

温和提取法评估老化前后土壤中菲的生物有效性*

张聪恺 Muhammad Imran Khan Sardar Alam Cheema

沈超峰[†] 唐先进 申开丽 陈 蕾 陈新才 施积炎 陈英旭

(浙江大学环境与资源学院环境保护研究所, 杭州 310029)

摘要 采用温和溶剂提取方法对不同老化时间土壤中的菲进行提取,研究了正丁醇、二氯甲烷、2-羟丙基- β -环糊精(2-Hydroxypropyl-beta cyclodextrin, HPCD)提取量与生物吸收之间的相关性。结果表明,温和有机溶剂(二氯甲烷、正丁醇)提取与温和 HPCD 提取法对菲的提取量与蚯蚓蓄积量有很好的相关性($p < 0.05$)。与其他温和试剂提取相比,温和正丁醇提取可以更好地预测菲在土壤中的生物有效性。

关键词 老化;蓄积;生物有效性;羟丙基- β -环糊精(HPCD);温和提取;菲

中图分类号 X53 **文献标识码** A

土壤是高度不均匀的复杂体系,随着污染物与土壤接触时间的增加,污染物的生物有效性和化学可提取性逐渐降低^[1-3]。在以往的研究中,由于忽略了土壤中污染物的生物可利用性,从而过高地估计了污染物的生态风险。目前,污染物生物可利用性的重要性逐渐显现出来,如何快速有效地评价有机污染物在土壤中的生物有效性是目前有机污染研究的一个热点问题^[4]。研究土壤中有机污染物的生物可利用性主要有化学方法和生物方法两种。化学方法通常采取溶剂萃取的方法来评价生物可利用性,过去常采用强烈的耗竭性提取法,如索氏提取^[5]。然而由于老化现象的存在,这些方法提取出的有机污染物的量与其生物有效性存在较大差异^[6],因而过高地估计了土壤中化学物质的生物有效性部分^[7],夸大了有机污染物的环境风险^[8]。常用的生物评价方法^[9-10]实验周期较长,所用生物个体差异大,实验精度较低。近年来,有研究者开始探讨用化学手段模拟有机污染物对生物的有效性^[11-14]。这些方法的理论基础是与土壤结合的污染物的快解吸作用,即能迅速解吸进入水相中的那部分污染物接近于其生物可利用的部分。这些方法包括固相微萃取^[11]、温和提取法(包括温和有机溶剂提取^[12-13]、温和和表面活性剂提取^[14])等。

目前,用温和提取法模拟和预测土壤中有机污

染物生物可利用性的方法得到了一定发展^[15-16],但使用温和和2-羟丙基- β -环糊精(2-Hydroxypropyl-beta cyclodextrin, HPCD)提取法评估多环芳烃对蚯蚓的生物有效性的研究较少,且尚未形成统一的结论。为了评估温和提取法快速评价土壤中污染物生物有效性的可行性,本研究以菲的蚯蚓蓄积试验作为参比系统,使用了多种化学试剂提取评价土壤中菲的生物有效性,研究比较了不同的有机溶剂(丙酮、二氯甲烷、正丁醇、乙酸乙酯)以及表面活性剂 HPCD 对土壤中菲的提取效果,以期快速有效测定菲在土壤中生物有效性提供分析方法。

1 材料与方法

1.1 供试土壤采集和制备

无污染土采自浙江省杭州市浙江大学华家池校区农场。土壤理化性质为:颗粒组成砂粒(>0.02 mm) 50.5%;粉粒(0.02 ~ 0.002 mm) 37%;黏粒(<0.002 mm) 12.5%。pH 5.95(土水质量比1:2.5);有机质含量 2.1 g kg⁻¹;阳离子交换量 7.76 cmol kg⁻¹。

风干的土壤去除植物残枝和石块等杂物,研磨过 2 mm 孔径的网筛。

1.2 土壤老化及提取

土壤老化参阅文献[17]的方法,实验设置 5 个

* 浙江省科技计划项目(2007C23037)资助

[†] 通讯作者, E-mail: ysxzt@zju.edu.cn

作者简介:张聪恺(1986—),男,硕士研究生,主要从事土壤持久性有机污染生物有效性方面的研究。E-mail: zckl613@zju.edu.cn

收稿日期:2009-03-21;收到修改稿日期:2010-03-01

不同浓度(1、10、100、200和500 mg kg⁻¹干土),3个重复。称取1 kg未灭菌土样,与菲的丙酮溶液混合。混合均匀后,置于通风橱中48 h,使得溶剂完全挥发。加入超纯水使其达到土壤田间持水量的60%,加盖储存于20℃、避光条件下培养一定的时间进行试验。

菲在土壤中老化到0、69、150、222 d后,从处理土壤样品中分别称取5 g研磨过的冷冻干燥土样于滤纸包中,放入索式提取管,加入200 ml丙酮/二氯甲烷的混合溶液(1:1,体积比,HPLC级别),59℃下提取24 h。减压旋转蒸发浓缩至约2 ml,使用10 ml正己烷定量转至到50 ml鸡心瓶中,再次浓缩至1 ml,完成溶剂替换。采用硅胶/氧化铝复合柱净化。湿法装柱,净化柱中依次加入12 cm硅胶,6 cm中性氧化铝,1 cm无水硫酸钠。使用70 ml正己烷/二氯甲烷(7:3,体积比)混合液淋洗净化柱。洗脱液旋转蒸发浓缩至1 ml左右,再用10 ml正己烷分三次洗涤茄形瓶,转移至K-D浓缩器;氮吹至干。加入2 ml甲醇溶解,溶液过0.22 μm滤膜,待分析。

1.3 菲的蚯蚓蓄积试验

赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)培养于实验室22℃土壤中。取老化一定时间菲污染的土壤10 g装在100 ml的小烧杯中,挑选大小、年龄相近,带有明显环带,单一质量约为0.35 g的赤子爱胜蚓5条,加入到烧杯中。用铝箔封口,并在铝箔上打孔数个,以保持土壤中的有氧环境,调节含水率至80%田间持水量,将烧杯置于22℃培养箱中暗处培养10 d。培养结束后,将蚯蚓从烧杯中取出,用无菌水冲洗除去蚯蚓表面的土壤和附着物,将蚯蚓放入底部垫有湿润滤纸的培养皿中24 h,使蚯蚓排出体内的代谢物,用吸水纸吸干水分,称重,冻干。提取时称取一定量的蚯蚓放入研钵中,加入10倍于蚯蚓体重的无水硫酸钠,研磨。蚯蚓样品按照和土壤样品同样的方法进行提取、浓缩和净化。

1.4 温和有机溶剂提取

称取2 g不同老化时间的土壤至50 ml玻璃离心管中,加入25 ml有机溶剂(丙酮,二氯甲烷,正丁醇,乙酸乙酯)。玻璃管放入摇床,150 r min⁻¹、25℃条件下振荡20 h。提取结束后,放入高速离心机(3 000 r min⁻¹)离心10 min。分离上清液,氮吹至干。加入2 ml甲醇溶解,溶液过0.22 μm滤膜,待分析。

1.5 温和HPCD提取

采用文献[18]的方法。使用去离子水配制50

mmol L⁻¹的HPCD水溶液。称取2 g不同老化时间的土壤至50 ml玻璃离心管中,加入25 ml HPCD水溶液。玻璃管放入摇床,150 r min⁻¹、25℃条件下振荡20 h。提取结束后,放入高速离心机(3 000 r min⁻¹)离心10 min。分离上清液,过滤。将10 ml HPCD提取液与10 ml不相溶的溶剂正己烷相混合。快速震荡混合30 s,室温下离心。得到的有机相中加入无水硫酸钠,过滤,氮吹至干。加入2 ml甲醇溶解,溶液过0.22 μm滤膜,待分析。

1.6 HPLC分析

分析前所有样品均需过0.22 μm滤膜。分析仪器为Agilent 1100高效液相色谱仪(Agilent Company, USA),配二极管阵列检测器,流动相为17%的Milli-Q超纯水和83%的甲醇,流速为1.00 ml min⁻¹,信号波长为234 nm,带宽为20 nm,参考波长为330 nm,参考带宽为50 nm。使用外标法定量。重复分析的误差在5%~8%。色谱分析使用溶剂为HPLC级别。

1.7 数据分析

化学分析和生物分析中的所有数据以平均值±标准偏差表示。统计分析使用SPSS 16.0,各种提取方法对土壤中菲的提取百分比使用One-way ANOVA检验, $p < 0.05$ 时认为差异显著;化学提取方法的提取量与蚯蚓蓄积量的相关分析使用Pearson检验。

2 结果与讨论

2.1 老化菲在蚯蚓体内的富集能力

蚯蚓位于陆地生态系统食物链的底部,以富含有机质的土壤为食物,对土壤中的有机污染物具有富集作用。蚯蚓蓄积实验将影响污染物生物有效性的多种因素综合起来,是土壤中有有机污染物生物有效性测定的最准确方法之一^[19]。

不同时间老化菲在蚯蚓体内的生物富集规律见图1,图中蓄积量为5条蚯蚓体内菲的含量。从结果可以看出,土壤未老化(0 d)时,在菲的添加浓度为1、10、100和200 mg kg⁻¹的土壤中,蚯蚓对菲的蓄积量分别为4.17、32.78、144.6、189.4 μg,蚯蚓对菲的蓄积量随着土壤中菲添加浓度的增加而逐渐增加。老化后(69 d和150 d)4个不同菲添加浓度土壤中,随着土壤中菲添加浓度的升高,蚯蚓对菲的蓄积量也逐渐增加。与Chung等^[20]的研究结果相同,他们在添加浓度为1、10和100 mg kg⁻¹的土壤中,发现蚯蚓对菲的蓄积量随土壤中菲浓度增

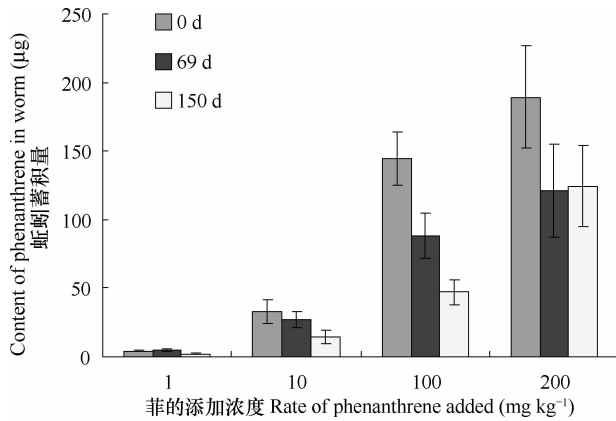


图1 不同老化时间(0、69和150 d)不同添加浓度(1、10、100和200 mg kg⁻¹)土壤中5条蚯蚓对菲的蓄积量

Fig. 1 Accumulation of phenanthrene in 5 earthworms in soils different in aging (0, 69 and 150 days) in rate of phenanthrene added (1, 10, 100 and 200 mg kg⁻¹)

表1 老化前后温和提取法和耗竭式提取法对土壤中菲的可提取性

Table 1 Extractability of phenanthrene in soil before and after aging with mild and exhaustive extraction methods

添加浓度 Addition rate (mg kg ⁻¹)	提取方法 Extraction method	提取率 Extractability (%)			
		0 d	69 d	150 d	222 d
1	索式提取 Soxhlet extraction	113.0 ± 12.3aAB	95.55 ± 18.94aA	71.31 ± 33.44bA	24.15 ± 8.09bA
	2-羟丙基-β-环糊精 HPCD	99.74 ± 15.65aAB	78.70 ± 8.50bA	25.05 ± 10.13cB	ND
	正丁醇 Butanol	105.74 ± 7.98aAB	86.78 ± 9.13bA	38.43 ± 0.64cAB	22.34 ± 5.13cA
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	98.32 ± 1.49aAB	82.19 ± 11.48abA	61.91 ± 21.01bAB	25.92 ± 3.49cA
	丙酮 Acetone	95.25 ± 8.56aB	79.32 ± 13.12aA	50.17 ± 3.99bAB	22.94 ± 5.99cA
	二氯甲烷 Dichloromethane	121.0 ± 0.2aA	88.70 ± 11.98abA	66.26 ± 19.61bAB	26.17 ± 5.27cA
10	索式提取 Soxhlet extraction	85.22 ± 6.20aA	62.93 ± 2.14bA	43.45 ± 9.08cA	23.43 ± 6.75dA
	2-羟丙基-β-环糊精 HPCD	62.93 ± 9.81aB	51.01 ± 8.23aBC	15.38 ± 2.19bB	4.29 ± 1.35bB
	正丁醇 Butanol	67.10 ± 5.61aB	56.51 ± 1.78bAB	10.73 ± 1.35cB	7.72 ± 1.36cB
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	64.74 ± 3.64aB	56.69 ± 6.52aAB	16.59 ± 2.81bB	8.97 ± 0.41bB
	丙酮 Acetone	60.53 ± 2.17aB	51.44 ± 0.43bBC	16.89 ± 0.87cB	6.48 ± 0.38dB
	二氯甲烷 Dichloromethane	67.12 ± 8.58aB	43.81 ± 5.89aC	15.24 ± 0.56bB	6.64 ± 0.85bB
100	索式提取 Soxhlet extraction	72.97 ± 1.61aA	58.66 ± 4.24bA	11.55 ± 1.90cA	3.71 ± 0.61dA
	2-羟丙基-β-环糊精 HPCD	52.76 ± 6.70aC	39.67 ± 2.10bD	6.71 ± 0.90cB	2.39 ± 0.53cB
	正丁醇 Butanol	60.38 ± 1.49aBC	52.64 ± 2.00bB	3.31 ± 0.59cC	2.35 ± 0.24cB
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	59.70 ± 0.22aBC	51.59 ± 0.30bB	7.58 ± 0.13cB	2.93 ± 0.10dAB
	丙酮 Acetone	56.62 ± 1.42aBC	43.46 ± 1.05bC	6.04 ± 0.69cB	2.52 ± 0.03dB
	二氯甲烷 Dichloromethane	61.91 ± 2.62aB	53.77 ± 2.46bB	8.20 ± 0.41cB	2.68 ± 0.30dB
500	索式提取 Soxhlet extraction	67.08 ± 1.90aA	60.64 ± 4.90bA	4.51 ± 0.36cA	1.94 ± 0.22dA
	2-羟丙基-β-环糊精 HPCD	48.58 ± 4.60aC	40.58 ± 1.64bD	2.58 ± 0.49cB	0.81 ± 0.09cB
	正丁醇 Butanol	56.53 ± 1.72aB	52.30 ± 0.83bBC	1.30 ± 0.07cC	0.90 ± 0.07cB
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	56.48 ± 2.67aB	51.65 ± 1.53bBC	2.40 ± 0.05cB	1.06 ± 0.02cB
	丙酮 Acetone	47.96 ± 2.43aC	45.78 ± 2.41aCD	2.28 ± 0.11bB	0.97 ± 0.03bB
	二氯甲烷 Dichloromethane	56.65 ± 2.19aB	52.63 ± 1.37bB	2.48 ± 0.09cB	0.91 ± 0.04cB

注:数值为三个平行的平均值 ± 标准偏差。标有相同大写字母表示同一添加浓度相同老化时间不同溶剂的提取率比较有显著性差异 ($p < 0.05$);标有相同小写字母表示同一添加浓度同一溶剂不同老化时间的提取率比较有显著性差异 ($p < 0.05$)。ND:未检出 Note: Values are the means of three replications ± SE. Data followed by the same uppercase letter in each column or by the same lowercase letter in each row are not significantly different from each other at $p < 0.05$. ND: Not detected

加而增加。同时由图1可见,在添加浓度为100 mg kg⁻¹的土壤中,土壤老化前后(0 d、69 d和150 d)蚯蚓体内菲的蓄积量分别为144.6、88.27和44.14 µg,随老化时间的延长,土壤中菲浓度逐渐降低。在添加浓度为1、10和200 mg kg⁻¹的土壤中,也有类似结果。这说明在老化过程中可能有越来越多的菲被微生物降解或进入了土壤不容易解吸的区域,从而不能被蚯蚓利用。

2.2 不同提取方法对老化土壤中菲的提取效果

不同老化时间土壤中菲的索式提取和温和提取效果如表1所示,提取率为温和提取量占样品中菲初始加入量的百分比,随着老化时间的延长,各种提取方法对土壤中菲的提取率均显著降低。老化后多环芳烃回收率降低的主要原因可能是老化过程中,菲被土壤中微生物大量降解;另一方面土壤

中残留菲随老化时间延长而逐渐进入土壤颗粒中难解吸的位点。在菲的添加浓度为 1 mg kg^{-1} 的老化土壤中,索式提取法和温和提取法对菲的提取率差异不显著 ($p > 0.05$);而在添加浓度为 10、100、500 mg kg^{-1} 的老化土壤中,温和溶剂提取法对菲的提取率均显著低于索式提取法 ($p < 0.05$)。并且,温和 HPCD 提取与温和有机溶剂(丙酮、正丁醇、二氯甲烷和乙酸乙酯)提取有较接近的提取率。

2.3 菲的生物蓄积和温和提取方法之间的相关性

老化前后土壤中菲的化学提取(二氯甲烷、正丁醇和 HPCD)与生物蓄积量的相关性如表 2 所示。从表 2 中可以看出,温和提取方法与生物蓄积量之

间有着很好的相关性。土壤老化 0 d 和 69 d 时,菲的蚯蚓蓄积量与正丁醇提取量有显著的相关性 ($R^2 = 0.980$, $p < 0.05$; $R^2 = 0.981$, $p < 0.05$);而在第 150 天时,菲的蚯蚓蓄积量与正丁醇提取量有极显著的相关性 ($R^2 = 0.998$, $p < 0.01$)。并且,在老化 0、69 和 150 d 时,菲的蚯蚓蓄积量与二氯甲烷提取量、HPCD 提取量有显著的相关性 ($p < 0.05$)。可见,在本次实验条件下,温和提取法对菲的提取率反映了土壤有效态菲的水平。并且,正丁醇提取与其他温和试剂提取相比,正丁醇提取与蚯蚓蓄积量有着更好的相关性。温和正丁醇提取可能更适合对本实验农田土壤中菲的生物有效性进行预测。

表 2 土壤中菲的生物有效性和化学有效性之间的决定系数 (R^2)

Table 2 Decision coefficients (R^2) between biological and chemical availabilities of phenanthrene in soil

评价方法 Assessment method	二氯甲烷 Dichloromethane			正丁醇 Butanol			2-羟丙基- β -环糊精 HPCD		
	0 d	69 d	150 d	0 d	69 d	150 d	0 d	69 d	150 d
	蚯蚓蓄积 Earthworm accumulation	0.981 *	0.979 *	0.902 *	0.980 *	0.981 *	0.998 **	0.977 *	0.968 *
二氯甲烷 Dichloromethane				1.000 **	1.000 **	0.880 *	1.000 **	0.998 **	0.960 *
正丁醇 Butanol							1.000 **	0.997 **	0.977 *

注: * 0.05 显著性水平下的显著相关; ** 0.01 显著性水平下的显著相关 Note: * Correlation is significant at the 0.05 level; ** Correlation is significant at the 0.01 level

在其他研究者的研究中,温和有机溶剂提取与生物蓄积量也有着很好的相关性^[20-22]。然而,温和有机溶剂提取法也有其限制性,在不同类型的土壤中,这一方法经常无法准确预测生物有效性^[20, 23]。温和 HPCD 提取技术被认为是模拟土壤中物质传递机理,从而准确预测土壤中污染物生物有效性的可靠方法^[24]。Hickman 等^[22]使用温和 HPCD 提取法对四种不同类型的土壤中菲的生物有效性进行了研究,微生物矿化的菲与 HPCD 提取的菲含量极其接近。但是,HPCD 提取法不适用于水溶性较小的化合物。因此,这些提取方法还不能完全替代生物方法,仍需要与生物方法相结合来评价土壤中有机污染物的生物有效性。

3 结 论

在模拟自然环境条件下,菲在蚯蚓体内的生物蓄积量表现出,随土壤中菲添加浓度的升高蚯蚓对菲的蓄积量逐渐增加;随土壤老化时间延长呈现出逐渐下降的趋势。本研究中温和 HPCD 提取与温和

有机溶剂(丙酮、正丁醇、二氯甲烷和乙酸乙酯)提取有较接近的提取率。温和 HPCD 提取法与温和有机溶剂(二氯甲烷和正丁醇)提取对菲的提取量与蚯蚓蓄积量有很好的相关性。与其他温和溶剂提取相比,温和正丁醇提取可能更适合对本实验土壤中菲的生物有效性进行预测。

参 考 文 献

- [1] 郇红建, 蒋新, 王芳, 等. DDTs 在土壤中的老化规律及生物有效性. 土壤学报, 2007, 44(1): 79—83. Gao H J, Jiang X, Wang F, et al. Aging and bioavailability of DDTs in soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2007, 44(1): 79—83
- [2] 李俊国, 李存国, 孙红文. 老化对土壤中芘的生物有效性的影响. 农业环境科学学报, 2005, 24: 77—80. Li J G, Li C G, Sun H W. Effects of aging on bioavailability of pyrene (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24: 77—80
- [3] Johnson D L, Jones K C, Langdon C J, et al. Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 134: 1363—1370
- [4] Alexander M. Biodegradation and bioremediation. New York: Academic Press, 1999

- [5] Brillis G M, Marsden P J. Comparative-evaluation of soxhlet and sonication extraction in the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 1990, 21: 91—98
- [6] Bosma T N P, Middeldrop P J M, Schraa G, et al. Mass transfer limitations of biotransformation: Quantifying bioavailability. *Environmental Science and Technology*, 1997, 31: 248—252
- [7] Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology*, 2000, 34(20): 4 259—4 265
- [8] Kelsey J W, Alexander M. Declining bioavailability and inappropriate estimation of risk of persistent compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16: 582—585
- [9] Tang J, Liste H H, Alexander M. Chemical assays of availability to earthworms of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 2002, 48: 35—42
- [10] Parrish Z D, White J C, Isleyen M, et al. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species. *Chemosphere*, 2006, 64: 609—618
- [11] Van der Wal L, van Gestel C A M, Hermens J L M. Solid-phase microextraction to predict bioavailability and accumulation of organic micropollutants in terrestrial organisms after exposure to a field-contaminated soil. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38: 4 842—4 848
- [12] Liste H H, Alexander M. Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil. *Chemosphere*, 2002, 46: 1 011—1 017
- [13] 郭丽青, 巨天珍, 陶澍. 土壤中不同老化时间的 DDT 对小麦根系的生物有效性. *土壤与环境*, 2002, 11(4): 335—338. Guo L Q, Ju T Z, Tao S. Bioavailability of DDT in soil with various aging periods to wheat roots (In Chinese). *Soil and Environmental Sciences*, 2002, 11(4): 335—338
- [14] Puglisi E, Patterson C J, Paton G I. Non-exhaustive extraction techniques (NEETs) for bioavailability assessment of organic hydrophobic compounds in soils. *Agronomie*, 2003, 23: 755—756
- [15] Sun H W, Li J G. Availability of pyrene in unaged and aged soils to earthworm uptake, butanol extraction and SFE. *Water, Air and Soil Pollution*, 2005, 166: 353—365
- [16] Sabate J, Vinas M, Solanas A M. Bioavailability assessment and environmental fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in biostimulated creosote- contaminated soil. *Chemosphere*, 2006, 63: 1 648—1 659
- [17] Hua G X, Killham K, Singleton I. Potential application of synchronous fluorescence spectroscopy to determine benzo[a]pyrene in soil extracts. *Environmental Pollution*, 2006, 139: 272—278
- [18] Reid B J, Stokes J D, Jones K C, et al. Nonexhaustive cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability. *Environmental Science and Technology*, 2000, 34: 3 174—3 179
- [19] Lanno R, Wells J, Conder J, et al. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 57: 39—47
- [20] Chung N, Alexander M. Effect of soil properties on bioavailability and extractability of phenanthrene and atrazine sequestered in soil. *Chemosphere*, 2002, 48: 109—115
- [21] Cuypers C, Pancras T, Grotenhuis T, et al. The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and triton x-100 extraction techniques. *Chemosphere*, 2002, 46: 1 235—1 245
- [22] Hickman Z A, Reid B J. Towards a more appropriate water based extraction for the assessment of organic contaminant availability. *Environmental Pollution*, 2005, 138: 299—306
- [23] Bergknot M, Sehlin E, Lundstedt S, et al. Comparison of techniques for estimating PAH bioavailability: Uptake in *Eisenia foetida*, passive samplers and leaching using various solvents and additives. *Environmental Pollution*, 2007, 145: 154—160
- [24] Hua G, Broderick J, Semple K T, et al. Rapid quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPCD) soil extracts by synchronous fluorescence spectroscopy (SFS). *Environmental Pollution*, 2007, 148: 176—181

ASSESSMENT OF PHENANTHRENE BIOAVAILABILITY IN SOILS BEFORE AND AFTER AGING WITH MILD EXTRACTION METHOD

Zhang Congkai Muhammad Imran Khan Sardar Alam Cheema Shen Chaofeng[†]

Tang Xianjin Shen Kaili Chen Lei Chen Xincan Shi Jiyan Chen Yingxu

(Institute of Environmental Science and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract In order to explore correlations between biosorption and extraction of phenanthrene in soil with different extractants (acetone, dichloromethane, butanol, ethyl acetate and 2-Hydroxypropyl-beta cyclodextrin, HPCD), phenanthrene in soils different in aging were extracted with mild solvent extraction methods. A significant relationship was observed between the amount of phenanthrene extracted with mild organic extractants (dichloromethane and butanol) and with mild HPCD and phenanthrene accumulation in earthworms ($p < 0.05$). The mild butanol extractant can be used to better predict bioavailability of phenanthrene in both aged and unaged soils as compared to the other mild extractants in the present study.

Key words Aging; Accumulation; Bioavailability; HPCD; Mild extraction; Phenanthrene