温和溶剂提取预测土壤中多环芳烃的生物有效性

吕正勇[1,2], 杨兴伦[1], 王芳[1], 张银萍[1,2], 蒋新[1,2]*

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:利用正丁醇和羟丙基-β-环糊精(hydroxypropyl-β-cyclodextrin, HPCD)提取来自 9 个农田土壤中的多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs),并应用于评价场地多年老化土壤中 PAHs 对赤子爱胜蚯蚓(*Eisenia fetida*)的生物有效性. 结果表明,对于多年老化场地,土壤中污染物的主要组成为 4 环以上的中、高环 PAHs,其中 4 环占 34.06%,5、6 环占 34.09%,而蚯蚓较易蓄积低环 PAHs,对高环 PAHs 蓄积能力较差;温和溶剂提取与蚯蚓体内蓄积的 PAHs 的相关性研究表明:温和溶剂提取对 3 环的 PAHs 具有较好相关性(r^2 为 0.77 ~ 0.79),而对其他环的 PAHs 没有相关性(r^2 < 0.35),因此,对于多年老化污染土壤,温和溶剂提取可能并不是一个理想的生物有效性预测方法.

关键词:多环芳烃; 生物有效性; 温和溶剂; 生物蓄积; 正丁醇; 羟丙基-β-环糊精

中图分类号:X131.3 **文献标识码**:A **文章编号**:0250-3301(2011)08-2462-08

Mild Solvent Extraction Technique for the Evaluation of PAHs Bioavailability

LÜ Zheng-yong[1,2], YANG Xing-lun[1], WANG Fang[1], ZHANG Yin-ping[1,2], JIANG Xin[1,2]

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: *n*-butanol and hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPCD) were used to extract polyclic aromatic hydrocarbons from 9 aged agricultural fields and to assess the PAHs bioavailability to earthworm (*Eisenia fetida*). It was demonstrated that the high molecular weight (HMW) PAHs (≥4 rings) contribute the largest proportions (4-ring PAHs: 34.06%, 5-6 rings: 34.09%) to the contaminants in long-term aged field soils. Moreover, the light molecular weight PAHs were easily accumulated in the earthworm, while the high molecular weight PAHs were hard to accumulate. The extraction by mild solvent correlated well with the 3 ring PAHs (r^2 0.77-0.79) but not for the other rings PAHs (r^2 < 0.35), indicating that mild extraction may not serve as a good predictor of PAHs bioavailability to earthworm.

Key words: PAHs; bioavailability; mild solvent; bioaccumulation; *n*-butanol; hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPCD)

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类国际上极为关注的典型有机污染物,其中有 16 种被美国环保署列为优先控制的 PAHs[1~4]. 当前,对土壤中污染物的污染水平分析和环境风险评价都是基于污染物的总浓度进行的,即利用耗竭法提取土壤中化合物的浓度;而 Alexander[5] 认为:污染物在土壤中的老化过程会降低其在土壤中的污染水平,故使用总浓度高估了土壤或沉积物中的实际污染水平. 为此,科研工作者考虑采用生物有效性(bioavailability)浓度来评价土壤中化合物的污染水平,并以其为标准进行污染水平研究和风险评价[5~8]. 评价土壤中化合物的生物有效性,常用的方法有:①微生物降解法[9];②土壤动物蓄积法[10, 11];③植物根系蓄积法[12];④温和溶剂提取法[13~15];⑤仿生提取评价法[16~18];⑥超临界提取法[19, 20];其中前 3 种为生物学方法,后 3 种是物理化学方法. 生物方法可以直接评估土壤中化合物的毒性及生物有效性,最具直观性,其缺点是费时较长,费用过高[13]. 目前,土壤中污染物的生物有效性部分主要是指吸附在土壤表面,以及与土壤中有机质类物质结合不是很紧密的那部分,而物理化学方法中的温和溶剂提取法是一种非耗竭性提取方法,可以将吸附在土壤表面和结合不紧密的那部分有机物提取出来,它具有操作简单、需要设备简易等优点[21~23]. 羟丙基-β-环糊精(HPCD)和正丁醇(*n*-butanol)是使用最多的两类温和溶剂,Reid 等[15] 认为 HPCD 和正丁醇提取方法是评价土壤中有机物生物有效性的理想方法之一.

目前使用温和溶剂评价土壤中 PAHs 的生物有效性大多研究对象是自制的新鲜污染土,这种方法

收稿日期:2010-08-09;修订日期:2010-12-05
基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA061101);中国科学院知识创新工程领域前沿项目(ISSASIP0714);江苏省自然科学基金项目(BK2008497);国家自然科学基金项目(40801117)
作者简介:吕正勇(1979~),男,博士研究生,主要研究方向为环境化学与污染控制.
* 通讯联系人, E-mail: jiangxin@issas.ac.cn

不能完全反映实际污染土壤中的 PAHs 的生物有效性. 本研究对多年老化污染场地土壤使用温和溶剂进行提取,将提取量与实验室蚯蚓蓄积量进行相关性分析,以期为老化污染场地的修复目标的设置以及环境风险评价提供科学依据.

1　材料与方法

1.1　供试材料

土壤样品采自于江苏省南京市周边 9 个靠近工业区的典型 PAHs 污染农田的多年老化表层土壤(0 ~20 cm). 将采集来的土壤置于室内自然风干,磨碎,过 2 mm 筛,土壤的基本理化性质见表 1,具体分析方法见文献[24]. 供试蚯蚓:赤子爱胜蚯蚓(*Eisenia fetida*),购于南京大厂养殖场.

正丁醇、丙酮、正己烷和无水硫酸钠均为分析纯;HPCD 为优级纯,购自上海安普;PAHs 混合标样(包括 Nap、Ace、Acy、Flu、Phe、Ant、Fla、Pyr、BaA、Chry、BbF、BkF、BaP、DahA、InP、BghiP)购自美国 Supelco 公司. 甲醇、乙腈、层析硅胶等均为色谱纯,购于 Tedia 公司,其中硅胶与无水硫酸钠参照美国 EPA 测试方法 3550B 和 3630C 进行处理;水为 Millipore 超纯水.

表 1　土壤基本理化性质

Table 1　Physico-chemical properties of soils

样点	TOC/g·kg^{-1}	砂粒/%	粉粒/%	黏粒/%	TN/g·kg^{-1}	TP/g·kg^{-1}	TK/g·kg^{-1}	pH
1	22.68	20.96	61.25	17.78	1.41	0.57	15.31	5.45
2	24.40	7.75	72.32	19.92	1.38	1.00	13.41	5.36
3	25.85	16.08	65.70	18.23	1.37	0.85	14.64	5.35
4	16.51	8.92	67.92	23.16	0.92	0.68	15.23	5.21
5	20.33	9.73	69.41	20.85	1.16	0.85	14.06	5.23
6	10.98	6.58	67.92	25.50	0.72	0.47	15.86	5.13
7	23.51	8.72	70.38	20.89	1.36	0.88	13.71	5.25
8	25.39	17.17	64.16	18.67	1.39	0.74	15.22	5.2
9	22.29	15.51	64.08	20.41	1.16	0.54	15.99	5.17

1.2　主要仪器

加速溶剂萃取仪(ASE200,美国戴安);旋转蒸发仪(RE-3000,中国上海);高相液相色谱仪(HPLC LC-20A,日本岛津)配有 PAH 专用柱(250 mm ×416 mm,5 μm,美国 Supelco).

1.3　温和溶剂提取时间的优化

将 5 g 土壤加入 15 mL 正丁醇(或者 1.25 g 土壤加入 25 mL 浓度为 50 mmol/L的 HPCD),再加入 1.25 mg $HgCl_2$,在25℃下振荡 0.5、1、2、4、8、12、24 和 48 h;在2 500 r/min速率下离心分离 30 min;舍弃上清液,残存物中加入 25 mL 去离子水,摇晃 10 s,再离心 30 min,舍去上清液. 剩余的残存物再用正己烷/丙酮(1/1,体积比)进行总提取实验,土壤中总 PAHs 浓度与本实验测出的土壤中残留量之差即为温和溶剂提取的含量,通过温和提取含量达平衡时间可以确定最优提取时间.

1.4　蚯蚓蓄积实验

在实验室环境下将赤子爱胜蚯蚓驯化 2 周,清理肠道 48 h 后,将 15 条成年蚯蚓和 300 g 污染土壤加入 500 mL 广口瓶中,用去离子水使土壤达到 80% 的最大持水量,为了保持土壤的含水量,需要定期加水,每个实验设 4 个重复,设计暴露期14 d. 暴露结束后,将蚯蚓取出清理肠胃 48 h,冷冻干燥后研磨碎.

1.5　PAHs 提取与分析

称取蚯蚓样品或土壤样品 1 g,与 4 g 硅藻土拌匀后装入 ASE 萃取池中,提取条件为:提取剂为丙酮/正己烷(1/1,体积比),炉温125℃,压力 10 MPa,预热 5 min,静态提取 5 min,循环 2 次,冲洗体积:60% 提取量. 将萃取液以及前面的混合提取液用旋转蒸发浓缩至 2 mL 左右,转移到 SPE 柱(1 g 中性 Al_2O_3 + 1 g 硅胶 + 1 g 无水硫酸钠)中净化,用 25 mL 正己烷/二氯甲烷(9/1,体积比)淋洗,收集滤出液,浓缩至约 1 mL,用柔和氮气吹至近干,再用乙腈定容至 1.0 mL,过 0.45 μm 有机滤膜后用液相色谱测定 PAHs.

PAHs 使用 HPLC 荧光检测器检测,可以识别 15 种 PAHs,使用乙腈和水梯度淋洗,流速 1.5 mL/min,柱温30℃. 在样品分析过程中进行方法空白、平行样以及加标回收测定,16 种 EPA PAHs 混标测定回收率为 70% ~119% 之间,相对标准偏差 <10% ,所有结果均以干重表示,平均值为算术平均值.

1.6　数据分析

所有实验数据用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS

13.0 软件进行分析.

2 结果和讨论

2.1 土壤和蚯蚓中 PAHs 浓度

从表 2 中可以看出,工业区附近农田表层土壤中 PAHs 的浓度为1 735.90 ~ 12 737.94 μg/kg,组成以 4 ~ 6 环的高环 PAHs 为主,占 69.3% ~ 90.4%. 根据 Maliszewska[26] 采用的分类方法:土壤中总 PAHs 浓度 >1 000 μg/kg的土壤被定义为严重污染土壤;这 9 个采样点的农田土壤都属于严重污染.

表 2 南京 9 个被测农田土壤中 PAHs 的浓度/μg·kg^{-1}

Table 2 Concentration of PAHs in the selected agricultural fields/μg·kg^{-1}

PAHs	采样点								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nap	151.31	145.76	134.68	180.20	132.13	136.13	79.58	70.52	66.96
Ace	68.82	97.34	95.97	89.26	105.66	67.03	73.06	63.13	64.13
Flu	41.20	74.42	58.93	56.58	59.49	43.17	37.72	42.14	39.82
Phe	367.95	819.71	464.02	556.30	714.59	476.63	478.86	416.20	335.75
Ant	29.56	80.61	33.75	38.86	44.29	27.93	13.52	9.33	25.75
Fla	477.94	2 670.26	1 362.61	1 253.43	1 598.44	691.41	1 076.34	672.51	358.57
Pyr	252.98	1 469.11	896.74	964.89	1 224.67	464.64	765.08	434.90	176.18
BaA	141.87	898.78	475.02	441.89	709.27	260.53	396.82	222.64	86.53
Chr	193.98	1030.61	650.98	584.31	903.00	324.89	551.08	286.63	128.29
BbF	194.41	1120.92	763.44	701.28	932.57	249.76	568.92	296.60	140.90
BkF	83.21	511.55	328.72	313.75	424.14	168.42	244.72	129.46	55.46
BaP	141.80	1 104.20	526.71	498.77	604.98	207.58	388.64	219.99	74.74
DahA	36.78	90.59	110.88	85.93	99.45	42.74	62.26	36.85	21.78
BghiP	228.99	1 921.22	1 506.26	921.50	1 704.19	428.90	855.55	391.70	109.17
InP	98.75	702.88	464.42	431.27	546.88	183.01	308.97	160.09	51.88
合计	2 509.54	12 737.94	7 873.11	7 118.20	9 803.71	3 772.77	5 901.10	3452.67	1735.90

从表 3 中可以看出,蚯蚓体内的 PAHs 总浓度从 347.12 ~ 657.40 μg/kg不等. 与土壤中 PAHs 的浓度分布相比较可以发现:蚯蚓体内蓄积的 PAHs 主要以中低环为主,而多年老化土壤中主要组成是中高环 PAHs,这与 Parrish 等[11] 的研究结果类似,导致这种差异性的主要原因有:对于多年老化土壤来说,由于低环 PAHs 较高环 PAHs 更易被降解,而高环 PAHs 很难被降解代谢导致其在土壤中长期累积;至于在蚯蚓体内的蓄积差异主要是由于高环 PAHs 的高疏水性($\lg K_{ow}$为 5.9 ~ 6.7),一方面这些 PAHs 更容易与土壤中的有机质结合,另一方面难以被蚯蚓所蓄积,从生物有效性上考虑,它们虽然在土壤中的浓度较高,但由于土壤有机质等影响,高环 PAHs 的生物有效性较低环 PAHs 的生物有效性要低得多.

表 3 蚯蚓体内 PAHs 的浓度/μg·kg^{-1}

Table 3 Concentration of PAHs in the earthworm /μg·kg^{-1}

PAHs	采样点								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nap	61.53	51.97	33.25	41.80	30.55	40.42	30.85	28.13	31.80
Ace	20.81	19.10	22.74	19.57	19.96	19.16	21.12	19.20	19.13
Flu	19.45	16.41	27.38	26.06	28.37	15.34	26.69	20.49	17.29
Phe	75.87	89.04	90.19	83.57	86.08	75.49	91.77	71.39	68.91
Ant	5.28	5.67	6.83	6.89	6.19	5.27	6.79	5.11	5.37
Fla	29.64	58.65	64.63	47.52	49.61	33.09	51.08	22.03	22.00
Pyr	36.30	80.13	91.10	69.08	90.59	74.78	101.62	25.61	91.92
BaA	8.72	22.55	27.62	21.52	27.52	18.47	24.62	6.36	7.53
Chr	32.62	64.75	85.05	58.45	87.87	47.13	87.57	40.37	20.30
BbF	37.85	116.19	103.75	113.18	122.97	128.62	43.68	57.19	85.22
BkF	17.28	39.74	40.67	45.97	47.59	52.87	23.78	17.71	31.13
BaP	6.60	19.58	17.43	21.81	15.83	12.01	21.58	7.62	28.19
DahA	3.31	5.42	6.41	5.35	7.47	4.37	6.52	4.05	3.91
BghiP	25.24	27.48	26.42	14.87	23.08	23.82	55.87	14.46	36.39
InP	12.69	15.48	13.92	9.41	12.93	11.20	24.47	7.40	15.63
合计	393.19	632.15	657.40	585.04	656.60	562.02	617.99	347.12	484.72

将土壤中 PAHs 的浓度与蚯蚓体内 PAHs 浓度进行相关性分析,结果见图 1. 从图 1 中可以看出,土壤中低环的 2, 3 环 PAHs 与蚯蚓中蓄积的浓度显著相关,而土壤中 4 环以上的 PAHs 浓度与蚯蚓中蓄积的浓度不存在显著相关性,主要是由不同环数的 PAHs 的生物有效性决定的.

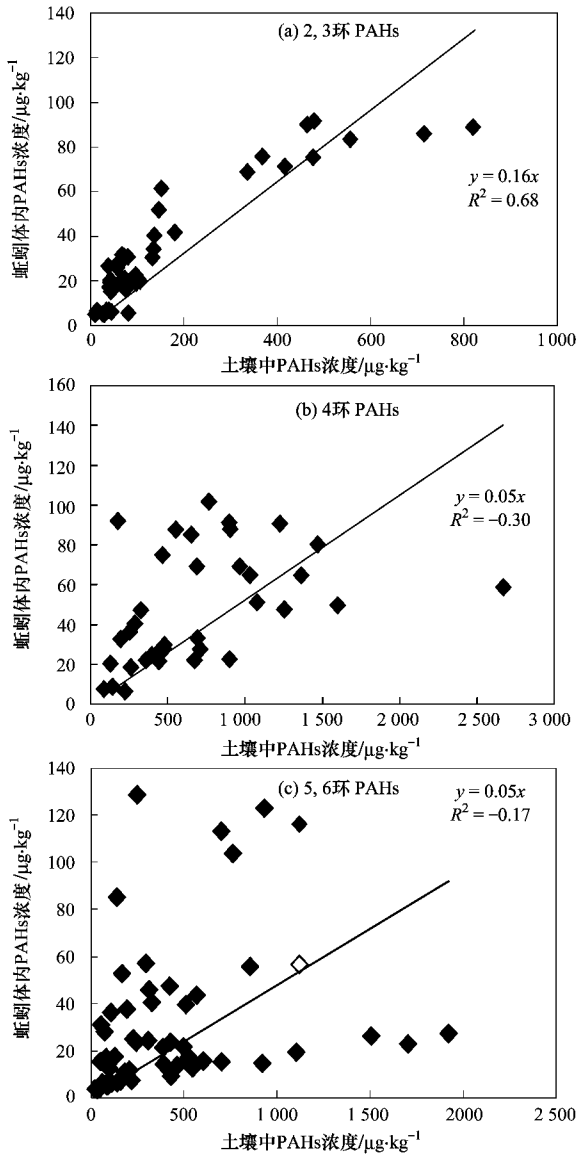

图 1　蚯蚓体内 PAHs 浓度与土壤中 PAHs 浓度之间的相关性

Fig. 1　Correlation of PAHs concentrations in earthworm and total concentrations in soils

Tao 等[16]通过研究表明,生物体内的脂质和土壤中的有机质在富集有机污染物过程中发挥重要的作用,因此本研究进一步将图 1 中蚯蚓体内和土壤中 PAHs 浓度进行脂含量归一化处理. 结果见图 2,从中可见:归一化处理后的相关性同图 1 相比较没有提高,与 Tao 等的研究结果不一样,这可能是由于土壤

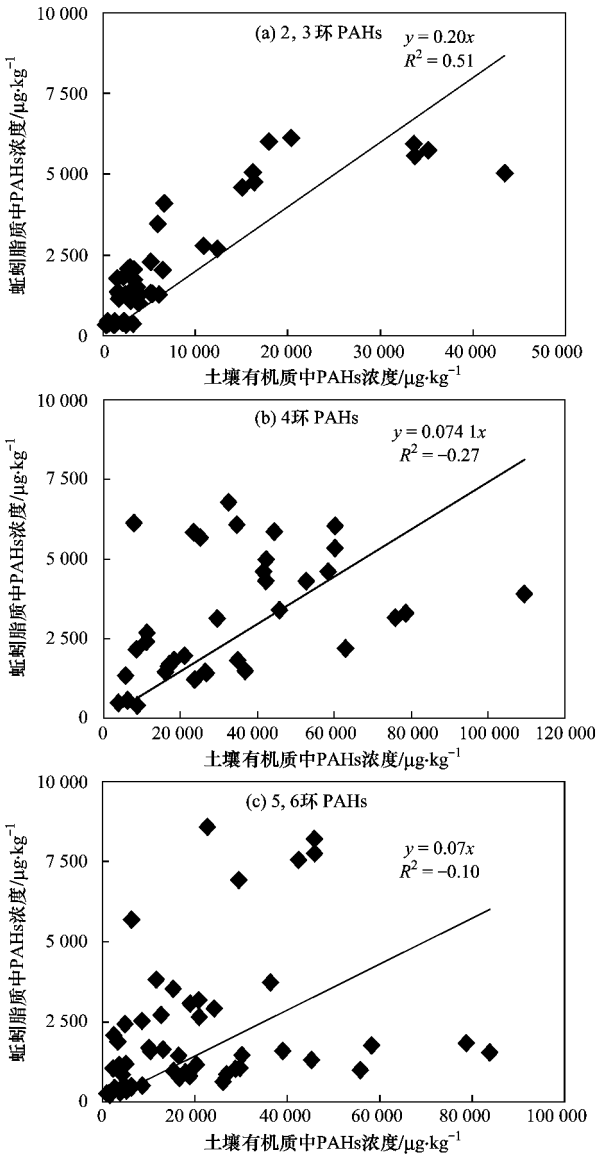

图 2　脂含量归一化处理后土壤和蚯蚓体内 PAHs 浓度之间的关系

Fig. 2　Correlation of PAHs concentrations in soil and earthworm after lipid normalization

中的 PAHs 的生物有效性不仅仅是与有机质有关,还与土壤的黏性比率、水含量、CEC 等参数有关[27].

随着 PAHs 环数的上升,在蚯蚓体内蓄积越来越难,这可能与分子直径有关,Cuypers 等[14]计算出不同环数的 PAHs 的分子直径,发现 2 ~ 6 环的 PAHs 分子直径不断增大,从 0.5 nm 一直上升到 0.9 nm,于是相应进入生物体内也越来越困难,故在蚯蚓体内蓄积越来越困难;并且,随着 PAHs 环数的增加,相关性越来越差. 这说明不同环数的 PAHs 在蚯蚓体内的蓄积量与土壤中的浓度具有差异性,如果采用 PAHs 的总浓度来评价其在土壤中的污染水平,可能无法准确评价土壤的实际污染水平,从而不

能正确评估环境风险.

2.2 温和溶剂提取时间的优化

温和溶剂对老化土壤中 PAHs 的提取效率见图 3,从中可以看出,使用正丁醇为提取剂,达到平衡的时间较快,2 h 的提取时间就可达到最大提取率,故本研究采用 2 h 作为正丁醇的提取时间,这与 Liste 和 Gomez-Eyles 等[13,28]采用的正丁醇提取的方法稍有不同,因为他们采取的方法是使用 Vortex 漩涡提取,提取较为激烈,相应提取时间要短,一般提取时间为 120 s;而本研究采取的是普通水浴振荡提取,提取强度较 Vortex 要弱得多,故提取时间较 Vortex 漩涡提取要长.

使用 HPCD 提取,从图 2 中可以看出,24 h 的提取时间,可使提取率达到稳定,故本研究考虑采用 24 h 作为 HPCD 模拟生物可利用性的提取时间,这与文献[14, 22, 28]采取的提取时间相近.

2.3 土壤中的可提取量与蚯蚓蓄积 PAHs 量之间的关系

分别以正丁醇和 HPCD 溶液提取土壤中的 PAHs,与蚯蚓体内的 PAHs 浓度进行相关性分析,结果如图 4、5,从图 4 中可以看出,正丁醇对不同环数 PAHs 的提取量与蚯蚓体内 PAHs 的蓄积能力差异性较大,其中正丁醇对 3 环 PAHs 的提取量

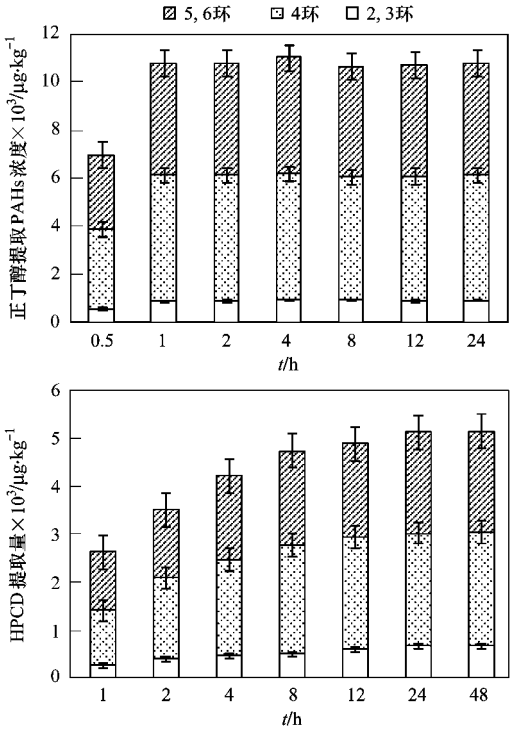

图 3 温和溶剂取量与时间之间的关系

Fig. 3 Relationship between concentrations of PAHs by mild solvent extraction and time

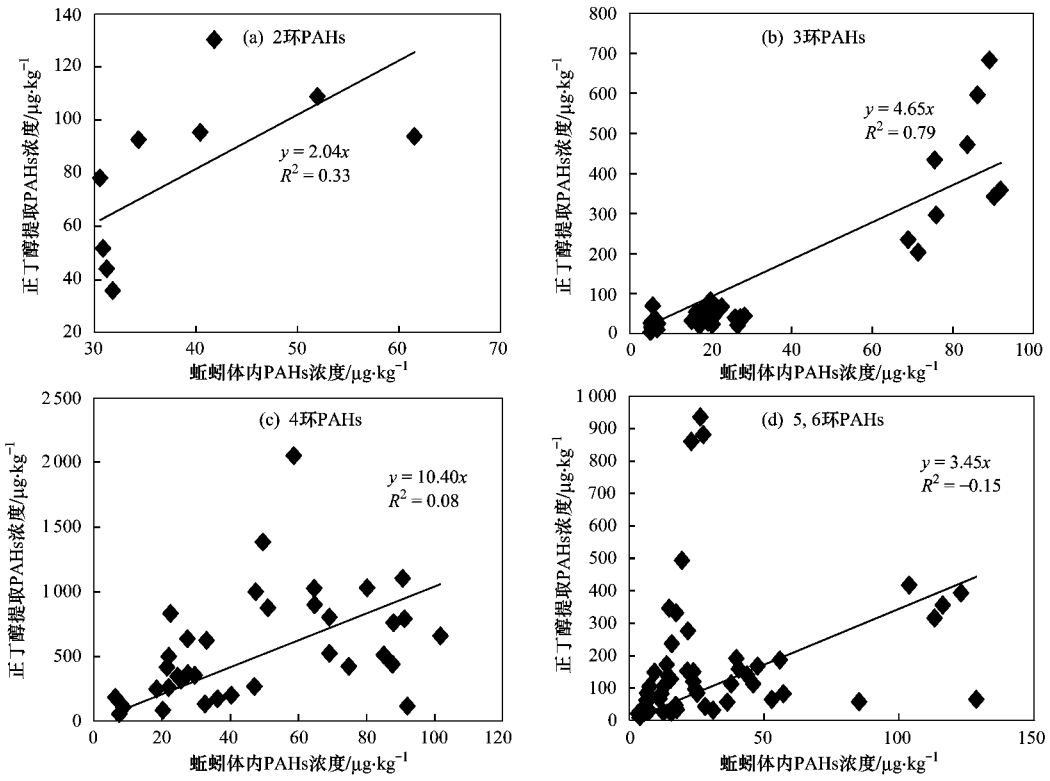

图 4 蚯蚓体内 PAHs 浓度与正丁醇提取土壤中 PAHs 浓度的相关系

Fig. 4 Relationship between correlation of PAHs concentrations in earthworm and in soils by n-bunatol extraction

与蚯蚓体内 PAHs 的蓄积量具有显著正相关(r^2 = 0.79),对 2 环 PAHs 的相关性次之(r^2 = 0.33);对中高环的 PAHs 的提取性与蚯蚓体内 PAHs 蓄积没有相关性. 实验结果与文献[13, 27]的研究结果相似,主要原因是由于低环 PAHs 易于从土壤体系中解吸,被蚯蚓蓄积,而高环 PAHs 由于其与土壤中有机质、黏粒等组分紧密结合,导致生物有效性差. 正丁醇属于一种提取效率较强的温和溶剂,它可以将土壤中 80% 左右的 PAHs 提取出来,对 PAHs 的环数没有选择性. 因此,对于场地中的低环 PAHs 来说,正丁醇可能是一种较合适的提取剂,可以通过可提取性来评价土壤中 PAHs 的生物有效性,而对于土壤中的高环 PAHs 来说,正丁醇提取评价法可能高估了土壤中 PAHs 的生物有效性.

从图 5 中可见,HPCD 提取法的效果与正丁醇类似,其中 HPCD 对 3 环 PAHs 的提取量与蚯蚓体内 PAHs 的蓄积量显著正相关(r^2 = 0.77),对 2 环 PAHs 的相关性次之(r^2 = 0.35);对 4 环以上的 PAHs 的提取性与蚯蚓体内 PAHs 蓄积性相关性较差. 这与 Cuypers 等[14]的研究结果不相符,他认为 HPCD 溶液能够很好地模拟土壤中不同环数 PAHs 的生物有效性.

分析产生不同研究结果的可能原因有以下 2 类:①土壤类型的差异:土壤中的有机质,以及土壤黏粒含量都可能影响其生物有效性,而不同地点的土壤性质千差万别. Cuypers 等[14]使用的土壤是荷兰阿姆斯特丹市某海港的砂土,本研究采用的是南京某工业区的粉土,相比较砂性土来说,粉土与土壤中的有机类物质结合更为紧密,从而降低生物有效性;②评价方法的不同: Cuypers 等[14]将 HPCD 提取的量与土壤中微生物的可降解量进行相关性分析,而本研究采用 HPCD 评价蚯蚓对 PAHs 的蓄积性生物有效性,对于高环 PAHs,可能会被作为底物直接矿化或者共代谢降解,而高环 PAHs 由于分子结构过于复杂,相对分子质量过大,难以透过细胞膜进入蚯蚓体内,一种是基于细菌可降解性的生物有效性,另一种是建立在蚯蚓可蓄积的生物有效性,两者的评价方法的差别也可能导致研究结果的不同.

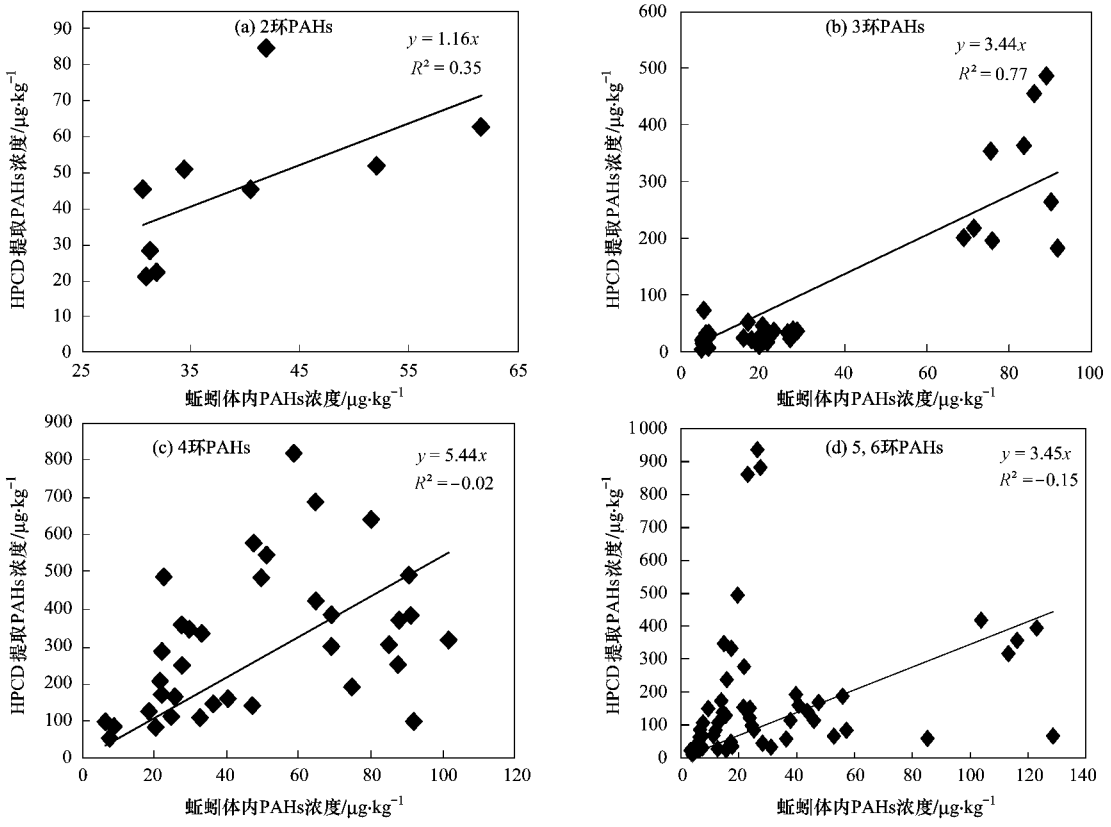

图 5　蚯蚓体内 PAHs 浓度与 HPCD 提取土壤中 PAHs 浓度的相关系

Fig. 5　Correlation of PAHs concentrations in earthworm and in soils by HPCD extraction

3 结论

(1)对于多年老化的场地污染土壤,低环 PAHs 的浓度较低,高环的 PAHs 浓度较高;而蚯蚓较易蓄积低环 PAHs,对高环 PAHs 蓄积能力较差.

(2)正丁醇和 HPCD 能够较好地预测老化场地的低环 PAHs 有效性,而对高环的 PAHs 的生物有效性的预测,与蚯蚓的蓄积量的相关性较差.

(3)综合以上研究结果,本研究可以初步认为,对于多年老化污染土壤中的 PAHs,温和溶剂提取可能并不一定是一个理想的预测方法,对于现在流行的很多温和溶剂的生物有效性预测方法,需要更进一步的研究,而不是仅仅直接将国外的研究结果拿来使用.

参考文献:

[1] 段永红,陶澍,王学军,等. 天津表层土壤中多环芳烃的主要来源[J]. 环境科学, 2006, **27**(3): 524-527.

[2] 尹春芹,蒋新,杨兴伦,等. 多环芳烃在土壤-蔬菜界面上的迁移与积累特征[J]. 环境科学, 2008, **29**(11):3240-3245.

[3] 王静,朱利中,沈学优. 某焦化厂空气中 PAHs 的污染现状及健康风险评价[J]. 环境科学, 2003, **24**(1):135-138.

[4] Yin C Q, Jiang X, Yang X L, *et al*. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils in the vicinity of Nanjing, China [J]. Chemosphere,2008, **73**(3): 389-394.

[5] Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants [J]. Environmental Science & Technology, 2000, **34**(20): 4259-4265.

[6] Richard G L, Richelle M A, Sally L B, *et al*. Bioavailability of contaminants in soils and sediments: processes, tools, and applications[M]. Washington, DC: The National Academies Press, 2003. 20-46.

[7] Semple K T, Doick K J, Jones K C, *et al*. Peer Reviewed: Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated [J]. Environmental Science & Technology, 2004, **38**(12): 228A-231A.

[8] Loehr R C. The environmental impact of soil contamination: Bioavailability, risk assessment, and policy implications [M]. Los Angeles, CA: Reason Foundation, 1996.

[9] Doick K J, Clasper P J, Urmann K, *et al*. Further validation of the HPCD-technique for the evaluation of PAH microbial availability in soil[J]. Environmental Pollution, 2006, **144**(1): 345-354.

[10] Krauss M, Wilcke W, Zech W. Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to earthworms in urban soils[J]. Environmental Science & Technology, 2000, **34**(20): 4335-4340.

[11] Parrish Z D, Whit J C, Isleyen M, *et al*. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species[J]. Chemosphere, 2006, **64**(4): 609-618.

[12] Tao S, Xu F, Liu W, *et al*. A chemical extraction method for mimicking bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to wheat grown in soils containing various amounts of organic matter [J]. Environmental Science & Technology, 2006, **40**(7): 2219-2224.

[13] Liste H, Alexander M. Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil [J]. Chemosphere, 2002, **46**(7): 1011-1017.

[14] 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[J]. Chemosphere, 2002, **46**(8): 1235-1245.

[15] Reid B J, Stokes J D, Jones K C, *et al*. Nonexhaustive cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability[J]. Environmental Science & Technology, 2000, **34**(15): 3174-3179.

[16] Tao Y Q, Zhang S Z, Wang Z J, *et al*. Biomimetic accumulation of PAHs from soils by triolein-embedded cellulose acetate membranes (TECAMs) to estimate their bioavailability [J]. Water Research, 2008, **42**(3): 754-762.

[17] Krauss M, Wilcke W. Biomimetic extraction of PAHs and PCBs from soil with octadecyl-modified silica disks to predict their availability to earthworms [J]. Environmental Science & Technology, 2001, **35**(19): 3931-3935.

[18] Lei L, Suidan M T, Khodadoust A P, *et al*. Assessing the bioavailability of PAHs in field-contaminated sediment using XAD-2 assisted desorption [J]. Environmental Science & Technology, 2004, **38**(6): 1786-1793.

[19] Hawthorne S B, Azzolina N A, Neuhauser E F, *et al*. Predicting bioavailability of sediment polycyclic aromatic hydrocarbons to *Hyalella azteca* using equilibrium partitioning, supercritical fluid extraction, and pore water concentrations [J]. Environmental Science & Technology, 2007, **41**(17): 6297-6304.

[20] Latawiec A E, Swindell A L, Reid B J. Environmentally friendly assessment of organic compound bioaccessibility using sub-critical water[J]. Environmental Pollution, 2008, **156**(2): 467-473.

[21] Tang J, Alexander M. Mild extractability and bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, **18**(12): 2711-2714.

[22] Swindell A L, Reid B J. Comparison of selected non-exhaustive extraction techniques to assess PAH availability in dissimilar soils [J]. Chemosphere, 2006, **62**(7): 1126-1134.

[23] Wang J M, Maier R M, Brusseau M L. Influence of hydroxypropyl-[beta]-cyclodextrin (HPCD) on the bioavailability and biodegradation of pyrene[J]. Chemosphere, 2005, **60**(5): 725-728.

[24] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1999.

[25] EPA/600/R-99/06, Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates[S].

[26] Maliszewska K B. Polycyclic aromatic hydrocarbons in

agricultural soils in Poland: preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination [J]. Applied Geochemistry, 1996, **11**(2): 121-127.

[27] Oleszczuk P. Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting[J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(1): 413-420.

[28] Gomez-Eyles J L, Collins C D, Hodson M E. Relative proportions of polycyclic aromatic hydrocarbons differ between accumulation bioassays and chemical methods to predict bioavailability[J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(1): 278-284.