liczby powrotnych mutacji, indukowanych przez substancje wyekstrahowane z aerozolu od użytego rozpuszczalnika przedstawiono w tabeli 2. Ze względu na dużą efektywność ekstrakowania substancji mutagennych acetonem dalsze badania prowadzono z użyciem tego rozpuszczalnika.

Badania aktywności mutagennej fazy stałej aerozolu występującego w środowisku komunalnym ujawniły obecność substancji genotoksycznych (tab. 3). Aktywność mutagenna aerozolu tego środowiska wahała się od 2 do 6 rew/m³ (TA98, +S9) w pomieszczeniu biurowym IMP, mieszkaniu osób niepalących, na działce rekreacyjnej

T a b e l a 1

Częstość mutacji powrotnych w szczepie *Salmonella typhimurium* TA98 indukowanych substancjami wyekstrahowanymi acetonem w aparacie Soxleta lub płuczkę ultradźwiękowej z aerozolu pobranego na stanowisku zalewania form płynnym żeliwem^a

Sposób ekstrakcji	Masa pyłu, z którego wyekstrahowane substancje nanoszono na płytki (mg)	Średnia liczba kolonii rewertantów po dodaniu substancji wyekstrahowanych z pyłu		Średnia liczba rewertantów indukowanych	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Aparat Soxleta	3,0	39	80	19	52
	1,5	29	49	9	21
	0,5	19	36	0	8
Płuczka ultradźwiękowa	3,0	39	67	19	39
	1,5	35	49	15	21
	0,5	26	32	6	4

^aLiczba kolonii spontanicznych rewertantów bez aktywacji frakcją S9 wynosiła 20, a po aktywacji metabolicznej 28; -S9 bez frakcji S9, +S9 - po zastosowaniu frakcji S9

w pobliżu Łodzi oraz na łódzkiej ulicy o małym ruchu pojazdów; wynosiła 9 - 15 rew/m³ na skrzyżowaniu ulic o dużym ruchu pojazdów i w pomieszczeniu laboratoryjnym Instytutu, osiągając wartość 49 rew/m³ w mieszkaniu osób palących papierosy. Wyniki badań mutagenności substancji ekstrakowanych z fazy stałej aerozolu występującego w powietrzu środowiska komunalnego nie odbiegają w znacznym stopniu od wyników podobnych badań przeprowadzonych przez innych autorów. Według van Houdt i in. [18] aktywność mutagenna aerozolu pobieranego na zewnątrz budynków w mieście Wageningen w Holandii wynosiła 7 rew/m³ (TA98, +S9); w pokoju mieszkalnym, w którym palono poniżej 15 papierosów tygodniowo - 10 rew/m³; w pokoju, w którym palono 15 do 100 papierosów tygodniowo - 17 rew/m³, a w pokoju, w którym palono powyżej 100 papierosów tygodniowo - 90 rew/m³. Aktywność mutagenna aerozolu występującego w powietrzu komunalnym dwóch miast skandynawskich wynosiła: na przedmieściach od <1 do 30 rew/m³, na ulicach śródmiejskich od 2,2 do 55 rew/m³ (TA98, -S9) [1]. Aktywność mutagenna aerozolu komunalnego zależy jest od pory roku i dnia, warunków meteorologicznych, odległości miejsc pobierania aerozolu od źródeł zanieczyszczających środowisko [1, 7]. Głównymi źródłami zanieczyszczenia środowiska komunalnego substancjami genotoksycznymi są gazy spalinowe z pojazdów samochodowych, spaliny z elektrociepłowni miejskich, substancje emitowane z różnych zakładów przemysłowych oraz dym tytoniowy w przypadku pomieszczeń zamkniętych [1, 3, 7, 24]. W świetle powyższych danych (tab. 4) wydaje się, że wysoka aktywność mutagenna aerozolu powietrza pobieranego w pomieszczeniach biurowych odlewni (30 - 68 rew/m³; 19 - 485 rew/mg, TA98 z frakcją S9) związana jest prawdopodobnie z paleniem w tych pomieszczeniach papierosów, gdyż podobną



aktywność mutagenną stwierdzono w aerozolu pobieranym w mieszkaniu osób palących papierosy (49 rew/m³, 397 rew/mg, TA98, +S9). Tym niemniej wyższa aktywność mutagenna aerozolu w pomieszczeniu biura odlewni i kierownika Działu Energetycznego (68 rew/m³ i 53 rew/m³) niż w pomieszczeniach biurowych Działu Technicznego (30 rew/m³) i bhp (33 rew/m³) związana jest być może z tym, że pierwsze z tych pomieszczeń biurowych zlokalizowane są w bezpośrednim sąsiedztwie odlewni. Dotyczy to zwłaszcza biura odlewni, które umieszczone jest tuż obok pieców indukcyjnych do wytapiania żeliwa, a system wentylacji wywiewnej umieszczony na zewnętrznych ścianach tego biura, zasysając pary i gazy uwalniane z pieców kieruje je jednocześnie w stronę tego pomieszczenia biurowego.

T a b e l a 2

Częstość mutacji powrotnych w szczepie *Salmonella typhimurium* TA98 pod wpływem substancji wyekstrahowanych z aerozolu pobranego ze stanowiska zalewania form płynnym żeliwem w zależności od rodzaju użytego do ekstrakcji rozpuszczalnika

Stosowany rozpuszczalnik	Masa pyłu, z której wyekstrahowane substancje nanoszono na płytki (mg)	Średnia liczba mutacji indukowanych na płytkach po dodaniu ekstraktu	
		-S9	+S9
Metanol:woda (85:15) ^a	10	94	328
	5	55	201
	1	29	63
Benzen:metanol (60:40) ^a	10	105	337
	5	96	299
	1	27	70
Aceton ^a	10	118	359
	5	78	228
	1	36	87
Metanol ^a	10	104	228
	5	55	164
	1	32	56
Cykloheksan ^b	10	36	100
	5	44	41
	1	18	16
Chlorek metylenu ^b	10	73	166
	5	49	119
	1	24	45

Liczba spontanicznych mutacji powrotnych wynosiła: a - bez aktywacji frakcją S9 - 21, z frakcją S9 - 40; b - bez aktywacji frakcją S9 - 21, z aktywacją 33

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wydają się wskazywać, że w trakcie procesów odlewniczych, a w zasadzie w czasie zalewania form płynnym żeliwem dochodzi do emisji do środowiska pracy substancji o właściwościach genotoksycznych. Wielkość narażenia na substancje genotoksyczne osób pracujących w odlewniach jest zależna od stanowiska pracy. Aktywność mutagenna substancji zawartych w 1 m³ aerozolu odlewniczego w odlewni pierścieni tłokowych na stanowisku zalewacza form płynnym żeliwem (33 - 40 rew/m³), formierza (37 rew/m³), sterowania piecami indukcyjnymi (31 rew/m³) oraz wytapiacza (25 rew/m³) była znacznie wyższa niż aktywność mutagenna substancji występujących w powietrzu na stanowisku przerabiacza masy formierskiej (4 rew/m³), szlifierza pierścieni (6 rew/m³) i sortowacza pierścieni (4 rew/m³) (tab. 4). Średnie liczby rewertantów TA98 indukowanych przez substancje izolowane z 1 mg pyłu lub/i dymu pobieranego na podobnych sta-

nowiskach produkcyjnych w obu odlewniach są do siebie zbliżone i kształtują się w zależności od odległości od źródeł emisji od 1 rew/mg do 18 rew/mg (tab. 4, 5). Toteż wyższa aktywność mutagenna wyrażona liczbą rewertantów indukowanych przez substancje wyizolowane z 1 m³ aerozolu w odlewni części maszyn niż w odlewni pierścieni tłokowych związana jest z wyższymi stężeniami pyłu w pierwszej z nich (tab. 4, 5). Według danych z piśmiennictwa ilość emitowanych do środowiska substancji, a co za tym idzie stężenie tych substancji, w tym również wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w znacznym stopniu zależy od rodzaju substancji wiążących stosowanych do wyrobu form odlewniczych [19, 29]. Największą

T a b e l a 3

Aktywność mutagenna substancji wyekstrahowanych z aerozolu pobranego w środowisku komunalnym

Miejsce pobrania prób aerozolu	Stężenie pyłu (mg/m ³)	Aktywność mutagenna pyłu ^a (rew/mg)		Aktywność mutagenna aerozolu (rew/m ³)	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Pomieszczenie laboratoryjne IMP	0,147	<u>45</u>	<u>100</u>	7	15
Pomieszczenie biurowe IMP	0,081	<u>28</u>	19	2	2
Mieszkanie osób palących papierosy	0,123	<u>36</u>	<u>397</u>	4	<u>49</u>
Mieszkanie osób niepalących	0,061	<u>47</u>	<u>42</u>	3	3
Skrzyżowanie ulic o dużym ruchu pojazdów	0,163	22	<u>57</u>	4	9
Ulica o małym ruchu pojazdów	0,111	<u>57</u>	<u>54</u>	6	6
Przedmieście Łodzi (działka)	0,108	3	<u>37</u>	0,3	4

a - średnia liczba spontanicznych mutacji powrotnych bez frakcji S9 wynosiła 23 lub 26, a z frakcją S9 - 36

ilość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, prawdopodobnie w znacznej mierze odpowiedzialnych za aktywność mutagenną aerozolu odlewniczego stwierdzono podczas wylewania płynnego żeliwa do form. Do ich sporządzania jako substancji wiążących używano smoły węglowej polistyrenu, smoły z ropy naftowej [19]. Powyższe dane zbliżne są w znacznej mierze z uzyskanymi przez nas wynikami. Największą aktywność mutagenną pyłu ocenioną na podstawie średniej liczby mutacji indukowanych przez substancje wyizolowane z 1 mg pyłu stwierdzono bowiem w odlewni części maszyn na stanowisku zalewacza form precyzyjnych, formierza ręcznego (w pomieszczeniu tym przeprowadza się zalewanie dużych form odlewniczych), suwnicowego i zalewacza form bentonitowych KFA (tab. 5 i 6). Najniższą aktywność mutagenną pyłu (rew/mg) stwierdzono na stanowisku przerabiacza masy formierskiej, jednakże ze względu na to, że na stanowisku tym występowały najwyższe stężenia pyłu - co najmniej dwukrotnie wyższe niż na pozostałych stanowiskach - aktywność mutagenna substancji wyizolowanych z 1 m³ aerozolu jest na tym stanowisku największa. Źródłem substancji mutagennych jest również produkcja rdzeni odlewniczych. Średnia



liczba mutacji indukowanych przez substancje izolowane z 1 mg pyłu pobranego na stanowisku pracy rdzeniarza przy maszynach PS należała do jednej z najwyższych w odlewni (tab. 5 i 6). Prawdopodobnie więc podczas ogrzewania masy rdzeniowej, w której skład wchodzi między innymi żywica fenolowo-mocznikowa tworzą się lub/i są emitowane substancje o dużej aktywności mutagennej.

Wielkość narażenia osób pracujących w odlewni na substancje o właściwościach mutagennych zależy jest także od pory roku. Znaczny spadek aktywności mutagennej na niektórych stanowiskach pracy, takich jak: formierz ręczny, zalewacz form precyzyjnych oraz na stanowiskach rdzeniarzy w okresie wiosennym (tab. 5, 6),

T a b e l a 4

Aktywność mutagenna substancji wyekstrahowanych z aerozolu pobranego na stanowiskach pracy w odlewni

Stanowisko pracy	Stężenie pyłu (mg/m ³)	Aktywność mutagenna pyłu ^a (rew/mg)		Aktywność mutagenna aerozolu (rew/m ³)	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Wytapiacz (wsadowy) przy piecach indukcyjnych	3,19	0,9	8	3	25
Stanowisko sterowania piecami indukcyjnymi	1,92	3	16	5	31
Zalewacz form płynnym żeliwem ^b	2,48	2	13	5	32
Zalewacz form płynnym żeliwem ^c	3,68	3	11	10	40
Przerabiacz masy formierskiej	3,50	0,5	1	2	4
Formierz	2,09	3	17	7	37
Szlifierz pierścieni	2,19	2	3	4	6
Sortowacz pierścieni	3,22	0,03	1	0,1	4
Pomieszczenie biura odlewni	0,76	12	89	9	68
Pomieszczenie kiero- wnika Działu Energetycznego	0,11	22	485	2	53
Pomieszczenie biurowe Działu Technicznego	1,61	0,7	19	1	30
Biuro Działu bhp	0,15	39	221	6	33

a - badania przeprowadzono testem Ames z użyciem bakterii *Salmonella typhimurium* szczepu TA98; średnia liczba spontanicznych mutacji powrotnych bez frakcji S9 wynosiła 23, a z frakcją S9 - 32

b - podczas pobierania żeliwa z pieca indukcyjnego do kadzi

c - podczas wylewania żeliwa z kadzi do form odlewniczych

gdy temperatura na zewnątrz wynosiła około 25°C w porównaniu z okresem zimowym, gdy temperatura na zewnątrz wynosiła -20°C związany był najprawdopodobniej z istotną poprawą wentylacji naturalnej na tych stanowiskach. Potwierdzeniem tej hipotezy jest zmniejszenie stężenia pyłu na tych stanowiskach oraz to, że akty-

wność mutagenna substancji wyekstrahowanych z aerozolu w przeliczeniu na 1 mg masy fazy stałej w okresie zimowym i wiosennym nie różniły się znacząco (tab. 5, 6). W większości doniesień wskazujących obecność substancji indukujących mutacje powrotne w ekstraktach aerozolu odlewniczego nie przedstawiono danych, pozwalających na oszacowanie aktywności mutagennej tego aerozolu w przeliczeniu na 1 m³ lub 1 mg fazy stałej aerozolu [19, 22, 31]. Jedynie Schimberg i in. [29] podają, że w badanej przez nich odlewni aktywność mutagenna aerozolu wahała się w granicach 14 - 655 rew/m³. Badania wykonywano testem Ames, stosując jako organizm wskaźnikowy *Salmonella typhimurium* TA98 w obecności frakcji S9. Z ogólnikowych danych podanych przez tych autorów [29] wynika jednak, że w procesach odlewniczych stowano prawdopodobnie rdzenie wykonane z poliuretanu, a jako substan-

T a b e l a 5

Aktywność mutagenna substancji wyekstrahowanych z aerozolu występującego na stanowiskach pracy w odlewni produkującej części maszyn^a

Stanowisko pracy		Stężenie pyłu (mg/m ³)	Aktywność mutagenna pyłu (rew/mg)		Aktywność mutagenna aerozolu (rew/m ³)	
			-S9	+S9	-S9	+S9
Formierz maszynowy	Z	18,5	2	5	39	89
	W	24,1	0,4	3	10	83
Suwnicowy	Z	3,0	6	9	18	27
	W	13,9	0,9	8	13	107
Rdzeniarz przy maszynach KHBS	Z	13,6	5	6	65	76
	W	7,2	1	4	9	32
Rdzeniarz przy maszynach PS	Z	5,1	9	17	47	85
	W	3,9	5	11	17	41
Zalewacz form bentonitowych	Z	11,6	4	6	45	72
	W	8,8	2	6	13	52
Zalewacz form precyzyjnych	Z	3,5	7	14	25	49
	W	1,0	2	19	2	19
Przerabiacz masy formierskiej	Z	36,8	-0,1	5	-4	169
	W	63,4	-0,6	3	-38	184
Formierz ręczny	Z	3,4	11	15	39	51
	W	0,4	-	13	-	5
Szlifierz	Z	3,6	4	11	13	40
	W	10,7	1	2	10	26

a - Badania prowadzono testem Ames z użyciem bakterii *Salmonella typhimurium* szczepu TA98; średnia liczba spontanicznych rewertantów wahała się w granicach 20 - 24 bez frakcji S9 i 27 - 35 z frakcją S9
Z - próby aerozolu pobierano w okresie zimowym
W - próby aerozolu pobierano w okresie wiosennym

cje wiążącą w masie odlewniczej - żywice będące polimerami furanu, fenolu i formaldehydu. Średnia aktywność mutagenna aerozolu w tej odlewni wynosiła około 150 rew/m³, a więc była zbliżona lub nieco wyższa niż w badanych przez nas odlewniach. Na wielu stanowiskach pracy w odlewniach aktywność mutagenna aerozolu (rew/m³) jest znacznie wyższa niż w pomieszczeniu zanieczyszczonym dymem tytoniowym. Dotyczy to zwłaszcza takich stanowisk, jak: przerabiacz masy formierskiej, suwnicowy, formierz maszynowy, rdzeniarz przy maszynach PS i KHBS, zalewacz form bentonitowych KFA. Biorąc pod uwagę, że bierne narażenie na dym tytoniowy niepalących osób zamieszkujących wspólnie z osobami palącymi może być



przyczyną zwiększenia ryzyka nowotworów złośliwych układu oddechowego u tych niepalących osób [20], należy przyjąć za wysoce prawdopodobne, że u pracowników zatrudnionych na ww. stanowiskach pracy również zwiększa się ryzyko nowotworu układu oddechowego. Hipoteza ta zgodna jest z wynikami badań epidemiologicznych, ujawniającymi zwiększone ryzyko zachorowań na nowotwory układu oddechowego w odlewni żeliwa i stali [17, 27, 33]. Wyniki nasze potwierdzają również opinię ekspertów Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem w Lyonie o tym, że narażenie zawodowe pracowników w odlewach żeliwa i stali na nie zidentyfikowane substancje jest rakotwórcze dla ludzi [21].

T a b e l a 6

Aktywność mutagenna substancji wyekstrahowanych z aerozolu występującego na stanowiskach pracy w odlewni produkującej części maszyn^a

Stanowisko pracy		Stężenie pyłu (mg/m ³)	Aktywność mutagenna pyłu (rew/mg)		Aktywność mutagenna aerozolu (rew/m ³)	
			-S9	+S9	-S9	+S9
Formierz maszynowy	Z	18,5	0,6	9	11	158
	W	24,1	4	11	84	256
Suwnicowy	Z	3,0	12	28	36	86
	W	13,9	11	30	165	422
Rdzeniarz przy maszynach KHBS	Z	13,6	13	15	170	197
	W	7,2	5	11	38	82
Rdzeniarz przy maszynach PS	Z	5,1	16	25	83	127
	W	3,9	4	17	16	64
Zalewacz form bentonitowych	Z	11,6	6	13	74	151
	W	8,8	4	17	31	146
Zalewacz form precyzyjnych	Z	3,5	14	21	47	73
	W	1,0	-	-	-	-
Przerabiacz masy formierskiej	Z	36,8	2	9	70	317
	W	63,4	-0,3	8	-19	501
Formierz ręczny	Z	3,4	32	37	109	127
	W	0,4	-	-	-	-
Szlifierz	Z	3,6	11	16	40	56
	W	10,7	6	8	69	82

a - Badania prowadzono testem Ames z użyciem bakterii *Salmonella typhimurium* szczepu TA100; średnia liczba spontanicznych rewertantów wahała się w granicach 99 - 121 bez frakcji S9 i 104-119 z frakcją S9

Z - próby aerozolu pobierano w okresie zimowym

W - próby aerozolu pobierano w okresie wiosennym

3. OCENA AKTYWNOŚCI MUTAGENNEJ MOCZU PRACOWNIKÓW

Exogenne związki chemiczne wchłaniane do ustroju ludzi i zwierząt wydalone są następnie w postaci nie zmienionej lub częściej jako metabolity z kałem i moczem. Było to podstawą do poszukiwania substancji o właściwościach genotoksycznych w moczu ludzi narażonych zawodowo na różne związki chemiczne [9, 15, 32, 37]. W toku tych badań wykryto niewielką aktywność mutagenną substancji ekstrahowanych z moczu osób niepalących i nie narażonych zawodowo na substancje chemiczne [9]. Aczkolwiek nie prowadzono bezpośrednich porównań między wielkością

aktywności mutagennej aerozolu środowiska pracy a wielkością aktywności mutagennej substancji wyekstrahowanych z moczu, to jednak w wielu przypadkach wykazano, że aktywność mutagenna moczu pracowników w okresie pracy w przemyśle chemicznym lub gumowym jest znacznie wyższa niż u tych samych robotników po kilkudniowej lub dłuższej nieobecności w pracy [9, 14, 15, 35]. Falck i in. [14] wykazali, że aktywność mutagenną moczu palących papierosy pracowników przemysłu gumowego (717 rew/mmol kreatyniny, TA98, +S9) jest wielokrotnie wyższa niż u palących papierosy osób kontrolnych (298 rew/mmol kreatyniny). Aktywność mutagenna moczu osób niepalących była znacznie niższa, tym niemniej u osób narażonych zawodowo na związki chemiczne w przemyśle gumowym wynosiła średnio 150 rew/mmol kreatyniny, podczas gdy u osób nie narażonych 25 rew/mmol kreatyniny [14]. Wyższą aktywność mutagenną niż u osób kontrolnych stwierdzono również u pracowników zakładów farmaceutycznych i chemicznych [9].

Falck [15], prowadząc badania pracowników trzech odlewni fińskich, wykazał stosunkowo wysoką aktywność mutagenną acetonowych ekstraktów ich moczu (TA98, +S9), przy czym ujawnił znaczne różnice w aktywności mutagennej moczu u niepalących pracowników w zależności od odlewni. W pierwszej z tych odlewni aktywność mutagenna moczu pracowników niepalących wynosiła średnio 941 ± 567 rew/mmol kreatyniny, w drugiej - 339 ± 459 rew/mmol, a w trzeciej - 174 ± 159 rew/mmol kreatyniny. W eksperymencie tym nie przeprowadzono badań grupy osób kontrolnych. Z przedstawionych przez Falcka i in. [14] danych wynika, że aktywność mutagenna moczu osób nie narażonych zawodowo i niepalących wynosi około 200 - 300 rew/mmol kreatyniny, przy czym waha się w znacznie szerszych granicach. W innej pracy tego samego autora [16] średnia aktywność mutagenna moczu 12-osobowej grupy niepalących mężczyzn w wieku poborowym w czterech kolejnych okresach badań wynosiła: 158, 87, 92 i 252 rew/mmol kreatyniny. Wyniki tej pracy ilustrują stopień zmienności aktywności mutagennej moczu u osób niepalących i nie narażonych zawodowo na czynniki genotoksyczne. Trudno na podstawie dostępnych danych ustalić, czy różnice w aktywności mutagennej moczu osób niepalących stwierdzone w różnych laboratoriach związane są z różnej wielkości narażeniem środowiskowym na czynniki genotoksyczne, występujące w powietrzu komunalnym, w żywności, w wodzie do picia [4, 36], czy też związane są one z różnicami w metodyce badań. Z tego względu przed rozpoczęciem badań osób zatrudnionych w odlewniach przeprowadzaliśmy eksperymenty metodyczne.

Wiadomo, że substancje genotoksyczne występujące w moczu nie należą na ogół do bezpośrednich mutagenów, a więc w celu ujawnienia ich właściwości mutagennych wymagają uprzedniej aktywacji metabolicznej. Ze względu na to, że wiele substancji organicznych wydalanych jest w postaci glukuronianów, początkowo w badaniach mutagenności substancji zawartych w moczu jako czynnik aktywujący stosowano β -glukuronidazę, która powoduje rozszczepienie wiązania promutagenu z kwasem glukuronowym. Dostępne dane literaturowe [5, 11, 15, 39] dostarczają sprzecznych danych nt. konieczności dodawania preparatu glukuronidazy przy oznaczaniu mutagenności moczu. Znane są bowiem prace kilku autorów [4, 15] wskazujące na to, że zawartość glukuronidazy we frakcji S9 jest wystarczająca do aktywacji metabolicznej i nie jest konieczne dodawanie do mieszaniny inkubacyjnej oczyszczonego preparatu tego enzymu. Decyzję o możliwości stosowania tylko frakcji S9 do aktywacji substancji promutagennych zawartych w moczu podjęto na podstawie wyników doświadczenia, w którym stosowano różne układy metaboliczne. W tym celu w ciągu 24 godz. zbierano mocz od szczurów, którym podano jednorazowo do jamy otrzewnej 2-aminofluoren w dawce 5 mg/kg masy ciała oraz od szczurów nie eksponowanych na

kancerogen. Do ekstrakcji substancji mutagennych użyto po 10 ml zebranego moczu. Mocz ekstrahowano bezpośrednio po jego zebraniu lub po 24 godz. inkubacji w temperaturze 37°C z β -glukuronidazą w ilości 5000 jednostek (0,5 mg) na 10 ml moczu. Ekstrakcję substancji mutagennych z moczu przeprowadzano zgodnie z metodyką podaną przez Yamasaki i Ames [39]. Wyniki przedstawiono w tabeli 7. Substancje ekstrahowane z moczu szczurów kontrolnych nie wywołały dwukrotnego wzrostu liczby kolonii His+ rewertantów szczepu S. typhimurium TA98. Natomiast ekstrakt moczu szczurów, którym podano 2-aminofluoren wywołał 6-krotny wzrost liczby rewertantów w przypadku, gdy jako układ aktywujący stosowano jedynie frakcję S9 oraz 9-krotny

T a b e l a 7

Wpływ rodzaju aktywacji metabolicznej na częstość mutacji powrotnych w szczepie Salmonella typhimurium TA98 indukowanych ekstraktem moczu szczurów, którym podano jednorazowo do jamy otrzewnej 2-aminofluoren w dawce 5 mg/kg i w moczu szczurów nie eksponowanych na kancerogen

Objętość moczu, z którego wyekstrahowane substancje nanoszono na płytkę (cm ³)	Ilość ekstraktu moczu nanoszona na płytkę (cm ³)	Średnia liczba kolonii His+ rew/płytkę			
		- β -glukuronidaza		+ β -glukuronidaza	
		-S9	+S9	-S9	+S9
Kontrola negatywna ^a	-	21	35	28	40
Kontrola	2	25	39	30	56
2-aminofluoren	2	29	219	258	295

a) płytki bez dodawania substancji wyekstrahowanych z moczu +/- bez lub w obecności β -glukuronidazy lub frakcji S9

wzrost liczby rewertantów, gdy czynnikiem aktywującym była jedynie β -glukuronidaza. Zastosowanie jednoczesne frakcji S9 i glukuronidazy nie powodowało dalszego znacznego zwiększenia liczby rewertantów. Ze względu na brak znaczących różnic w aktywności mutagennej moczu w zależności od układu aktywującego w dalszych badaniach ze względu na niższą cenę i lepszą dostępność stosowano frakcję S9.

W ramach przygotowań do badania narażenia zawodowego na czynniki genotoksyczne w odlewniach oznaczono aktywność mutagenną moczu osób palących papierosy będące w sprzedaży w naszym kraju. Palenie papierosów jest jednym z istotnych pozazawodowych źródeł narażenia na czynniki genotoksyczne i rakotwórcze. Wchłanianie składników dymu tytoniowego w płucach palaczy przebiega równolegle z wchłanianiem substancji rakotwórczych z powietrza środowiska pracy. Oznaczenie aktywności mutagennej moczu osób palących papierosy stanowiło również kontrolę pozytywną, stosowanej metody ekstrakcji substancji mutagennych z moczu. Wyniki badania aktywności mutagennej moczu osób niepalących i palących papierosy z zastosowaniem w teście Ames jako układu metabolicznego frakcji S9 przedstawiono w tabeli 8. Ekstrakty moczu osób niepalących testowane zarówno z użyciem, jak i bez zastosowania frakcji S9 nie wywołały istotnego wzrostu częstości rewersji mutacji w szczepie S. typhimurium TA98. Wskazuje to na brak lub bardzo małą zawartość substancji mutagennych lub promutagennych w moczu osób niepalących. Mocz osób palących papierosy nie zawierał mutagenów bezpośrednich, tj. substancji zdolnych do wywołania mutacji powrotnych w bakterii S. typhimurium TA98 bez ich uprzedniej aktywacji metabolicznej. Mocz osób palących papierosy zawierał jednak substancje promutagenne, gdyż dodanie frakcji S9 równocześnie z ekstraktem moczu spowodowało zależny od ilości dodanego ekstraktu wzrost liczby kolonii rewer-

tantów. Wykazano, że 6,25 cm³ moczu jest najmniejszą objętością moczu osób palących, zawierającą dostateczną ilość substancji promutagennych zdolną do wywołania ponad 2-krotnego wzrostu liczby rewertantów w stosunku do liczby spontanicznych mutacji powrotnych. Uzyskane wyniki są zgodne z wynikami badań przeprowadzonych w innych krajach [9, 14, 32, 39] i wskazują na konieczność stosowania frakcji S9 do badań aktywności mutagennej moczu.

Do badań zawartości substancji mutagennych w moczu osób pracujących w odlewni użyto próbek, pochodzących z 9-godzinnej zbiórki moczu przeprowadzonej w

T a b e l a 8

Wpływ substancji wyekstrahowanych z moczu osób niepalących i palących papierosy na częstość mutacji powrotnych w szczepie *Salmonella typhimurium* TA98 z aktywacją (+S9) lub bez aktywacji metabolicznej (-S9)

Ilość ekstraktu moczu nanoszona na płytkę (μl) ^a	Liczba kolonii His ⁺ rewertantów na płytce (+SD)			
	ekstrakt moczu osób niepalących (n = 5)		ekstrakt moczu osób palących (n = 5)	
	-S9	+S9	-S9	+S9
0	24 ± 5	36 ± 8	24 ± 5	36 ± 8
12,5 (3,125 cm ³)	23 ± 4	39 ± 8	24 ± 4	58 ± 12
25 (6,25 cm ³)	29 ± 4	35 ± 12	28 ± 7	81 ± 24
50 (12,5 cm ³)	25 ± 6	26 ± 21	28 ± 4	124 ± 42
100 (25 cm ³)	21 ± 5	24 ± 22	32 ± 5	190 ± 86

a) w nawiasach podano objętość moczu, z której wyekstrahowane substancje nanoszono na płytkę
n - liczba osób badanych

godzinach pracy. W uzyskanych próbkach oznaczano poziom kreatyniny metodą Folina [23]. Przygotowanie prób moczu i ekstrakcje substancji mutagennych przeprowadzano metodą Yamasaki i Ames [39]. Mocz zbierano do 500 - 1000 cm³ polietylenowych butelek lub słoików typu "Twist", zawierających po jednej kropli formaldehydu i przechowywano w lodówce. Przed naniesieniem moczu na kolumny sączono go przez bibułę Whatman i oraz mierzono jego pH. Próby moczu w razie potrzeby doprowadzano do pH 6,5 - 7,0 i porcje o objętości 200 - 1000 cm³ przepuszczano z szybkością 3 cm³/min przez kolumny z amberlitem XAD-2 o pojemności 5 - 10 cm³. Po naniesieniu moczu stosowano płukanie kolumn 50 cm³ wody destylowanej w celu usunięcia ze złoża zaadsorbowanej z moczu histydyny. Pozostałe na żywicy XAD-2 resztki wody usuwano przez przedmuchiwanie kolumn argonem. Zaadsorbowane na amberlicie substancje mutagenne eluowano 20 - 50 cm³ acetonu. Wyeluowane substancje zatężano przez odparowanie acetonu w łaźni wodnej o temperaturze 70°C, w atmosferze argonu i rozpuszczano w DMSO. Ekstrakty przechowywano w temperaturze -80°C. Ze względu na zależność objętości moczu od objętości płynów spożywanych w okresie badań uzyskane wyniki poddano standaryzacji, obliczając liczbę mutacji powrotnych indukowanych przez substancje genotoksyczne w moczu, które uległy wydaleniu jednocześnie z 1 mmol kreatyniny. Obliczenie prowadzono według następującego wzoru:

$$\text{aktywność mutagenna moczu} = \frac{a - b}{c},$$



- gdzie: a - średnia liczba rewertantów na płytkach, do których dodano ekstrakt mocz,
- b - liczba rewertantów spontanicznych na płytkach, do których nie dodano ekstraktu moczu,
- c - zawartość kreatyniny w mmolach w próbce moczu, z której wyekstrahowane substancje dodawano na płytki.

Średnią aktywność mutagenną moczu badanych przez nas pracowników obu odlewni podano w tabelach 9 i 10. Była ona zbliżona do stwierdzanej przez innych autorów u osób palących i niepalących [16, 37]. Wyniki przeprowadzonych przez nas badań nie ujawniły w większości przypadków zależności między aktywnością mutagenną moczu a wielkością narażenia na czynniki genotoksyczne w środowisku pracy w odlewni. Wydaje się, że jest to związane z dwoma czynnikami. Narażenie na czynni

T a b e l a 9

Aktywność mutagenna moczu pracowników odlewni produkującej pierścienie tłokowe

Pracownicy odlewni	Liczba indukowanych rewertantów TA98 w obecności S9-mix przez substancje wydalone z moczem jednocześnie z 1 mM kreatyniny	
	palący	niepalący
Pracownicy służb nadzoru	n = 6 480 ± 365	n = 6 49 ± 30
Pracownicy zatrudnieni bezpośrednio w produkcji	n = 10 847 ± 603	n = 4 36 ± 19

T a b e l a 10

Aktywność mutagenna moczu pracowników odlewni produkującej części maszyn

Pracownicy zatrudnieni bezpośrednio w produkcji	Liczba indukowanych rewertantów w obecności układu metabolizującego S9-mix przez substancje wydalone z moczem jednocześnie z 1 mM kreatyniny			
	szczep TA98		szczep TA100	
Palący	Z	n = 7 751 ± 746	n = 6 636 ± 244	
	W	n = 8 945 ± 663	n = 8 515 ± 272	
Niepalący	Z	n = 4 82 ± 33	n = 3 156 ± 51	
	W	n = 4 141 ± 82	n = 4 101 ± 44	

Z - mocz do badań pobierano w okresie zimowym,
W - mocz do badań pobierano w okresie wiosennym,
n - liczba osób badanych

ki genotoksyczne w odlewniach jest zbyt małe, aby powodować znaczący wzrost aktywności mutagennej moczu, tak jak to się dzieje u osób palących lub u pracowników przemysłu gumowego [14]. Oprócz tego znaczna zmienność aktywności mutagennej moczu przede wszystkim w grupie osób palących, ale także u osób niepalących, związana może być z międzyosobniczą zmiennością metabolizmu ksenobiotyków, co może utrudniać wykrycie niewielkiego wzrostu wydalenia substancji genotoksycznych z moczem osób narażonych zawodowo na te substancje w odlewniach. Z tych prawdopodobnie względów zaledwie w jednej z badanych grup stwierdzono istotną korelację pomiędzy aktywnością mutagenną aerozolu i aktywnością mutagenną moczu osób narażonych na ten aerozol. Porównanie wyników badań przeprowadzonych z uży-

ciem dwóch testowych szczepów TA98 i TA100 pozwoliło wykazać, że ich przydatność do oceny narażenia zawodowego na czynniki genotoksyczne jest zbliżona. Ponadto analiza uzyskanych danych wskazuje, że stosowanie w tego typu badaniach obu szczepów jednocześnie, czy też tylko jednego z nich nie wpływa w istotnym stopniu na końcową ocenę narażenia na substancje mutagenne.

4. WNIOSKI

1. Omówiona w obecnej pracy metodyka umożliwia określenie aktywności mutagennej aerozolu występującego w środowisku pracy i środowisku komunalnym oraz aktywności mutagennej substancji zawartych w moczu ludzi.

2. Aktywność mutagenna aerozolu oceniana liczbą rewertantów, indukowanych przez substancje izolowane z 1 m³ aerozolu występującego na wielu produkcyjnych stanowiskach pracy w odlewniach (zalewacza form płynnym żeliwem, formierza, wytapiacza, przerabiacza masy formierskiej, suwnicowego, rdzeniarza) jest od kilkukrotnie do kilkudziesięciokrotnie wyższa niż aerozolu środowiska komunalnego. Dane te oraz dane z piśmiennictwa sugerują wzrost ryzyka zapadalności na nowotwory złośliwe układu oddechowego w populacji pracowników zatrudnionych na tych stanowiskach.

3. Źródłem emisji substancji mutagennych w odlewni jest proces odlewania żeliwa i produkcja rdzeni odlewniczych.

4. Głównym źródłem wzrostu ilości substancji mutagennych wydalanych z moczem pracowników jest palenie papierosów, a w znacznie mniejszym stopniu jest ono uwarunkowane zawodowym inhalacyjnym narażeniem na substancje genotoksyczne. Ze względu na znaczną zmienność międzyosobniczą do oceny narażenia na czynniki genotoksyczne w odlewniach nie należy wykorzystywać wyników oceny aktywności mutagennej moczu.

5. Aktywność mutagenna pyłu odlewniczego, wyrażona liczbą rewertantów indukowanych przez substancje izolowane z 1 mg pyłu jest stosunkowo niska i z tego względu głównym kierunkiem działań profilaktycznych powinno być zastosowanie środków technicznych lub zmian technologicznych, umożliwiających zmniejszenie stężenia pyłu.

6. Ze względu na występowanie w środowisku pracy odlewni czynników genotoksycznych wskazane byłoby dokonywanie oceny właściwości potencjalnie kancerogennych testami krótkoterminowymi nowo wprowadzanych materiałów odlewniczych.

PISMIENNICTWO

1. Alfheim I., Löfroth G., Möller M.: Bioassay of extracts of ambient particulate matter. Environ Health Perspect 1983, 47, 227-238

2. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalianmicrosome mutagenicity test. Mutat Res 1975, 31, 347-364



3. Austin A.C., Claxton L.D., Lewtas J.: Mutagenicity of the fractionated organic emissions from diesel, cigarette smoke condensate, coke, oven and roofing tar in the Ames assay. *Environ Mutagen* 1985, 7, 471-487
4. Baker R., i in.: Detection of mutagenic activity in human urine following fried pork or bacon meals. *Cancer Lett* 1982, 16, 81-89
5. Bos R.P., i in.: The appearance of mutagens in urine of rats after the administration of benzidine and some other aromatic amines. *Toxicology* 1980, 16, 113-122
6. Bridbord K., i in: Estimates of the fraction of cancer in the United States related to occupational factors. Prepared by National Cancer Institute, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institute for Occupational Safety and Health, September 15, 1978
7. Commoner B., i in.: Environmental mutagens in urban air particulates. *J Toxicol Environ Health* 1978, 4, 59-77
8. Deutsch-Wenzel R.P., i in.: Investigation on the carcinogenicity of emission condensate from brown coal-fired residential furnaces applied to mouse skin. *Cancer Lett* 1984, 25, 103-111
9. Dolara P., Mazzoli S., Rosi D.: Exposure to carcinogenic chemicals and smoking increases urinary excretion of mutagens in humans. *J Toxicol Environ Health* 1981, 8, 95-103
10. Doll R., Peto R.: The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 1981, 66, 1191
11. Durston W.E., Ames B.N.: A simple method for the detection of mutagens in urine: Studies with the carcinogen 2-acetylaminofluorene. *Proc Natl Acad Sci* 1974, 71 (3), 737-741
12. Epstein S.: The political and economic basis of cancer. *Tech Rev* 1976, 78, 35
13. Epstein S., Swartz J.: Fallacies of lifestyle cancer theories. *Nature* 1981, 289, 127
14. Falck K., i in.: Mutagenicity in urine of workers in rubber industry. *Mutat Res* 1980, 79, 45-52
15. Falck K.: Application of the bacterial urinary mutagenicity assay in detection of exposure to genotoxic chemicals. Acad. Dissertation, Univ. Helsinki, 1982a
16. Falck K.: Urinary mutagenicity caused by smoking. *Mutagens in our environment*. Alan R. Liss, Inc., 150 Fifth Ave., New York 1982b, 387-400
17. Gibson E.S., Martin R.H., Lockington J.N.: Lung cancer mortality in a steel foundry. *J Occup Med* 1977, 19 (12), 807-812
18. Van Houdt J.J., i in.: Mutagenic activity of airborne particles inside and outside homes. *Environ Mutagen* 1984, 6, 861-869
19. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans. Iron and steel founding. IARC, Lyon France 1984, 34
20. IARC Monographis on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans. Tobacco smoking. IARC, Lyon, France, 1986, 38
21. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans. Overall evaluation of carcinogenicity. Lyon, France, 1987, Suppl. 7

22. Kaiser C., i in.: Mutagenic material in air particles in a steel foundry. In Bjørseth A., Dennis A.J., (eds) Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Chemistry and Biological Effects, 4th International Symposium, Columbus, OH, Battelle Press, 1980, 579-588
23. Krawczyński J., Osiński T.: Laboratoryjne metody diagnostyczne. PZWL, Warszawa 1967
24. Krøkje Å., i in.: Testing for mutagens in filter samples from the work atmosphere of an aluminium plant. *Acand J Work Environ Health* 1985, 11, 311-316
25. Kryteria zdrowotne środowiska. T. 6. Zasady i metody oceny toksyczności związków chemicznych. Cz. I. PZWL Warszawa 1986
26. Maron D.M., Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 1983, 113, 173-215
27. Palmer W.G., Scott W.D.: Lung cancer in ferrous foundry workers. A review. *Am Ind Hyg Assoc* 1981, 42, 329-341
28. Remsen J.F., Harris W.R.: Mutagenicity in Salmonella of nitroorganic compounds in extracts of fly ash from a lignite-fired atmospheric fluidized-bed combustor. *J Toxicol Environ Health* 1984, 14, 479-490
29. Schimberg R., Skyttä E., Falck K.: Belastung von Eisengiessereiarbeitern durch mutagene polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe. *Staub-Reinhalt Luft* 1981, 41, 421-424
30. Shimizu R.W., i in.: Evaluation of the genotoxicity of process stream extracts from a coal gasification system. *Environ Mutagen* 1984, 6, 825-834
31. Skyttä E., Schimberg R., Vainio H.: Mutagenic activity in foundry air. *Arch Toxicol* 1980, 4, 68-72
32. Sorsa M., Hemminki K., Vainio H.: Biologic monitoring of exposure to chemical mutagens in the occupational environment. *Teratog Carcinog Mutagen* 1982, 2, 137-150
33. Tola S., i in.: Lung cancer mortality among iron foundry workers. *J Occup Med* 1979, 21, 753-760
34. Wynder E., Gori G.: Contribution of the environment to cancer incidence. An epidemiologic exercise. *J Nat Cancer Inst* 1977, 58, 825-830
35. Vainio H., i in.: Possibilities for identifying genotoxic risk in the rubber industry: Use of the urinary mutagenicity assay and sister chromatic exchange. In: Armstrong B., Bartsch H. (eds) *Environmental Host Factors in Carcinogenesis*, 1982
36. Vartiainen T., Liimatainen A.: High levels of mutagenic activity in chlorinated drinking water in Finland. *Mutat Res* 1986, 169, 29-34
37. Venier P., i in.: Mutagenic activity and polycyclic aromatic hydrocarbon levels in urines of workers exposed to coal tar pitch volatiles in an anode plant. *Carcinogenesis* 1985, 6, 749-752
38. Xu X.B., Jin Z.L.: High-performance liquid chromatographic studies of environmental carcinogens in China. *J Chromatogr* 1984, 317, 545-555
39. Yamasaki E., Ames B.N.: Concentration of mutagens from urine by adsorption with the nonpolar resin XAD-2: Cigarette smokers have mutagenic urine. *Proc Natl Acad Sci* 1977, 74 (8) 3555-3559



IDENTIFICATION OF EXPOSED-WORKER GROUPS TO THE MUTAGENIC SUBSTANCES
AND THE SOURCES OF EXPOSURE IN THE FOUNDRIES USING AMES TEST

Summary

Taking into account the results from our studies and the data from literature the methods of estimation of the mutagenic activity of aerosols existing in the occupational environment and the excreted substances with workers urine are described. The methodology of collecting the samples for the studies and isolating the mutagenic substances from the samples are given. The realized studies allowed to detect the mutagenic substances in the aerosol existing at a lot of work-posts in an iron and steel foundries, which appeared to be both direct and indirect mutagens. Mutagenic activity of the solid phase of aerosol assessed as the number of induced revertants by the isolated substances from 1m^3 of the casting aerosol at a lot of typical work-posts is higher from several to tens times than of the urban aerosol. The analysis of the obtained data indicates that an iron and steel furnaces, the casting of an iron and steel to the forms and coremelting are the main sources of emission of the mutagenic substances in the foundries. The smoking habit is the main source of the mutagenic substances excreted with workers urine.

