

**Bożena Smreczak, Agnieszka Klimkowicz-Pawlas,
Barbara Maliszewska-Kordybach**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

BIODOSTĘPNOŚĆ TRWAŁYCH ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH (TZO) W GLEBACH*

Słowa kluczowe: biodostępność, zanieczyszczenie, gleba, ocena ryzyka, bioremediacja

Wstęp

Gleba jest elementem środowiska przyrodniczego, którego znaczenie było tradycyjnie postrzegane przez pryzmat przydatności dla rolnictwa, a jakość oceniana głównie z punktu widzenia produkcji rolniczej. Obecnie pogląd ten uległ istotnej zmianie. Podkreśla się wielofunkcyjność gleb i dostrzega potrzebę ich ochrony przed czynnikami, które powodują degradację środowiska glebowego. Dokument Unii Europejskiej, *Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby* (4) wskazuje na konieczność podjęcia przez państwa członkowskie zintegrowanych i wielokierunkowych działań w tym zakresie. Dokument podkreśla m.in. potrzebę ujednoczenia kryteriów wydzielenia obszarów, na których występują procesy degradujące gleby (obszary ryzyka), zaleca podjęcie badań naukowych w zakresie identyfikacji czynników wpływających m.in. na prawidłowe funkcjonowanie gleb oraz wskazuje potrzebę opracowania metod i technologii, które znajdą zastosowanie w rekultywacji terenów zdegradowanych i zdewastowanych.

Wśród głównych zagrożeń dla prawidłowego funkcjonowania środowiska glebowego *Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby* (4) wymienia zanieczyszczenie. Obecność w glebach wysokich stężeń zanieczyszczeń jest przede wszystkim związana z działalnością człowieka: przemysłem, wydobywaniem m.in. rud metali, transportem oraz praktykami rolniczymi np. stosowaniem nawozów organicznych i mineralnych, osadów ściekowych oraz środków ochrony roślin (20-22,

*Opracowanie zostało przygotowane częściowo w ramach realizacji tematu statutowego 4.10 oraz zadania 1.2 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

24, 25). Zanieczyszczenia emitowane do atmosfery (np. z przemysłu i gospodarstw domowych) są przenoszone na znaczne odległości i w końcowym etapie większość z nich gromadzi się w glebie (21, 22, 24) gdzie mogą powodować negatywne skutki nie tylko dla zdrowia człowieka, ale również dla wzrostu i rozwoju wielu grup organizmów żywych (17,23,24).

W glebach występują różne grupy zanieczyszczeń m.in. metale i związki organiczne. O ile zagadnienia dotyczące wpływu metali na biotyczne elementy środowiska glebowego zostały dość dobrze rozpoznane, to problemy dotyczące przemian i oddziaływania zanieczyszczeń organicznych są poznane w ograniczonym zakresie (25). Trwałe zanieczyszczenia organiczne (TZO) budzą zainteresowanie naukowców ze względu na swoje szerokie występowanie, dużą trwałość w środowisku glebowym wynikającą z ich silnych właściwości hydrofobowych oraz skomplikowane procesy, którym ulegają w układzie gleba-zanieczyszczenie (1, 8, 11, 20, 27, 31) oraz niekorzystne efekty jakie wywołują w stosunku do mikroorganizmów (17, 37), bezkręgowców (9, 13, 14) i roślin (9, 13).

TZO spotykane w glebach należą do wielu grup związków zróżnicowanych pod względem budowy chemicznej, właściwości fizyko-chemicznych, oddziaływań na organizmy żywe oraz podatności na rozkład mikrobiologiczny (25). Do grupy TZO zlicza się m.in. polichlorowane bifenylole (PCB), chloroorganiczne pestycydy (COP), polichlorowane dibenzofurany (PCDF), polichlorowane dibeno-p-dioksyny (PCDD) oraz wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Wiele związków z grupy TZO wykazuje właściwości mutagenne, teratogenne i kancerogenne (13, 22). Część z nich może akumulować się w tkance tłuszczowej organizmów żywych i przechodzić do łańcucha pokarmowego człowieka. TZO są słabo rozpuszczalne w wodzie, łatwo sorbowane przez glebową substancję organiczną i trudno rozkładane przez mikroorganizmy glebowe, dlatego wysokie stężenia tych związków spotykane są w glebach nawet dziesiątki lat od ich zastosowania lub emisji (26).

Jedną z najlepiej poznanych grup TZO są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Związki te składają się z co najmniej dwóch połączonych pierścieni benzenowych (21, 22, 25). Charakteryzują się występowaniem wielu izomerów danego związku, których ilość wzrasta wraz z liczbą pierścieni w cząsteczce (25). Badania prowadzone w wielu ośrodkach naukowych, również w IUNG-PIB w Puławach wykazały, że wysokie stężenia WWA mogą negatywnie oddziaływać na aktywność biologiczną gleb (17, 24, 36) oraz wpływać na wzrost i rozwój roślin (23).

W przepisach prawnych wielu krajów narażenie człowieka i ekosystemów na niekorzystne oddziaływanie TZO jest oceniane na podstawie oznaczeń tzw. całkowitej zawartości poszczególnych związków lub/i ich sumy (2, 15, 21). Coraz częściej zwraca się uwagę na fakt, że jest to niewłaściwy parametr oceny, ponieważ tylko określona frakcja zanieczyszczeń, rozpuszczona w roztworze glebowym i nie związana z frakcją stałą gleby, może przemieszczać się do wód gruntowych lub być pobierana przez

organizmy żywe (2, 7, 35, 40). Frakcja zanieczyszczeń, która ulega bioakumulacji, a następnie przemianom w organizmach żywych jest określana jako frakcja biodostępna i ma obecnie największe znaczenie w badaniach nad oddziaływaniem TZO w glebach (3, 34).

Powstanie różnych koncepcji i definicji biodostępności, zapoczątkowało w wielu ośrodkach naukowych za granicą m.in. Holandii (5, 6, 9, 10, 14, 32, 40), Wielkiej Brytanii (28, 33, 35) i USA (16, 18, 31, 40) badania nad opracowaniem chemicznych metod oznaczania biodostępnej frakcji zanieczyszczeń organicznych w glebach. Prace badawcze poświęcone biodostępności są podejmowane od wielu lat również w IUNG-PIB w Puławach i dotyczą wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA). Badania te koncentrują się na ocenie wpływu parametrów glebowych na zawartość frakcji biodostępnej w glebach świeżo i historycznie zanieczyszczonych WWA (35, 36, 39) oraz możliwości wykorzystania chemicznych metod oznaczeń frakcji biodostępnej w analizie ryzyka ekologicznego (17).

Biodostępność TZO w środowisku glebowym jest zagadnieniem bardzo złożonym i odnosi się do skomplikowanych interakcji pomiędzy glebą, zanieczyszczeniem i organizmami żywymi (34). Na biodostępność TZO wpływają procesy fizykochemiczne zachodzące w glebach, procesy fizjologiczne związane z pobieraniem zanieczyszczeń przez organizmy żywe oraz procesy toksykologiczne odnoszące się do przemian zanieczyszczeń wewnątrz organizmów (34). Obecnie w wielu opracowaniach (2, 3, 13, 34) podkreśla się potrzebę standaryzacji koncepcji biodostępności oraz ujednoczenia chemicznych metod jej pomiaru (3).

Biodostępność TZO w glebach jest przedmiotem zainteresowania przede wszystkim naukowców, ale od niedawna stała się również ważnym zagadnieniem dla decydentów odpowiedzialnych za ochronę środowiska, ponieważ coraz częściej jest postrzegana jako ważne kryterium oceny poziomu zanieczyszczenia gleb. Celem opracowania jest przedstawienie obecnego stanu wiedzy dotyczącej biodostępności TZO w glebach z uwzględnieniem czynników, które wpływają na zawartość frakcji biodostępnej, chemicznych metod jej oceny oraz zastosowania biodostępności zanieczyszczeń w analizie ryzyka ekologicznego i bioremediacji. Najlepiej poznaną grupą związków należących do TZO są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), dlatego zagadnienia poruszane w treści pracy w największym zakresie dotyczą tej grupy związków.

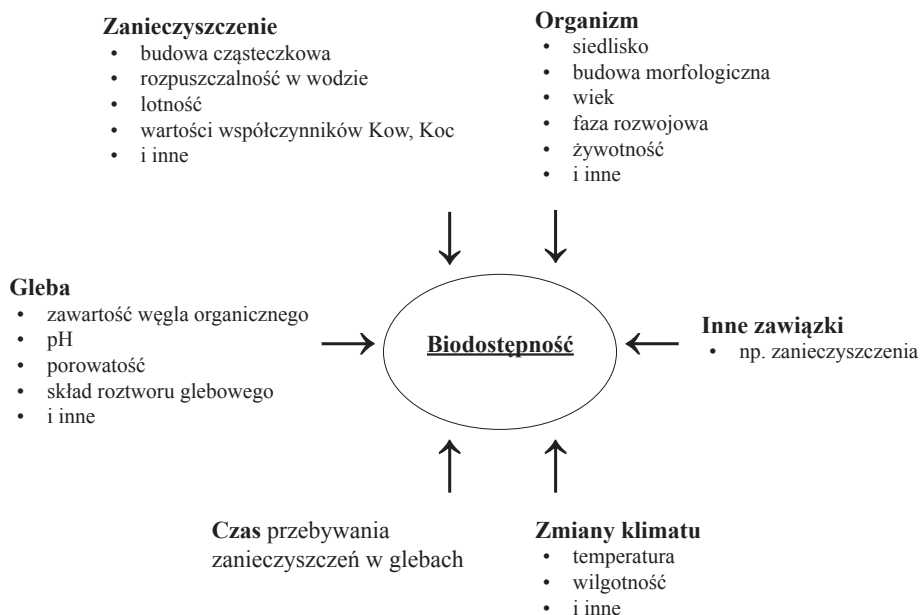
Koncepcje biodostępności TZO w glebach

Pojęcie biodostępności jest stosowane od dawna w farmakologii oraz toksykologii i dotyczy przyswajalności substancji leczniczych przez organizmy żywe (26). W chemii rolnej biodostępność wiąże się głównie z pobieraniem składników pokarmowych przez rośliny uprawne. W chemii środowiska i ekotoksykologii koncepcja biodostępności wywodzi się z obserwacji, że niekorzystne efekty wywoływane przez zanieczyszczenia

organiczne w stosunku do organizmów żywych nie zależą od całkowitej ilości tych związków, a tylko pewnej części, która może być pobrana przez organizmy żywe i jest określana jako frakcja biodostępna (2, 7, 10,).

W literaturze naukowej trudno znaleźć definicję biodostępności, która byłaby powszechnie akceptowana i obejmowała wszystkie aspekty dotyczące tego zagadnienia (7,29). Prezentowane są natomiast różne podejścia i interpretacje, które pomagają w zrozumieniu biodostępności, jako wieloetapowego i skomplikowanego procesu zachodzącego w czasie, w układzie gleba-związek-organizm żywy (29). Część definicji bardziej uwypukla aspekt dotyczący interakcji zanieczyszczenie-organizm żywy, inne natomiast w większym stopniu koncentrują się na zagadnieniach zależności w układzie zanieczyszczenie-gleba (3,7).

Według N a i d u i i n. (26) biodostępność zanieczyszczeń w glebach jest określana jako maksymalna ilość związku, która jest dostępna dla organizmów żywych, w określonym przedziale czasowym. F i r s h e i i n. (7) podkreślają, że jest to proces, który zależy od wielu czynników: właściwości związku, właściwości gleby, biologii organizmu oraz wpływu warunków klimatycznych – rysunek 1.



Rysunek 1. Czynniki wpływające na biodostępność TZO w glebach

Źródło: opracowanie własne wg. (7).

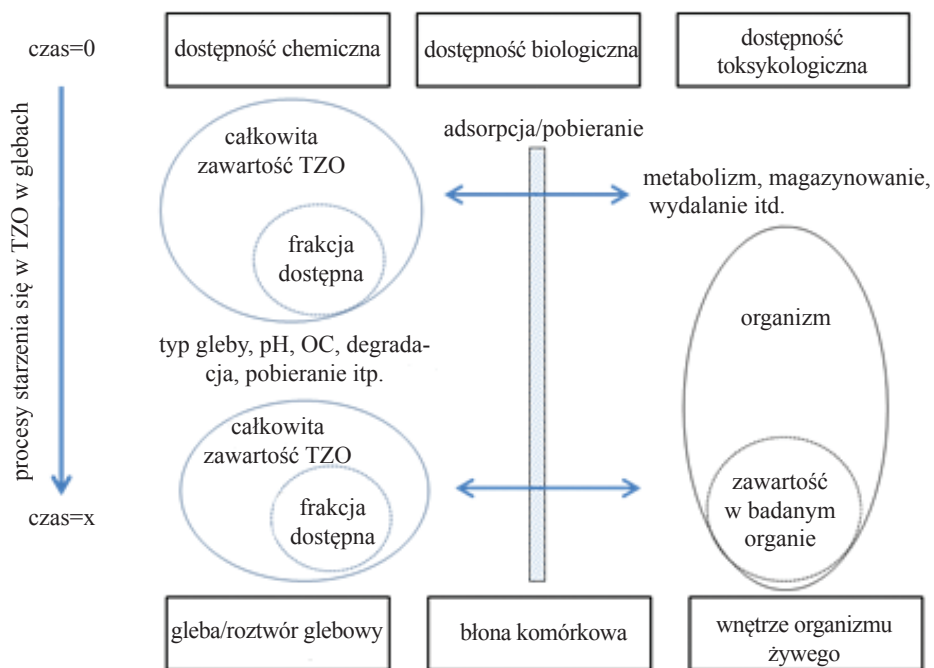
S e m p l e i i n. (35) uważają, że podstawowa koncepcja biodostępności opisuje dwa odrębne zjawiska tj. biodostępność rzeczywistą (ang. *bioavailability*) i biodostępność potencjalną (ang. *bioaccessibility*), rozpatrywane jako proces przechodzenia zanieczyszczeń do organizmów żywych, zależny od czasu ekspozycji.

Biodostępność rzeczywista według Semple i wsp. (35) odnosi się do frakcji związków, która łatwo przenika przez błony cytoplazmatyczne w określonym przedziale czasu, ponieważ opisana jest przez stężenie związków rozpuszczonych w roztworze glebowym. Natomiast biodostępność potencjalna określa frakcję zanieczyszczeń, która może być pobierana przez dłuższy okres czasu, o ile organizm będzie mieć do nich dostęp np. zanieczyszczenia związane w glebie, które mogą po pewnym czasie ulegać desorpcji (35).

Reichenberg i Mayer (32) wyróżniają dwa procesy, które głównie dotyczą fizykochemicznych aspektów biodostępności zanieczyszczeń: aktywność chemiczną i biodostępność potencjalną (ang. *bioaccessibility*). Aktywność chemiczna określa potencjał zanieczyszczeń do ulegania różnym procesom zachodzącym w glebach m.in. podziałowi pomiędzy fazę stałą i ciekłą, sorpcji i dyfuzji. Zakres i szybkość tych procesów zależą od właściwości związków i ich zawartości w roztworze glebowym. Biodostępność potencjalna odnosi się natomiast do frakcji zanieczyszczeń, które są słabo zabsorbowane w glebie i mogą szybko ulegać desorpcji do fazy wodnej (32).

Jensen i Mesman (13) uważają, że biodostępność jest procesem dynamicznym, na który składają się trzy fazy (rys. 2). Pierwsza z nich określana jest jako *dostępność chemiczna* i zależy od procesów fizyko-chemicznych zachodzących w glebie np. adsorpcji, desorpcji czy dyfuzji oraz właściwości gleb i zanieczyszczeń. Drugą fazą jest *dostępność biologiczna* związana z pobieraniem zanieczyszczeń przez organizmy żywe, która w największym stopniu zależy od ich anatomii, nawyków żywieniowych i fazy rozwoju. Trzecia faza – *dostępność toksykologiczna* – obejmuje procesy transportu związków wewnątrz organizmu i wiąże się z intensywnością metabolizmu, detoksyfikacją czy wydalaniem.

Podobna koncepcja biodostępności jako wieloetapowego procesu została przedstawiona w normie ISO 17402: *Soil quality – requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials* (12) oraz przyjęta przez zespół ekspertów z Holandii (2) opracowujących naukowe podstawy nowych regulacji prawnych z włączeniem pojęcia biodostępności. W opracowaniach tych (2, 12) wyróżniane zostały trzy fazy związane z biodostępnością zanieczyszczeń: dostępność środowiskowa (ang. *environmental availability*) określająca ilość zanieczyszczeń dostępną w środowisku glebowym; biodostępność środowiskowa (ang. *environmental bioavailability*), która wskazuje na ilość pobraną przez organizmy żywe i biodostępność toksykologiczna (ang. *toxicological bioavailability*) związana z akumulacją i/lub efektem wywołanym przez zanieczyszczenia.



Rysunek 2 Schemat przedstawiający dostępność chemiczną, biologiczną i toksykologiczną i procesy, które na nie wpływają

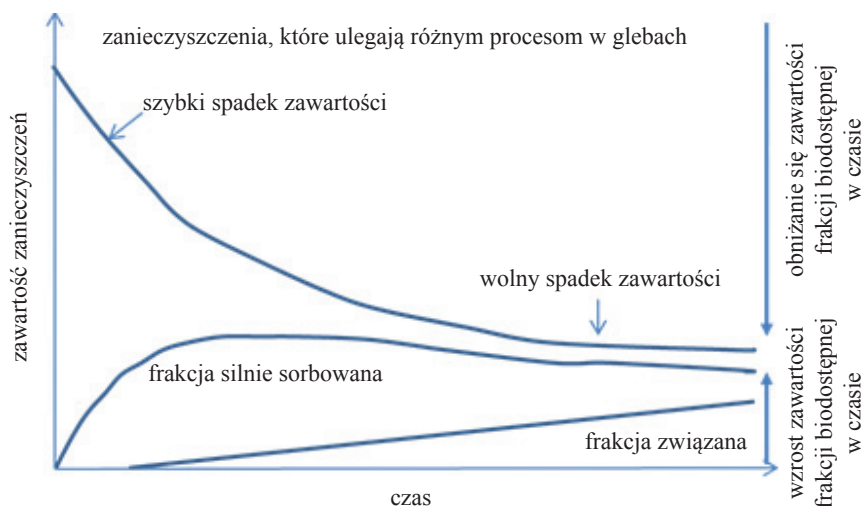
Źródło: opracowanie własne wg (13).

W praktyce trudność w ocenie biodostępności polega na tym, że pobieranie zanieczyszczeń, metabolizm wewnątrz komórki czy wydalanie jest cechą gatunkową, a nawet osobniczą, związaną z fazą wzrostu i rozwoju badanych organizmów, co powoduje, że proste zdefiniowanie biodostępności w stosunku do wszystkich grup organizmów glebowych jest bardzo trudne (29). Pomimo swojej złożoności, koncepcje biodostępności zanieczyszczeń organicznych w glebach stanowią teoretyczne podstawy badań, których celem jest opracowanie chemicznych metod oznaczania rzeczywiście i potencjalnie biodostępnej frakcji TZO.

Czynniki wpływające na biodostępność TZO w glebach

Jednym z najważniejszych czynników, który wpływa na zawartość zanieczyszczeń organicznych we frakcji biodostępnej są właściwości gleb (1, 8, 11, 15, 25, 30, 31, 40, 41), w tym przede wszystkim zawartość i charakter glebowej substancji organicznej (41), wielkość i struktura porów glebowych (1), zawartość minerałów ilastych i tlenków żelaza i manganu (11, 20, 41). Trwałość TZO w środowisku glebowym zależy też od czynników klimatycznych np. temperatury oraz intensywności parowania (33), wilgotności (33, 34), a w przypadku gleb z obszarów rolniczych również od sposobu ich użytkowania (21, 25). O biodostępności zanieczyszczeń decydują również ich właściwości fizyko-chemiczne (11, 20, 30).

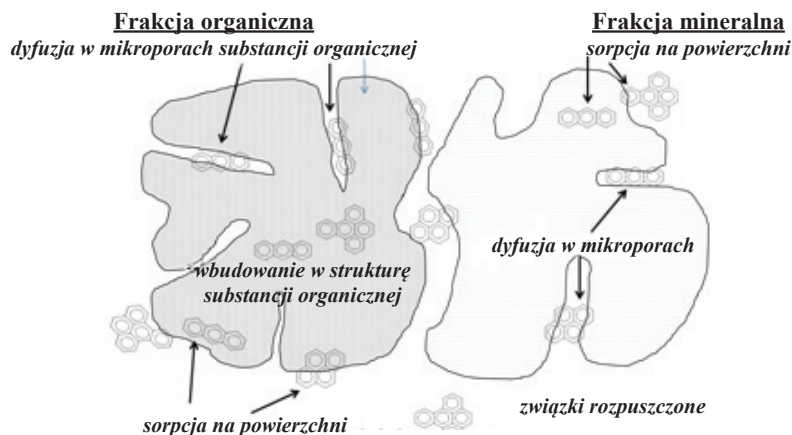
W doświadczeniach nad degradacją WWA w glebach obserwuje się najczęściej dwufazowy przebieg tego procesu: początkowy bardzo szybki spadek zawartości zanieczyszczeń i następujący po nim powolny rozkład (34, 35) – rysunek 3.



Rysunek 3. Dwufazowy przebieg rozkładu WWA w glebach oraz zmiany biodostępności tych związków z zależności od czasu kontaktu z glebą

Źródło: na podstawie Riding i in. (34).

W miarę upływu czasu TZO, zaczynają ulegać w glebie różnym procesom m.in. sorpcji, sekwestracji pomiędzy fazę ciekłą i stałą oraz starzeniu się zanieczyszczeń (ang. *aging*), które prowadzi m.in. do tworzenia się silnych wiązań ze składnikami gleby oraz dyfuzji zanieczyszczeń do wnętrza mikro porów glebowych (25, 35, 41, 42) – rysunek 4. Cząsteczki zanieczyszczeń, które uległy procesowi starzenia, a nie ulegną desorpcji do fazy wodnej, pozostaną niedostępne dla większości organizmów glebowych (poza bezkręgowcami, które bezpośrednio spożywają glebę).



Rysunek 4. Procesy starzenia się zanieczyszczeń w glebach

Źródło: wg Semple i in. (35).

W glebach po pewnym czasie tworzy się również tzw. pozostałość związana, którą stanowią zanieczyszczenia trwale związane i wbudowane w struktury substancji organicznej (25, 41). Nie mają one większego znaczenie przy ocenie biodostępności zanieczyszczeń. Im silniej WWA są zatrzymywane przez frakcję stałą gleby, tym trudniej ulegają desorpcji i mniejsza ilość tych związków znajduje się w roztworze glebowym, a tym samym zmniejsza się ich zawartość we frakcji biodostępnej (41).

Jensen i Mesman (13) wymieniają cztery procesy, które decydują o trwałości zanieczyszczeń organicznych w glebach: adsorpcja na powierzchni minerałów, absorpcja i adsorpcja przez substancję organiczną, dyfuzja do wnętrza micro porów glebowych oraz zamykanie/zakleszczanie cząsteczek zanieczyszczeń wewnątrz struktur glebowych (rys. 4). Zakres i szybkość przebiegu tych procesów jest trudny do przewidzenia ze względu na zróżnicowanie właściwości gleb, właściwości związków i czasu kontaktu zanieczyszczeń z glebą.

Głównym procesem, który ogranicza biodostępność TZO w glebach jest sorpcja (20, 25, 41, 42). Ze względu na swój hydrofobowy charakter zanieczyszczenia organiczne są silniej sorbowane przez substancję organiczną w porównaniu do frakcji mineralnej (11, 40). W glebach, w tym samym czasie zachodzi również desorpcja zanieczyszczeń, która zdaniem Wilsona i Naidu (41) ma przebieg dwufazowy. W pierwszej fazie następuje szybkie uwalnianie się związków do roztworu glebowego, natomiast w drugiej powolna desorpcja zanieczyszczeń. Rozpoznanie procesów, które wpływają na powolną desorpcję TZO w glebach jest niezbędne dla właściwej oceny zawartości frakcji biodostępnej. Pignatello i Xing (31) zaproponowali dwie hipotezy na podstawie, których próbowali wyjaśnić mechanizmy wpływające na powolną sorpcję i desorpcję zanieczyszczeń organicznych w glebach. Autorzy (31) stwierdzili, że materia organiczna wykazuje różnice w budowie i ma obszary mniej i bardziej skondensowane. W obszarach o mniej skondensowanej budowie zachodzi szybka i odwracalna dyfuzja zanieczyszczeń, natomiast obszary bardziej skondensowane posiadają przestrzenie, w których zanieczyszczenia mogą ulegać sorpcji i zamknięciu wewnątrz tych struktur, co powoduje ograniczenie desorpcji związków do roztworu glebowego. Druga z hipotez mówi, że dyfuzja zanieczyszczeń do roztworu glebowego jest ograniczona poprzez sorpcję związków na powierzchni porów glebowych, które mogą znajdować się wewnątrz struktur materii organicznej. Według Pignatello i Xing'a (31) proces dyfuzji zależy m.in od wielkości porów wewnątrz mineralnej i organicznej frakcji gleby oraz ich układu i budowy. Zdaniem Wilsona i Naidu (41) oba mechanizmy prawdopodobnie zachodzą w glebach jednocześnie, a intensywność sorpcji i desorpcji zanieczyszczeń zależy w dużym stopniu od czynników glebowych.

Substancja organiczna (SO) w glebach charakteryzuje się niejednorodną budową i jest mieszaniną różnych komponentów pochodzenia naturalnego (kwasy huminowe, kwasy fulowe, huminy i kerogen) oraz antropogenicznego (m.in. sadza i produkty niepełnego spalania paliw stałych i płynnych) (41). Siła z jaką poszczególne frakcje SO

sorbują m.in. WWA jest różna i zależy od budowy i właściwości tych frakcji. Kerogen i sadza wykazują silniejsze właściwości sorpcyjne w stosunku do zanieczyszczeń organicznych w porównaniu do humin czy kwasów huminowych (41). Sadza i produkty niepełnego spalania paliw stałych i płynnych sorbuje zanieczyszczenia organiczne głównie na powierzchni cząstek, podczas gdy kerogen ze względu na porowatą budowę, może dodatkowo absorbować zanieczyszczenia w przestrzeniach wewnątrzcząsteczkowych (42). Z h a n g i i n. (42) badali mechanizmy sorpcji i desorpcji benzenu i fenentrenu z wykorzystaniem próbek kerogenu o zróżnicowanych właściwościach chemicznych, strukturze i porowatości. Badania Z h a n g' a i i n. (42) wykazały, że benzen i fenantren wypełniały odpowiednio 23-46% i 36-65% całkowitej powierzchni sorpcyjnej kerogenu, co pozwoliło m. in. na stwierdzenie, że migracja związków w mikroporach różnych substancji wchodzących w skład gleby jest istotnym mechanizmem w procesach sorpcji trwałych zanieczyszczeń organicznych.

Wzajemna proporcja poszczególnych frakcji SO oraz ich budowa w istotny sposób wpływa na desorpcję zanieczyszczeń, a tym samym na ich dostępność w glebach (40). Substancja organiczna w glebie ulega również przemianom chemicznym, fizycznym i biologicznym, co w konsekwencji oddziałuje zarówno na trwałość i biodostępność TZO w glebach. Według J u h a s z a (15) zmiany w budowie substancji organicznej, które następują w czasie, związane z zwiększeniem udziału związków aromatycznych w strukturze SO, mogą powodować silniejszą sorpcję trwałych zanieczyszczeń organicznych (15). Ważną rolę w tych procesach pełni również część substancji organicznej rozpuszczalna w roztworze glebowym, która ogranicza reakcję znajdujących się w nim zanieczyszczeń z innymi organicznymi i organiczno-mineralnymi komponentami frakcji stałej gleby (20).

W badaniach nad biodostępnością TZO w glebach definiuje się umownie pewne frakcje operacyjne, które są wyróżniane na podstawie szybkości desorpcji: związki rozpuszczone w roztworze glebowym i słabo związane stanowią frakcję aktualnie biodostępną, zanieczyszczenia szybko desorbujące i silnie związane w glebie określa się jako frakcję potencjalnie biodostępną (15), natomiast związki wbudowane w struktury substancji organicznej jako frakcję niedostępną.

Istotnym czynnikiem, który wiąże się z dostępnością TZO w glebach są właściwości związków m.in. rozpuszczalność w wodzie, lotność, wielkość cząsteczki, kształt oraz występowanie różnych podstawników w cząsteczce (40). N o r t h c o t t i J o n e s (28) wykazali, że ilość WWA zatrzymywanych przez substancję organiczną zależała od właściwości tych związków i wzrastała wraz ze wzrostem wartości współczynnika podziału oktanol-woda.

Metody oznaczania biodostępnej frakcji TZO w glebach

Biodostępna frakcja zanieczyszczeń organicznych w glebach może być oznaczana z wykorzystaniem testów biologicznych oraz procedur chemicznych (3).

W zakresie metod biologicznych oznaczanie zawartości związków w tkankach badanych organizmów jest najlepszym, bezpośrednim wskaźnikiem biodostępności zanieczyszczeń. W badaniach akumulacji zanieczyszczeń organicznych wykorzystuje się wybrane grupy organizmów glebowych, które bezpośrednio poddaje się oddziaływaniu zanieczyszczonych gleb (2,13). Stopień akumulacji TZO w tkankach organizmów testowych lub jego organach świadczą o tym, że zanieczyszczenia w glebie występują w formie biodostępnej. Testy biologiczne na ogół są czasochłonne, pracochłonne i drogie oraz mogą być obciążone błędem (10), który wynika z faktu, że w tkankach badanych organizmów oznacza się przede wszystkim związki wyjściowe, podczas gdy zanieczyszczenia organiczne mogą ulegać przemianom i przechodzić w różnego rodzaju metabolity (10).

Biodostępność WWA może być również oceniana w sposób pośredni na podstawie ich oddziaływania na organizmy, np. zmian we wzroście, zahamowania procesów enzymatycznych czy zmian aktywności mikroorganizmów glebowych (2, 13, 17, 23, 24, 36). Tego typu testy, chociaż są powszechnie stosowane w badaniach ekotoksykologicznych nie dostarczają informacji dotyczącej stężenia zanieczyszczeń, które ten efekt wywołało.

Od wielu lat w różnych ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad opracowaniem chemicznych metod oceny ilościowej i jakościowej TZO we frakcji biodostępnej (5,10,13,18,34). Do najczęściej stosowanych metod należą m.in. łagodna ekstrakcja rozpuszczalnikami, ekstrakcja do fazy stałej z zastosowaniem różnych adsorbentów np. Tenaxu-TA czy β -cyklodekstryn oraz ekstrakcja nadkrytyczna. W przypadku procedur chemicznych przyjmuje się założenie, że muszą one imitować dostępność zanieczyszczeń dla wybranego organizmu testowego (2, 13). W praktyce oznacza to, że aby wyniki testów chemicznych były zaakceptowane jako odpowiednie do oceny biodostępności dla danej grupy organizmów glebowych winny być skorelowane z wynikami, np. testów ekotoksykologicznych, a w przypadku oceny efektywności z zakresem rozkładu mikrobiologicznego (10, 12). Niestety w praktyce są to zagadnienie złożone i uzyskanie istotnych bezpośrednich zależności bywa bardzo trudne.

Jedną z pierwszych chemicznych metod, która została wykorzystana do oznaczeń biodostępnej frakcji WWA była tzw. łagodna ekstrakcja rozpuszczalnikami (19, 34). Metoda ta polega na ekstrakcji próbek glebowych przy użyciu wybranego pojedynczego rozpuszczalnika organicznego, głównie alkoholu np. n-butanolu, n-propanolu, etanolu lub metanolu oraz octanu etylu czy acetonu z dodatkiem lub bez dodatku odpowiedniej ilości wody (37). W metodzie łagodnej ekstrakcji możliwe jest także zastosowanie sekwencji wielu różnych rozpuszczalników.

Pomimo, że łagodna ekstrakcja rozpuszczalnikami jest metodą łatwą w zastosowaniu, ma ona jednak wiele ograniczeń np. efektywność ekstrakcji zależy od temperatury, w której przebiega proces oraz proporcji pomiędzy np. wodą, a rozpuszczalnikiem organicznym. Oznaczenia zawartości frakcji

biodostępnej WWA z wykorzystaniem łagodnej ekstrakcji rozpuszczalnikami prowadzili m.in. Tang i Alexander (40), Listei i Alexander (18) i Kesley i in. (16).

Tang i Alexander (40) stwierdzili, że zawartość antracenu, fenantrenu i pirenu w dżdżownicach (*Eisenia foetida*) była silnie skorelowana (wartości współczynników korelacji w zakresie 0,911-0,992) z ilością WWA we frakcji biodostępnej oznaczonej przy użyciu n-butanolu, propanolu i octanu etylu. Listei i Alexander (18) wykazali, że ilość fenantrenu i pirenu wyekstrahowana z gleby przy użyciu n-butanolu opisywała >97% zakres rozkładu tych związków w glebach bez uprawy roślin i z uprawianymi roślinami. Autorzy (18) wykorzystali także ekstrakcję n-butanolem do opisu biodostępności pirenu i chryzenu dla dżdżownic.

Bardzo obiecującą techniką oznaczeń biodostępności TZO w glebach jest ekstrakcja do fazy stałej z wykorzystaniem: pasywnych próbników (ang. *passive samplers*) oraz hydrofobowych adsorbentów np. Tenax'u-TA i β -cyklodekstryn (HPCD). Teoretyczną podstawą dla tych metod jest tzw. „teoria podziału równowagowego” (ang. *equilibrium partitioning theory*) (7), która została pierwotnie opracowana dla osadów, ale ma również zastosowanie do gleb ze względu na podobieństwo obu matryc. Z teorii podziału równowagowego wynika, że ilość zanieczyszczeń, która została pobrana przez organizm żywy jest wprost proporcjonalna do ilości zanieczyszczeń rozpuszczonych w roztworze wypełniającym pory glebowe, z którym organizmy żywe mają bezpośredni kontakt.

Pasywne próbniiki to różnego rodzaju polimery o małej gęstości, do których dyfundują zanieczyszczenia z roztworu glebowego. Są to m.in. polietylen o małej gęstości (ang. *low density polyethylene* – LDPE), polioxymetylen (ang. *polyoxymethylene* – POM), polidimetylosiloxan (ang. *polydimethylsiloxane* – PDMS) i guma silikonowa. Polimery absorbują m. in. WWA, a w wyniku ekstrakcji np. heksanem, zanieczyszczenia są z nich odzyskiwane (2, 9, 14, 39). Metoda z wykorzystaniem pasywnych próbników polega na wytrząsaniu przez określony czas w wodnej zawieszynie gleby odpowiednio przygotowanych polimerów (14, 32, 39). W zależności od przyjętej procedury, proces ten trwa od kilku dni do kilku tygodni tj. do czasu wytworzenia się stanu równowagi zawartości zanieczyszczeń pomiędzy fazą stałą i wodną (2, 14, 32, 39). Technika ta może mieć także zastosowanie w badaniach toksykologicznych i analizie ryzyka, ponieważ ilość np. WWA zaabsorbowana przez polimery odpowiada stężeniu tych związków w roztworze glebowym (biodostępność rzeczywista) i daje możliwość oceny aktualnego narażenia organizmów glebowych na oddziaływanie zanieczyszczeń organicznych (14, 32, 39).

Ekstrakcja z Tenaxem była szeroko stosowana do oceny kinetyki desorpcji m.in. WWA i PCB z osadów (5, 10), a obecnie jest wykorzystywana do oznaczeń potencjalnie biodostępnej frakcji tych związków w glebach (2, 13, 35, 36). Tenax jest to porowaty, hydrofobowy polimer (tlenek 2,6-difenyl-p-fenyleny) używany również do wypełniania kolumn chromatograficznych. Zasada metody polega na wytrząsaniu

wodnej zawiesiny gleby z Tenaxem, co powoduje desorpcję zanieczyszczeń z gleby do fazy wodnej, a następnie ich adsorpcję na polimerze. Czas wytrząsania próbki, który może trwać nawet kilka dni decyduje o tym jakie frakcje są oznaczane. Po 20-24 godzinach wytrząsania ocenia się zawartość frakcji szybko desorbujących z gleby, natomiast po dłuższym czasie ekstrakcji związki wolno i bardzo wolno desorbujące. Procedurę oceny biodostępności WWA z wykorzystaniem Tenaxu stosowali m.in. H a r m s e n (10) i C o r n e l i s s e n (5), korelując wyniki oznaczeń chemicznych z zakresem rozkładu WWA w osadach. W badaniach S m r e c z a k i i n. (36) metoda ta była stosowana do oceny rzeczywiście biodostępnej frakcji fenantrenu w trzech glebach świeżo zanieczyszczonych tym związkiem. Wyniki oznaczeń chemicznych w >80 % opisywały zmiany potencjału nityfikacji.

Oznaczanie frakcji biodostępnej z zastosowaniem wodnego roztworu β -cyklodekstryn (hydroxypropyl- β -cyklodekstryna) - HPCD w zasadzie przypomina ekstrakcję do fazy stałej, ale zamiast stałego złoża rolę adsorbentu spełniają cząsteczki węglowodanów (2, 34). Wnętrze cząstek cyklodekstryn ma charakter hydrofobowy i adsorbuje zanieczyszczenia tworząc przeważnie kompleks 1:1, natomiast zewnętrzna powierzchnia cząsteczek ma charakter hydrofilowy, co powoduje, że cyklodekstryny są rozpuszczalne w wodzie. Dzięki zdolności do selektywnego zatrzymywania cząsteczek zanieczyszczeń, technika ta może być stosowana do oznaczeń potencjalnie biodostępnej frakcji m.in. WWA w różnych typach gleb, również bogatych w węgiel organiczny (2). Metodę tę stosowali m.in. R e i d i n . (33) i C u i y p e r s i n. (6), którzy badali zależności pomiędzy ilością biodostępnego fenantrenu oznaczonego za pomocą ekstrakcji roztworem β -cyklodekstryn, a stopniem mineralizacji tego związku w glebach.

Szczegółowy przegląd chemicznych metod pomiaru zawartości frakcji biodostępnej w glebach został zamieszczony m.in. w pracy R i d i n g' a i i n. (34) i C a c h a d a i i n. (3).

Dotychczasowe badania wskazują, że biodostępność zanieczyszczeń w glebach zależy od cech organizmów i jest specyficzna dla rodzaju, gatunku, a nawet poszczególnych osobników, dlatego opracowanie jednej uniwersalnej procedury chemicznej wydaje się być mało realne. Należy przypuszczać, że ocena biodostępności zanieczyszczeń na terenach zanieczyszczonych opierać się będzie na zastosowaniu wielu testów dostosowanych do specyfiki terenu i celu opracowania (2).

Koncepcja biodostępności w biodegradacji i ocenie ryzyka ekologicznego

W wielu krajach Europy, również w Polsce, całkowita zawartość zanieczyszczeń w glebach stanowi podstawowe kryterium oceny zagrożenia dla prawidłowego funkcjonowania ekosystemów glebowych, co często prowadzi do przeszacowania lub niedoszacowania ryzyka. W rzeczywistości powoduje to poważne konsekwencje finansowe i środowiskowe, ponieważ decyzja o przeprowadzeniu remediacji podjęta

w oparciu o niezbyt wiarygodne kryteria może doprowadzić do wykonania zabiegów w glebach, które jej nie wymagają, a nie uwzględnić tych, dla których zabiegi naprawcze są niezbędne. Brand i wsp. (2) podkreślają, że obecność wysokich stężeń TZO w glebach nie może być jedynym kryterium wydzielenia terenów zanieczyszczonych, gdyż pod uwagę należy brać rzeczywiste narażenie receptorów biologicznych na oddziaływanie zanieczyszczeń.

Wprowadzenie oznaczeń biodostępności TZO do przewidywania efektywności bioremediacji jest ciągle w fazie rozważań teoretycznych oraz wstępnych eksperymentów (23, 34). W tym zakresie wiele pytań pozostaje bez odpowiedzi, m.in. czy i po jakim czasie zanieczyszczenia silnie związane w glebie zostaną uwolnione do roztworu glebowego i jakie czynniki mogą wpływać na ten proces, czy ocena frakcji biodostępnej odpowiada rzeczywistej ilości zanieczyszczeń organicznych, która może zostać rozłożona w glebie i w jakim przedziale czasowym. Potrzebę tego typu badań wskazują prace Cornelisena (5), Harmse na (10) oraz Smreczak i Maliszewska - Kordybach (37), którzy badali zawartość słabo desorbujących frakcji WWA za pomocą wieloetapowej procedury z Tenaxem, stosując różne temperatury ekstrakcji. Smreczak i Maliszewska - Kordybach (37) badały desorpcję WWA w pięciu glebach historycznie zanieczyszczonych tymi związkami stosując dwie temperatury: 20°C i 60°C. Ekstrakcja w niższej temperaturze miała na celu desorpcję WWA słabo związanych w glebie (aktualnie biodostępnych), natomiast w wyższej temperaturze - zanieczyszczeń silniej związanych z fazą stałą (potencjalnie biodostępnych). Badania wykazały, że wzrost temperatury powodował desorpcję frakcji silnie związanej, co wskazuje na ryzyko uwalniania się zanieczyszczeń do roztworu glebowego w przyszłości. We frakcji potencjalnie biodostępnej dominowały WWA zawierające > 4 pierścienie w cząsteczce, bardziej odporne na rozkład mikrobiologiczny.

Jednym z pierwszych krajów, w którym zostały podjęte działania zmierzające do wdrożenia oznaczeń biodostępności zanieczyszczeń organicznych do procedur oceny ryzyka ekologicznego jest Holandia (2). W 2008 r. Holenderski Komitet Techniczny do Spraw Ochrony Gleb (TCB) wydał specjalny raport dotyczący tego zagadnienia („*Advice on ecological underpinning of soil quality standards*”) (za Brand i wsp. (2)), a w 2012 r. ukazało się opracowanie „*Advice on implementing bioavailability in the Dutch soil policy framework*” (2), w którym są przedstawione koncepcje wdrożenia biodostępności do analizy ryzyka ekologicznego oraz opis najbardziej obiecujących chemicznych metod oznaczeń frakcji biodostępnej. Autorzy opracowania (2) proponują wprowadzenie dla potrzeb oceny ryzyka określenia rzeczywiście biodostępne i potencjalnie biodostępne stężenie zanieczyszczeń. Podstawowa różnica polega na zastosowanej metodzie pomiaru biodostępności. Pasywne próbniki typu SPME czy POM-SPE mierzą stężenie zanieczyszczeń organicznych w roztworze glebowym i dlatego mogą być wykorzystane do oceny frakcji rzeczywiście biodostępnej, podczas gdy metoda z Tenaxem i roztworem cykloodekstryn ocenia stężenie zanieczyszczeń,

które dopiero po desorpcji z gleby (w określonym czasie) mogą oddziaływać na organizmy żywe. Frakcja rzeczywiście biodostępna odnosi się do organizmów pozostających w bezpośrednim kontakcie z roztworem glebowym, natomiast frakcja potencjalnie biodostępna do części organizmów, które oprócz kontaktu z roztworem glebowym mogą jak np. dżdżownice spożywać zanieczyszczenia zabsorbowane na cząstkach gleby. Brand i wsp. (2) zwracają szczególną uwagę na fakt, że pomiary frakcji aktualnie biodostępnej, dla części organizmów mogą prowadzić do niedoszacowania ryzyka, niemniej jednak ten rodzaj oceny biodostępności uważany jest za najbardziej wiarygodny wskaźnik narażenia wielu grup organizmów żywych na terenach zanieczyszczonych.

Zagadnienia dotyczące biodostępności WWA w glebach użytkowanych rolniczo są podejmowane od wielu lat również w Zakładzie Gleboznawstwa Erozi i Ochrony Gruntów, IUNG-PIB. Wcześniejsze badania z tego zakresu dotyczyły wpływu czynników glebowych na zawartość potencjalnie i rzeczywiście biodostępnej frakcji WWA (36) oraz testowania procedur chemicznych w analizach biodostępności tych związków (dane nie opublikowane). Obecne prace skupiają się na zagadnieniach zastosowania biodostępności w ocenie ryzyka, co ma odzwierciedlenie w projektach statutowych IUNG-PIB: „Wykorzystanie procedur ryzyka ekologicznego do oceny funkcji retencyjnej gleb w stosunku do zanieczyszczeń chemicznych” (17) oraz „Biodostępność i ekotoksykologiczne skutki oddziaływania trwałych zanieczyszczeń organicznych w glebach użytkowanych rolniczo” (38). Pierwsze wnioski z podjętych badań wskazują, że procedury oceny ryzyka ekologicznego powinny uwzględniać oznaczania biodostępnej frakcji zanieczyszczeń w glebach, co umożliwi pełną charakterystykę rzeczywistego ryzyka i pozwala dostosować ocenę do specyficznych warunków badanego terenu.

Podsumowanie

W ostatnim 10-leciu nastąpił ogromny postęp w zakresie prac nad koncepcją biodostępności zanieczyszczeń organicznych w glebach oraz badaniach nad opracowaniem chemicznych metod oznaczania zawartości biodostępnej frakcji TZO. Pomimo dokonań naukowych z tego zakresu, wciąż pozostaje wiele pytań wymagających odpowiedzi, które dotyczą związków między biodostępnością, a czynnikami glebowymi, sposobami uprawy gleby, zmiennymi warunkami klimatycznymi, specyfiką organizmów żywych czy współwystępowaniem na badanym obszarze innych czynników degradujących środowisko glebowe. Ważne jest również pytanie, czy pomiary biodostępności wykonywane w specyficznych warunkach laboratoryjnych oddają rzeczywiste narażenie organizmów żywych na oddziaływanie TZO? Należy przypuszczać, że kolejne prace badawcze, które pozwolą uzyskać odpowiedzi na większość z tych pytań spowodują, że koncepcja biodostępności znajdzie praktyczne zastosowanie w ocenie ryzyka i zostanie wprowadzona do przepisów prawnych, czego nie udało się osiągnąć jak do tej pory w żadnym z krajów UE.

Literatura

1. Amellal N., Portal J.-M., Berthelin J.: Effect of soil structure on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons within aggregates of a contaminated soil. *Applied Geochemistry*, 2001, **16**: 1611-1619.
2. Brand E., Smedes F., Jonker M. T. O., Harmsen J., Peijnenburg W. J. G. M., Lijzen J. P. A.: Advice on implementing bioavailability in the Dutch soil policy framework. User protocols for organic contaminants. 2012, RIVM Report 711701102/2012.
3. Cachada A., Pereira R., Ferreira da Silva E., Duarte A. C.: The prediction of PAHs bioavailability in soils using chemical methods: state of the art and future challenges, *Science of the Total Environment*, 2014, **472**, 463-480.
4. COM(2006) 231 final. Communication from the Commission of the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee, and the Committee of Regions. Thematic Strategy for Soil Protection. 22 September 2006. Brussels: 2006.
5. Cornelissen G.: Mechanism and consequences of slow desorption of organic compounds from sediments. PhD Thesis, Lelystad, The Netherlands, 1999, ISBN 9036952158.
6. Cuypers C., Pancras T., Grotenhuis T., Rulkens W.: The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques. *Chemosphere*, 2002, **46**, 1235-1245.
7. Frische T., Mebes K.-H., Filser J.: Assessing the bioavailability of contaminants in soils: a review on recent concepts. Research Report 201 64 614, UBA-FB 000405, 2003.
8. Gao Y., Zeng Y., Shen Q., Ling W., Han J.: Fractionation of polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **17**: 897-903.
9. Gomez-Eyles, Jonker M. T. O., Hodson M. E., Collins C. D.: Passive samplers provide better prediction of PAH bioaccumulation in earthworms and plant roots than exhaustive, mild and cyclodextrin extraction. *Environmental Science and Technology*, 2012, **46**: 962-969.
10. Harmsen J.: Landframing of polycyclic aromatic hydrocarbons and mineral oil contaminated sediments. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands, 2004.
11. Hodson M. E., Vijver M. G., Peijnenburg W. J. G. P.: Bioavailability in soils. [In:] *Dealing with contaminated sites* F.A. Swartjes (eds). Springer Science+Bussines Media B.V.
12. ISO 17402:2008. Soil quality – Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. 2008.
13. Jensen J., Mesman M.: Ecological risk assessment of contaminated land. Decision support for site specific investigations. 2006, RIVM report number 71170147.
14. Jonker M. T. O., van der Heijden S. A., Kreitinger J. P., Hawthorne S. B.: Predicting PAH bioaccumulation and toxicity in earthworms exposed to manufactured gas plant soils with Solid-Phase Microextraction, *Environmental Science and Technology*, 2007, **42(21)**, 7472-7478.
15. Juhasz A. L.: Can bioavailability assays predict the efficiency of PAH bioremediation? [W:] *Chemical Bioavailability in Terrestrial Environment* Developments in Soil Science, Elsevier, 2008, **32**: 569-587.
16. Kelsey J. W., Kottler B. D., Alexander M.: Selective chemical methods to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environmental Science and Technology*, 1997, **31**: 214-217.
17. Klimkowicz-Pawlas A.: Wykorzystanie procedur ryzyka ekologicznego do oceny funkcji retencyjnej gleb w stosunku do zanieczyszczeń chemicznych. Raport z tematu badawczego realizowanego w ramach działalności statutowej, IUNG-PIB, 2013.
18. Liste H. H., Alexander M.: Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil. *Chemosphere*, 2002, **46(7)**: 1011-7.
19. MacRae J. P., Hall K.: Comparison of methods used to determine the availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments, *Environmental Science and Technology*, 1998, **32**, 3809-3815.

20. Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B.: Relationship between the properties of mineral soils and the level of accumulation of persistent organic pollutants; example of polycyclic aromatic hydrocarbons. [W:] Physical, chemical and biological processes in soils. Edited by Szajdak L.W. i A.K. Karabanov, The Committee on land Reclamation and Agricultural Environment Engineering, Polish Academy of Science, 2010.
21. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A., Terelak H.: Monitoring of the total content of polycyclic aromatic hydrocarbons in arable soils in Poland. *Chemosphere*, 2008, **73**: 1284-1291.
22. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A.: Concentrations, sources and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of the Total Environment*: 2009, **407**: 3746-3753.
23. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B.: Ecotoxicological activity of soils polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) – effect on plants. *Environmental Technology*, 2000, **21**: 1099-1110.
24. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B.: Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. *Environment International*, 2003, **28**: 719-728.
25. Maliszewska-Kordybach B.: Persistent organic contaminants in the environment: PAHs as a case study. In Block Jc, Goncharuk V.V, Baveye P editors *Bioavailability of organic xenobiotics in the environment*. NATO ASI Series. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1999: 3-37.
26. Naidu R., Semple K. T., Megharaj M., Juhasz A. L., Bolan N. S., Gupta S. K., Clothier B. E., Schulin R.: Bioavailability: definition, assessment and implications for risk assessment. [W:] *Chemical Bioavailability in Terrestrial Environment*” Developments in Soil Science, Elsevier, 2008, **32**: 9-39.
27. Naidu R., Bolan N. S.: Contaminant chemistry in soils: key concepts and bioavailability. [W:] *Chemical Bioavailability in Terrestrial Environment*” Developments in Soil Science, Elsevier, 2008, **32**: 9-39.
28. Northcott G. L., Jones K. C.: Partitioning, extractability, and formation of nonextractable PAH residues in soil. 2. Effect on compound dissolution behavior. *Environmental Science and Technology*, 2001, **35**: 1111-1117.
29. Oleszczuk P.: Biodostępność i bioakumulacja hydrofobowych zanieczyszczeń. Część I. Informacje ogólne. *Biotechnologia*, 2007, **76**: 9-25.
30. Oleszczuk P.: Biodostępność i bioakumulacja hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych . Część II Sorpcja zanieczyszczeń oraz czynniki wpływające na ten proces. *Biotechnologia*, 2007, **76**: 26-39.
31. Pignatello J. J., Xing B.: Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environmental Science and Technology*, 1996, **30**, 1-11.
32. Reichenberg F., Mayer P.: Two complementary sides of bioavailability: accessibility and chemical activity of organic contaminants in sediments and soils., *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, **25**, 1239-1245.
33. Reid B. J., Jones K. C., Semple K. T.: Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution*, 2000, **108**: 103-112.
34. Riding M. J., Doick K. J., Martin F. L., Jones K. C., Semple K. T.: Chemical measures of bioavailability/bioaccessibility of PAHs in soil: Fundamentals to application. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, **261**: 687-700.
35. Semple K. T., Morris A. W., Paton G. I.: Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, 2003, **54**: 809-818.

36. Smreczak B., Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A.: Assessing the bioavailability of phenanthrene to soil microorganisms using the Tenax extraction method. *Environmental Geochemistry and Health*, 2008, **30**: 183-186.
37. Smreczak B., Maliszewska-Kordybach B.: Wstępne badania nad oznaczaniem potencjalnie biodostępnych frakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w glebach zanieczyszczonych tymi związkami. 2003, *Archiwum Ochrony Środowiska*, (29)4, 45-55.
38. Smreczak B., Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A.: Determination of PAH (bio)available fraction in historically contaminated soils. [W:] *Abstract of 7th International Workshop on chemical bioavailability in the terrestrial environment*, 3-6 listopada, 2013, 62-63.
39. Tang J. X., Alexander M.: Mild extractability and bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Environmental. Toxicology and Chemistry*, 1999, **18**: 2711-2714.
40. TerLaak T. L., Agbo S. O., Barendregt A., Hermens J. L. M.: Freely dissolved concentrations of PAHs in soil pore water: Measurement via Solid Phase Extraction and consequences for soil tests. *Environmental Science and Technology*, 2006, **40(4)**, 1307-1313.
41. Wilson S. C., Naidu R.: Organic contaminant speciation and bioavailability in the terrestrial environment [W:] *Chemical Bioavailability in Terrestrial Environment*” *Developments in Soil Science*, Elsevier, 2008, **32**: 9-39.
42. Zhang Y., Ma X., Ran Y.: Sorption of phenanthrene and benzene on differently structural kerogen: Important role of micropore-filling, *Environmental pollution*, 2012, **185**, 213-218.

Adres do korespondencji

dr inż. Bożena Smreczak
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel. 81 886 34 21 w. 318
e-mail: bozena@iung.pulawy.pl

