

菲、芘在单一和复合污染条件下不同老化阶段的提取率及其生物有效性^①

张 静，马丽丽，焦加国，刘满强，胡 锋，李辉信*

(南京农业大学资源与环境科学学院，南京 210095)

摘 要：研究了土壤中多环芳烃菲、芘在单一和复合污染条件下的老化过程，150 天内观察到菲、芘的提取率随时间延长而逐渐减少，下降速率呈现初始较快、而后减慢的趋势；菲、芘的环糊精提取法的提取率随老化时间延长而下降的趋势要比索氏提取法明显。老化过程中复合污染土壤中芘的索氏法提取率略低于单一污染土壤中芘的提取率。在老化的后期，复合污染土壤中菲的环糊精法提取率略高于单一污染土壤中菲的提取率。利用蚯蚓作为测试生物，研究两种污染物的老化过程对其生物有效性的影响，发现表征其生物有效性的蚯蚓吸收率、生物富集系数（BCF）均随老化时间的延长而下降，此外，老化过程中复合污染条件下菲的生物有效性总是大于菲作为单一污染源时的生物有效性。对污染物的环糊精法提取率和蚯蚓吸收率作相关分析发现，单一污染土壤中菲和芘的环糊精提取法的提取率与蚯蚓吸收率均呈显著正相关。

关键词：菲；芘；老化；蚯蚓；提取率；生物有效性

中图分类号：X53

随着污染物进入土壤时间的延长，其生物可利用性下降的过程称作老化^[1]。自然条件下，导致进入土壤中的污染物老化的原因可能是被土壤胶粒及有机质吸附、随水分向四周移动或向深层土壤移动、向大气中挥发扩散、被作物吸收、被土壤和土壤微生物降解等一系列生物、物理和化学过程^[2]。其中吸附和转移过程可能会使污染物越来越不易被溶剂所提取甚至在土壤基质中形成结合态残留物质；其结果是，随着污染物与土壤接触时间的增加，污染物的溶剂可萃取性和生物有效性将会相应的降低。研究有机污染物老化现象的目的是为了明确土壤中有机污染物生物可利用性随时间动态变化的进程，为评估污染物毒性效应和建立其环境质量标准奠定基础。

一直以来，土壤中污染物的提取技术都是围绕污染物提取总量而展开研究，因而形成了多种耗竭性的提取方法，如索氏提取、超声波提取等^[3]。然而由于土壤中污染物老化现象的存在，这种总量提取的分析方法并不能真实反映土壤中污染物的生物有效性，不能准确估测其在环境中对生物的暴露、毒性以及风险^[4]。近年来，为了真实地评价土壤或沉积物中污染物的生物有效部分，丁醇、甲醇、乙酸乙酯等很多中等极性溶剂已被用来提取土壤中的污染物。例如有很多

研究发现用中等极性溶剂从土壤中提取的农药等污染物与蚯蚓吸收的那部分有好的相关性^[5]。值得注意

的是污染物的生物有效性取决于土壤性质、生物种类、污染物本身的性质等多方面因素^[6-8]，因而反映污染物生物有效性的提取方法应该是有针对性的而不会是普适性的。本文使用两种提取方法来研究菲、芘在单一和复合污染条件下的老化现象，并对两种提取方法的提取率与蚯蚓的吸收率之间进行相关性分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤 供试土壤为采自于江苏如皋市的高砂土（0~20 cm），其理化性质为：pH 值 7.55，总有机 C 5.42 g/kg，全 N 0.65 g/kg，全 P 0.66 g/kg，阳离子交换量 7.2 cmol/kg，黏粒 110.4 g/kg。

^①基金项目：国家环保部和江苏省环保厅项目资助。

* 通讯作者 (huixinli@njau.edu.cn)

作者简介：张静（1983—），女，湖北黄石人，硕士研究生，主要从事有机污染物生态修均体重为 0.15~0.20 g。

1.1.3 化学品 菲（纯度≥97%，购于 FLUKA 公司）；芘（纯度≥98%，购于 Alfa Aesar 公司）；羟丙基-β-环糊精（HPCD，纯度≥98%，购于山东淄博千汇精细化工有限公司）；NaN₃（纯度≥98%，购于南京生兴

①基金项目：国家环保部和江苏省环保厅资助项目（江苏省污染土壤调查）资助。

* 通讯作者 (huixinli@njau.edu.cn)

作者简介：张静（1983—），女，湖北黄石人，—硕士研究生，主要从事有机污染物生态修复方面的研究。—E-mail: nancyzjt@msn.cn

生物技术有限公司)；甲醇（色谱纯）其他常用试剂为分析纯。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设置 称取 50 g 经风干、过 2 mm 筛的土壤于若干 100 ml 带盖玻璃细口瓶中，瓶盖内衬有铝箔以减少污染物的吸附。将装有土壤的玻璃细口瓶采用 $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐射灭菌（辐射剂量为 2.5 Mrad^[9]）。将灭菌后的土样染毒，设 3 种处理，菲：50 mg/kg，芘：100 mg/kg，菲芘混合（其中菲为 50 mg/kg，芘为 100 mg/kg）。先分别配制菲、芘和菲芘混合的丙酮储备液，后逐滴加入 1 ml 储备液于各细口瓶中，充分摇匀后敞口置于无菌操作台 12 h，使丙酮充分挥发。然后加入无菌水，调节土壤水分至最大持水量的 60%，旋紧瓶盖后用石蜡密封瓶口保持无菌状态。将细口瓶放入恒温恒湿培养箱， $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 黑暗避光培养。分别于 0、15、30、60、90、150 天采集土样进行菲、芘的提取与测定，并同时进行了生物有效性实验，每个处理均设 5 个重复。

1.2.2 生物有效性试验 在 0、15、30、60、90、150 天采样时，先称取 5 g 土样，进行污染物的提取和测定，余下的土样转移入 50 ml 三角瓶中用来培养蚯蚓。每个三角瓶中加入 6 条蚯蚓，以铝箔封住瓶口，留 8 个针孔通气，此时不再保持土壤的无菌状态。 $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 下黑暗培养 7 天后，检出蚯蚓，24 h 排空体内余物，洗净擦干后称其鲜重，待测。

1.2.3 土壤中菲、芘的提取与测定 方法 1：用二氯甲烷和正己烷（1:1, v:v）8 h 索氏提取^[10]，HPLC 测定。方法 2：用环糊精提取，HPLC 测定。参照 Sabate 等人^[11]使用的方法，称取 3 g 土样装入 25 ml 玻璃离心管中，加入 15 ml 浓度为 70 mmol/L 的羟丙基- β -环糊精（HPCD）提取剂和 0.05% 的叠氮化钠抑菌。在 25°C 避光条件下置于摇床中振荡，转速 150 r/min。在第 60、120、240 h 时离心收集萃取液，第 60、120 h 收集萃取液后要重新加入新的 HPCD 提取剂继续振荡萃取。最后合并 3 次收集到的萃取液，用 10 ml 二氯甲烷溶液萃取，过无水硫酸钠。萃取得到的有机相经旋转蒸发后用 5 ml 甲醇定容，过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜后用 HPLC 检测合并后的全部萃取液中菲或芘的含量。

1.2.4 蚯蚓体菲、芘的蓄积量的提取与测定 将蚯蚓冷冻干燥后加入 3 g 无水硫酸钠在研钵中研碎，用二氯甲烷和正己烷（1:1, v:v）10 h 索氏提取^[12]，HPLC 测定。

2 结果与讨论

2.1 老化过程中菲、芘的提取率的变化

由图 1、2 可以看出在单一或复合污染土壤中，菲、芘的索氏提取法和环糊精提取法的提取率均随着老化时间的延长而逐渐下降，0~30 天下降最快，此后菲、芘的提取率仍有下降的趋势，但速度较慢。总体来看，菲、芘的环糊精法提取率随老化时间延长而下降的趋势要比索氏法提取率明显，第 0 天菲的环糊精法提取率约为索氏法提取率的 90%，老化 150 天后则仅为索氏法提取率的 50% 左右，芘的环糊精法提取率在第 0、150 天分别为索氏法提取率的 60% 和 50% 左右。

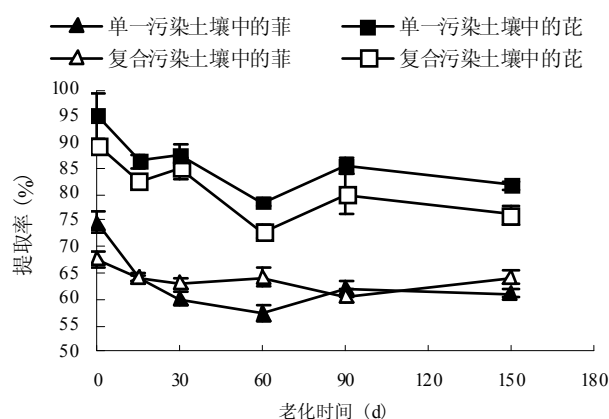


图 1 不同老化时段菲、芘的索氏提取法的提取率

Fig. 1 Extraction ratios of phenanthrene and pyrene by soxhlet extraciton at different aging time

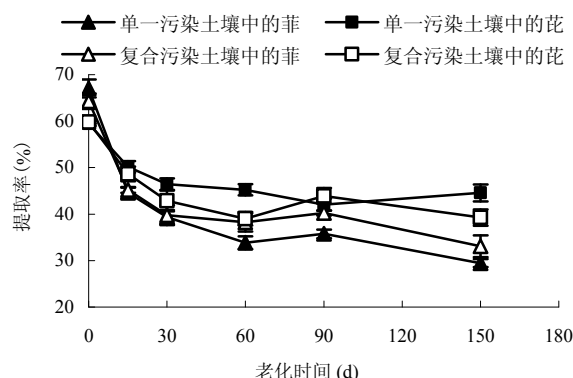


图 2 不同老化时段菲、芘的环糊精提取法的提取率

Fig. 2 Extraction ratios of phenanthrene and pyrene by HPCD extraction at different aging time

索氏提取是经典的耗竭性提取方法，但本试验中，

单一或复合污染土壤中的菲在土壤中老化 150 天后, 仍有 35%~40% 未被提取出来, 芘则有 18%~24% 未被提取出来。环糊精提取是一种非耗竭性的提取方法, 150 天后菲、芘分别有 67%~71%、57%~61% 未被提取出来。相似的结果在其他文献中也有报告, 比如随着老化时间的增加土壤中的六六六^[7]、DDT^[13]、多环芳烃^[14]的可提取性随溶剂、土壤性质的不同而有不同程度的下降。这些结果均表明, 污染物在土壤中老化时间越长就越不容易被溶剂提取。

在自然环境条件下, 污染物在土壤中浓度的下降可能是由光解、水解或生物降解以及地表径流、淋溶、挥发、被动物和植物吸收等一系列物理、化学、生物过程引起的, 然而在本研究中, 实验是在控制条件下进行的, 这就意味着光解、生物降解以及地表径流、淋溶、被动物和植物吸收等丢失过程是可以排除的。因此, 在本实验中, 污染物可能是因分配进入土壤有机质中被吸附住或与土壤腐殖质形成强的共价键或氢键而生成的结合态残留物^[15], 或者有机污染物分子“陷入”土壤的微小孔隙中随着时间推移而进入更深的吸附位点而被束缚住致使其浸提率下降。

第 0 天复合污染土壤中菲、芘的索氏法提取率略低于单一污染土壤中菲、芘的提取率。此后复合污染土壤中的芘在各个老化阶段下的索氏法提取率均略低于单一污染土壤中芘的提取率, 而菲则无此现象。在老化的后期, 复合污染土壤中菲的环糊精法提取率略高于单一污染土壤中菲的提取率, Jacqueline 等人^[16]也曾发现芘的存在会使老化过程中菲的环糊精法提取率高于单一污染土壤中菲的提取率。

2.2 老化过程中菲、芘的生物有效性的变化

图 3、4 分别表示蚯蚓对污染物的吸收率、生物富集系数随污染物老化时间的变化。蚯蚓的吸收率是指蚯蚓吸收利用污染物的量占土壤中最初加入污染物的量的百分比。蚯蚓的生物富集系数 $BCF = C_b/C_e$ ^[17], 其中 C_b 为生物体内的污染物浓度, C_e 为土壤中的污染物浓度。

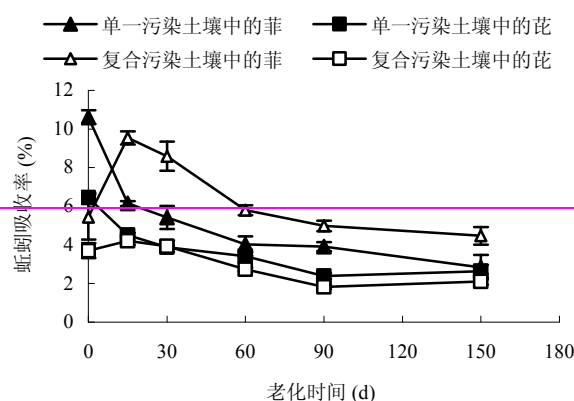


图 3—不同老化时段蚯蚓对菲、芘的吸收率

Fig. 3—Earthworm uptakes of phenanthrene and pyrene at different aging time

从图 3、4 中可以看出, 随着菲、芘在土壤中老化时间的延长, 蚯蚓的吸收率及 BCF 均呈下降趋势, 表明污染物对蚯蚓的生物有效性降低, 此外吸收率、BCF 下降的速度总体上还呈现出先快后慢的趋势, 60 天后趋于稳定, 只是复合污染土壤中蚯蚓对菲和芘的 BCF 在 90 天后仍有较为明显的下降趋势。新鲜染毒 (即第 0 天) 的复合污染土壤中菲、芘在蚯蚓体内的吸收率和 BCF 均低于各自作为单一污染源时的吸收率、BCF, 可能是由于新鲜染毒的复合污染物毒性较大, 蚯蚓在土壤中不活跃, 实验中曾观察到新鲜染毒的复合污染土壤中蚯蚓存活率小于 60%, 而老化 15 天后存活率大于 80% (单一污染土壤中蚯蚓在各老化时间下的存活率均大于 80%), 蚯蚓在未老化的复合染毒土样中因毒性反应其翻动、吞食土壤等正常活动受到抑制从而导致其对污染物的吸收率、BCF 反而比单一污染土壤中的低。

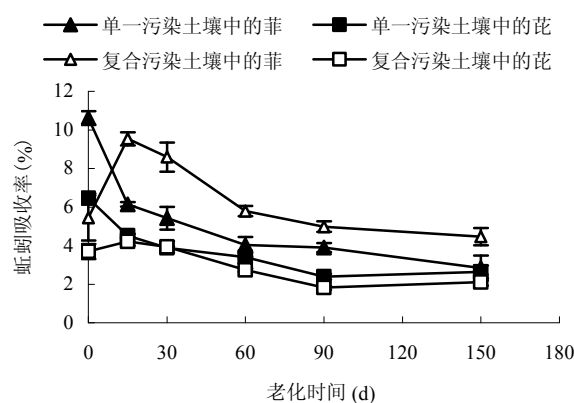


图 3 不同老化时段蚯蚓对菲、芘的吸收率

Fig. 3 Earthworm uptakes of phenanthrene and pyrene at different aging time

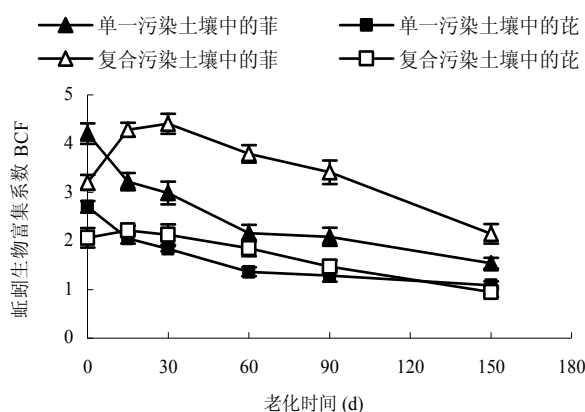


图4 不同老化时段蚯蚓对菲、芘的生物富集系数

Fig. 4 BCF of phenanthrene and pyrene in earthworm at different aging time

从图3、4中可以看出,随着菲、芘在土壤中老化时间的延长,蚯蚓的吸收率及BCF均呈下降趋势,表明污染物对蚯蚓的生物有效性降低,此外吸收率、BCF下降的速度总体上还呈现出先快后慢的趋势,60天后趋于稳定,只是复合污染土壤中蚯蚓对菲和芘的BCF在90天后仍有较为明显的下降趋势。新鲜染毒(即第0天)的复合污染土壤中菲、芘在蚯蚓体内的吸收率和BCF均低于各自作为单一污染源时的吸收率、BCF,可能是由于新鲜染毒的复合污染物毒性较大,蚯蚓在土壤中不活跃,实验中曾观察到新鲜染毒的复合污染土壤中蚯蚓存活率小于60%,而老化15天后存活率大于80%(单一污染土壤中蚯蚓在各老化时间下的存活率均大于80%),蚯蚓在未老化的复合染毒土样中因毒性反应其翻动、吞食土壤等正常活动受到抑制从而导致其对污染物的吸收率、BCF反而比单一污染土壤中的低。

单一污染土壤或复合污染土壤中,菲的BCF总是大于芘,而且蚯蚓对多环芳烃等污染物的富集系数不随初始染毒浓度变化而变化^[18],这表明菲对蚯蚓的生物有效性要大于芘。这与蚯蚓的吸收途径和有机污染

物的性质有关,由于蚯蚓可以通过两种途径富集土壤中的污染物^[14]:被动扩散作用(passive diffusion)和摄食作用(resorption),前者是污染物从土壤溶液穿过体表进入蚯蚓的体内;而后者则是污染物由土壤通过吞食作用进入蚯蚓体内,在脏器器官内完成吸收作用。前一种途径决定了污染物越容易溶解进入土壤空隙水中或与土壤颗粒表面结合得越弱就越容易被蚯蚓吸收。由于菲的辛醇-水分配系数小于芘(菲的 $K_{ow}=2.82 \times 10^4$;芘的 $K_{ow}=1.51 \times 10^5$)^[19],所以菲更容易进入土壤空隙水中从而容易被蚯蚓以被动扩散的方式吸收,相反脂溶性较高的芘则被土壤颗粒吸附得较多而生物有效性较低。Narbonne等^[20]、Eggleton^[21]等也发现化合物的正辛醇-水分配系数,是影响化合物生物有效性的关键因子。

另外,图中显示各个老化时间下复合污染土壤中蚯蚓对菲的吸收率及BCF总是大于菲作为单一污染源时的吸收率和BCF,而芘则没有这一现象,这可能表明复合污染土壤中芘的存在促进了蚯蚓对菲的吸收^[22],有关复合污染物对蚯蚓的生物有效性方面的研究较少,这一推论还有待进一步研究证实。

本文中蚯蚓对菲、芘的BCF较高,如新鲜染毒的单一污染土样中菲的BCF达4.2左右,芘的BCF达2.7左右,这可能是由于高沙土有机质、黏粒含量较低,对菲、芘的吸持能力较小从而使其易于被生物利用的缘故。

2.3 菲、芘的索氏提取、环糊精提取的提取率与其生物有效性的相关分析

表1中用蚯蚓对污染物的吸收率直接表征污染物的生物有效性,对各个老化时间下的吸收率和提取率进行线性回归分析求得相应的回归方程,其中 y 表示提取率, x 表示蚯蚓的吸收率。

表1 老化过程中菲、芘的提取率(y)和蚯蚓吸收率(x)之间的相关关系Table 1 Correlations between extraction ratio (y) of phenanthrene, pyrene and corresponding earthworm uptake (x) during aging process

污染物	提取方法	相关方程	相关系数	显著性检验
单一污染土壤中的菲	索氏提取	$y = 0.798 2x + 57.365$	0.413	$p > 0.05$
	环糊精提取	$y = 4.897 6x + 14.604$	0.996	$p < 0.01$
混合污染土壤中的菲	索氏提取	$y = -0.21x + 65.578$	-0.18	$p > 0.05$
	环糊精提取	$y = 0.241 2x + 41.907$	0.046	$p > 0.05$
单一污染土壤中的芘	索氏提取	$y = 2.526 3x + 75.643$	0.75	$p > 0.05$
	环糊精提取	$y = 4.115 2x + 32.014$	0.975	$p < 0.01$
混合污染土壤中的菲芘	索氏提取	$y = 3.825 3x + 69.169$	0.638	$p > 0.05$

环糊精提取	$y = 4.055\ 2x + 33.077$	0.52	$p > 0.05$
-------	--------------------------	------	------------

线性相关分析结果表明,单一或复合污染土壤中菲、芘的索氏提取率与蚯蚓吸收均无显著相关性。单一污染土壤中菲和芘的环糊精提取率与蚯蚓吸收存在显著正相关,相关系数 r 分别为 0.996($p < 0.01$)和 0.975($p < 0.01$),这表明环糊精提取量可以反映菲和芘在老化过程中生物有效部分的变化,因而可以用作菲和芘对蚯蚓的生物有效性的指示。复合污染土壤中菲、芘的环糊精提取率与蚯蚓吸收无显著相关性,这显示在用化学提取率表征污染物生物有效性时要考虑污染物之间的相互影响。

3 小结

多环芳烃菲、芘在土壤中的可提取率随着时间的延长逐渐降低,并呈现开始老化速率较快、而后期老化速率减慢的趋势,其中环糊精提取法的提取率随老化时间下降的趋势要比索氏提取法明显,第 0 天菲的环糊精法提取率约为索氏法提取率的 90%,老化 150 天后则只有索氏法提取率的 50% 左右;芘的环糊精法提取率在第 0、150 天分别为索氏法提取率的 60% 和 50% 左右。老化过程中复合污染土壤中芘的索氏法提取率略低于单一污染土壤中芘的提取率。在老化的后期,复合污染土壤中菲的环糊精法提取率略高于单一污染土壤中菲的提取率。以蚯蚓作为测试生物发现其对菲、芘的吸收率和 BCF 也表现出相似的规律,表明多环芳烃与土壤颗粒接触时间越长,其生物有效性越低。单一或复合污染土壤中,蚯蚓对菲的吸收率以及 BCF 总是大于芘,说明菲对蚯蚓的生物有效性要大于芘。此外各个老化时间下复合污染土壤中蚯蚓对菲的 BCF 总是大于菲作为单一污染源时的富集系数,而芘则没有这一现象,这可能表明复合污染土壤中芘的存在促进了蚯蚓对菲的吸收。单一污染土壤中菲、芘的可提取性与生物有效性之间显著的线性相关性表明环糊精提取量可以作为其各自生物有效性的指示。

参考文献:

- [1] 李晓军,李培军,蔺昕,Ver Khozin VA. 土壤中有机污染物的老化概念探讨. 应用生态学报, 2007, 18(8): 1 891-1 896
- [2] 吴小毛. 土壤中农药残留对蚯蚓的生物有效性(硕士学位论文). 杭州: 浙江大学, 2005: 10-11

- [3] Turlough FG. The extraction of aged polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues from a clay soil using sonication and a Soxhlet procedure: A comparative study. Journal of Environmental Monitoring, 1999, 1: 63-67
- [4] Reid BJ, Jones KC, Semple KT. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments-a perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution, 2000, 108: 103-112
- [5] Tang J, Robertson BK, Alexander M. Chemical extraction methods to estimate bioavailability of DDT, DDE and DDD in soil. Environmental Science and Technology, 1999, 33: 4 346-4 351
- [6] White JC, Alexander M, Pignatello JJ. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, 18: 182
- [7] 邵红建, 蒋新, 王芳, 卞永荣. 老化对六六六在土壤中可提取态含量及其生物有效性的影响. 环境科学, 2008, 29(7): 2 054-2 057
- [8] 倪进治, 骆永明, 魏然. 土壤有机和无机组分对多环芳烃环境行为影响的研究进展. 土壤, 2006, 38(5): 559-564
- [9] Apitza SE, Ernest A, Clawson SA, Lin EW, Melcher RJ, Hemmingsen BB. The development of a sterile, PAH-spiked, aged marine sediment for biodegradation experiments: Chemical results. Organic Geochemistry, 1999, 30: 891-900
- [10] Souzae Silva PT, Silva VL, Barros Neto B, Simonnot MO. Phenanthrene and pyrene oxidation in contaminated soils using Fenton's reagen. Journal of Hazardous Materials, 2009, 161: 967-973
- [11] Sabate J, Vinas M, Solanas AM. Bioavailability assessment and environmental fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in biostimulated creosote-contaminated soil. Chemosphere, 2006, 63: 1 648-1 659
- [12] Tang JX, Liste HH, Alexander M. Chemical assays of availability to earthworms of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Chemosphere, 2002, 48: 35-42
- [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
- [14] Johnson DL, Jones KC, Langdon CJ, Pearce TG, Semple KT. Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34: 1 363-1 370
- [15] 李九海. 多环芳烃(芘)在水稻土及其不同粒组中的吸附和老化效应(博士学位论文). 南京: 南京农业大学, 2003: 26-27
- [16] Jacqueline LS, Graeme IP, Kirk TS. Predicting the biodegradation

- of target hydrocarbons in the presence of mixed contaminants in soil. *Chemosphere*, 2009, 74: 563–567
- [17] 郇红建, 蒋新, 王芳, 余贵芬, 卞永荣. DDTs 在土壤中的老化规律及生物有效. *土壤学报*, 2007, 44(1): 79–83
- [18] 燕启社, 高镜清, 孙红文, 牛倩. Fenton 氧化处理对土壤中芘的生物可利用性的影响. *生态环境*, 2008, 17(6): 2 215–2 220
- [19] 孙红文, 霍崇, 王翠萍. 土壤中多环芳烃的 SPMD 辅助解吸行为研究. *环境科学*, 2007, 28(8): 1 841–1 846
- [20] Narbonne JF, Djomo JE, Ribera D, Ferrier V, Garrigues P. Accumulation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed to sediment by the mollusk *corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, 42: 1–8
- [21] Eggleton J, Thomas KV. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 2004, 30: 973–980
- [22] White JC, Hunter M, Pignatello JJ, Alexander M. Increase in bioavailability of aged phenanthrene in soils by competitive displacement with pyrene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18: 1 728–1 732

Effects of Aging on Extractability and Bioavailability of Phenanthrene and Pyrene Under Single and Co-Contaminant Conditions

ZHANG Jing, MA Li-li, JIAO Jia-guo, LIU Man-qiang, HU Feng, LI Hui-xin
(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Study was conducted on the aging process of phenanthrene(PHE) and pyrene (PYE) under single and co-contaminant conditions. Results indicated that the extractable PHE and PYE decreased as their contact time with soil increased during 150 days. The aging rates of PHE and PYE in soil were rather high at the initial stage, and then slowed down with time, besides, the decreasing trend of extractability by using hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) extraction was more obvious than using soxhlet extraction as time passed. The extractability of PYE by soxhlet extraction in co-contaminated soil was a bit lower than that in single contaminated soil in aging process. At the later stage of aging, HPCD extractability of PHE in co-contaminated soil was slightly higher than that in single contaminated soil. Earthworms were used as test organisms to reveal the aging effect on the bioavailability of two pollutants, and it was found that earthworm uptake and bioconcentration (BCF) of pollutants decreased in aging process. The PHE in co-contaminated soil was more available than that in single contaminated soil during aging. Correlation analyses showed that earthworm uptake of PHE and PYE in single contaminated soil were significantly correlated with their extractability in HPCD extraction.

Key words: Phenanthrene, Pyrene, Aging, Earthworm, Extractability, Bioavailability