



CYCLOLAB

Cyclodextrin Research & Development Laboratory Ltd.
Mail address: Budapest, P.O.Box 435, H-1525 Hungary
Location: Illatos út 7., Budapest, H-1097-Hungary
TEL: (361) 347-60-60 or -70, FAX: (361) 347-60-68
E-mail: cyclolab@cyclolab.hu
Homepage: www.cyclolab.hu

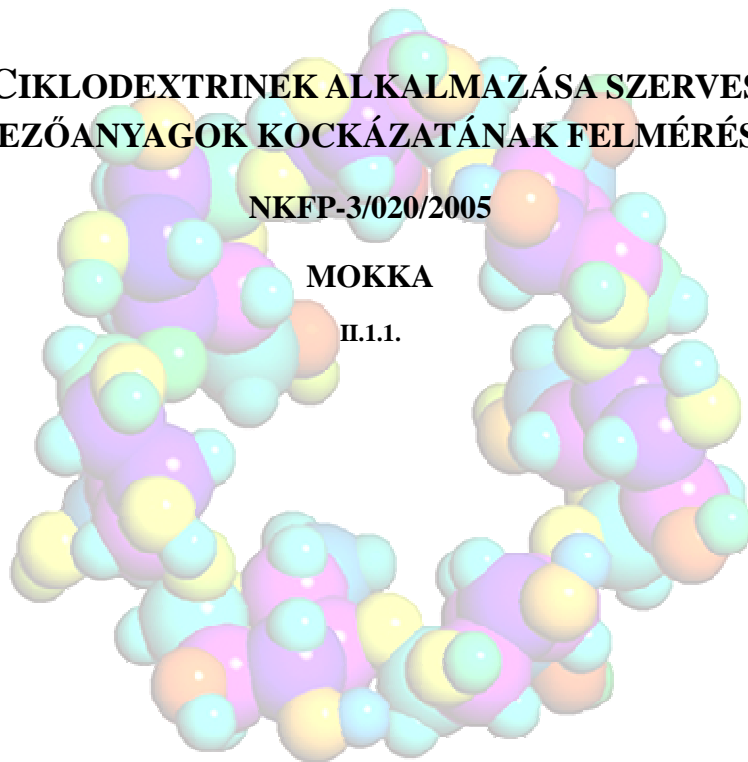


CIKLODEXTRINEK ALKALMAZÁSA SZERVES SZENNYEZŐANYAGOK KOCKÁZATÁNAK FELMÉRÉSÉBEN

NKFP-3/020/2005

MOKKA


II.1.1.



Készítették: Dr. Fenyvesi Éva, Iványi Róbert

Ellenőrizte: Dr. Sente Lajos

2006. szeptember 15.

	Kísérleti terv oktanol/víz megoszlási hányados meghatározására javasolt új extrapolációs módszer validálására	Report No: CYL II.1.4.
		Compiled by: Fenyvesi É.
		File: CYL II214
		Date: 2006. 09. 15.
		Page : 2 of 14

TARTALOM

Bevezetés	3
Nem kimerítő extrakció vizes HPBCD-oldattal. A módszer leírása	6
Az alkalmazhatóság körülményei	6
Eddigi kipróbálások	11
Összefoglalás	12
Irodalomjegyzék	12



Bevezetés

Cyclolab ebben a rövid tanulmányban áttekintést ad a ciklodextrint alkalmazó módszerekről a kockázatfelmérésben. Az irodalomban számos közlemény és szabadalom foglalkozik ciklodextrinek alkalmazásával érzékenyebbé tett *szenzorok* készítésével és vizsgálatával. Ezeket arra használják, hogy levegőben, vízben, talajvízben kimutassanak toxikus anyagokat, pl. szénhidrogének, illékony szerves anyagok gőzeit, ösztrogén-jellegű anyagokat, policiklusos aromás szénhidrogéneket. Kiterjedt irodalma van annak is, hogy ciklodextrin-polimereket *szorbens*ként alkalmazva szerves szennyezőanyagokat kötnek meg szennyvízből.

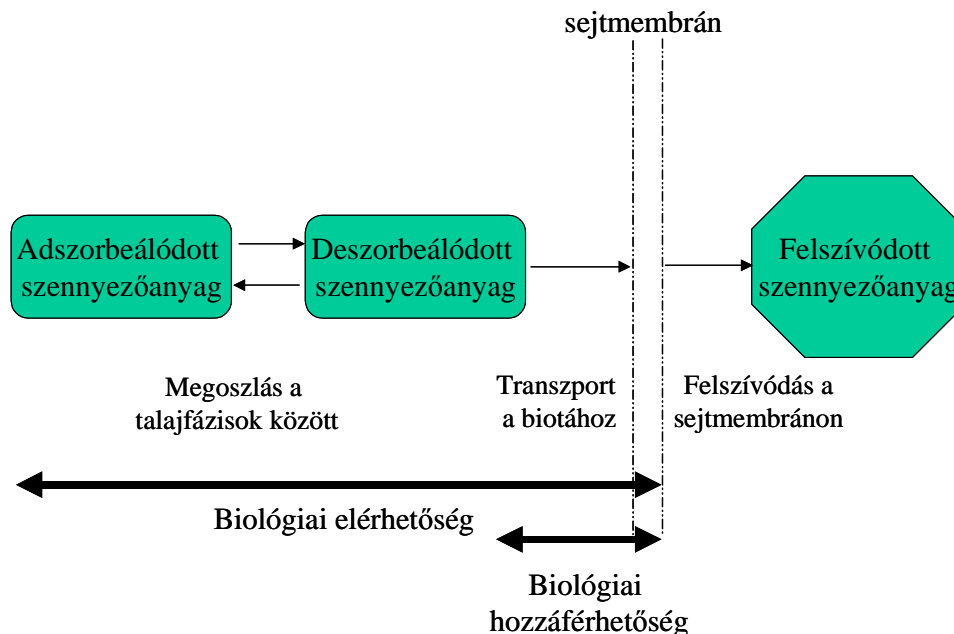
A jelen tanulmányban egy viszonylag új módszerrel kapcsolatos irodalmat tekintjük át. Ez a hidroxipropil-béta-ciklodextrin (HPBCD) vizes oldatával végzett talajextrakció, mely *a biológiailag hozzáférhető szerves szennyezőanyag* mennyiségét jellemzi szemben a feltáró jellegű oldószeres extrakciós eljárásokkal. Ez utóbbiak a talaj teljes szennyezőanyag-tartalmának meghatározására törekszenek. Az új módszer lassan terjed, de eddig szinte kizárólag PAH vegyületek biológiai hozzáférhetőségének becslésére használták.

Egy vegyület biológiai hozzáférhetősége alatt azt a frakcióját értjük, amely a talajból felvehető egy élő szervezet számára [1]. Két tényező határozza meg: a vegyület transzportja a talajból a sejthez és bejutása a sejtbe. Az előbbi a vegyület és a talaj fizikai-kémiai sajátosságaitól függ, az utóbbi a sejt felvevő és metabolizáló képességétől. Emiatt a biológiai hozzáférhetőség nemcsak vegyületenként és talajonként változik, de függ az élő szervezettől is, fajoként sőt egyedenként is eltérő lehet. További meghatározó tényező a szennyezetttség kora: idővel a szennyezőanyag bejut a talaj olyan kis pórusaiba is, melyek már nem hozzáférhetőek a mikrobák számára, később a körülmények megváltozása újra hozzáférhetővé teheti ezt a frakciót is. Az aktuális biológiai hozzáférhetőség határozza meg a talajban levő vegyület kockázatát (egy régi szennyeződés esetleg már nem toxikus, mert nem hozzáférhető).

Az irodalomban megkülönböztetik a *biológiai hozzáférhetőséget* (bioavailability) (azt az aktuális szennyezőanyag koncentrációt a talajban, amely képes áthatolni a sejtmembránon) és a *biológiai elérhetőséget* (bioaccessibility) (azt a szennyezőanyag koncentrációt a talajban, amely előbb-utóbb hozzáférhető lesz a talajban élő szervezetek számára) [2]. A kettő közötti különbséget illusztrálja az 1. és a 2. ábra. Egy másik nevezéktan az *aktuális biológiai hozzáférhetőséget* (a pórusvízben oldott szennyezőanyag-koncentrációt) megkülönbözteti a *potenciális biológiai hozzáférhetőségtől* (az idővel mobilissá váló koncentrációtól) [3].

Véleményünk szerint az akut ökotoxikológiai tesztekkel főleg az előbbit, az aktuálisan hozzáférhető frakciót mérjük, tehát azt, amely már kioldódott vagy könnyen deszorbeálódva gyorsan átkerül a talaj vizes fázisába, a hosszabb ideig tartó krónikus ökotoxikológiai és biodegradabilitási tesztekkel pedig a biológiailag elérhető frakciót, tehát az aktuálisan hozzáférhető és idővel hozzáférhetővé váló nehezebben deszorbeálódó részt együttesen határozzuk meg.

Szennyezett talaj kockázatának becslésére fontos ismerni a biodegradálható frakció mennyiségét. A bioremediációs technológia célja ennek a frakciónak az elbontása. Az a frakció, amely egy bioremediáció végrehajtása után a talajban marad (és nem azért, mert toxikus metabolitok keletkezése vagy a segédanyagok elfogyása miatt nem biodegradálódott, hanem, mert nem hozzáférhető), nem jelent kockázatot [4].

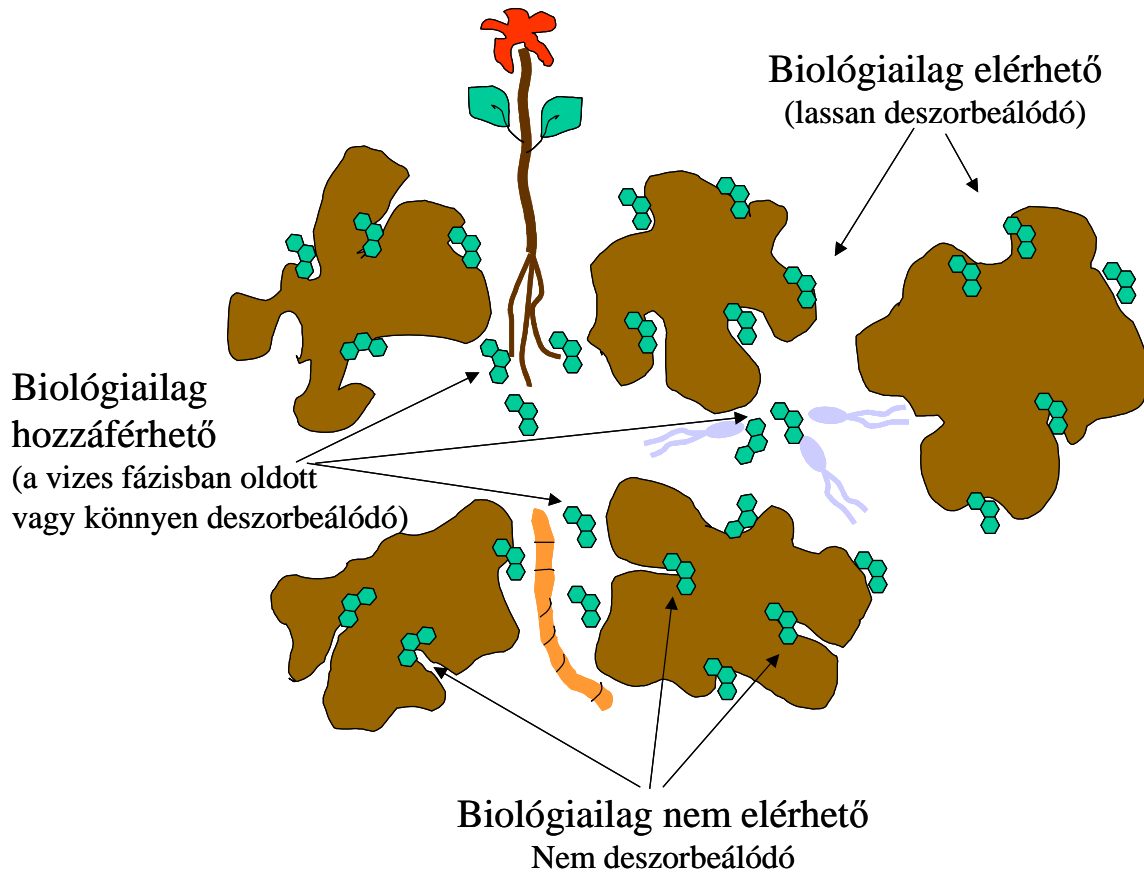


1. ábra A biológiai elérhetőség és a biológiai hozzáférhetőség megkülönböztetése

A biológiai hozzáférhetőség jellemzésére olyan extrahálószer kell találni, amelyik éppen a mozgékony, könnyen deszorbeálódó részt vonja ki a talajból mintegy modellezve a mikrobák és a szennyezőanyag közötti kölcsönhatást. Enyhe extrahálószeret próbáltak ki erre a célra. Ezek közül a butanolt találták a legalkalmasabbnak, mert pl. régebbi szennyezett talajból kevesebb fenantrént old ki a butanol [5]. Az oldószerek kiválasztása empirikus úton történt figyelmen kívül hagyva a szennyezőanyag és a talaj valamint a talaj és a biota közötti bonyolult kölcsönhatásokat.

Reid és munkatársai 2000-ben írták le a hidroxipropil- β -ciklodextrin (HPBCD) vizes oldatával történő extrakciót a biológiailag hozzáférhető frakció számszerűsítésére [6]. Fenantrénnel mesterségesen szennyezett talaj esetén találtak korrelációt a mikrobiológiai lebonthatóság és az extrahált fenantrén-tartalom között.

A ^{14}C -el jelzett fenantrénnel mesterségesen szennyezett talajok extrakciója és a biodegradáció során keletkező $^{14}\text{CO}_2$ közötti korrelációs egyenesek koefficiensei azt mutatják, hogy a legjobban a vizes HPBCD-oldattal extrahált mennyiség korrelál a biodegradálható fenantrén mennyiségével (a meredekség 1-hez közelít, a tengelymetszet 0-hoz) (1. táblázat).



2. ábra A szennyezőanyag a talajban lehet biológiailag hozzáférhető a mikróbák, növények és állati szervezetek, pl. földigiliszta számára (oldott vagy könnyen deszorbeálódó), biológiailag elérhető (lassan deszorbeálódó, idővel elérhetővé váló) vagy biológiailag nem elérhető (a talaj kisebb pórusaiban adszorbeálódott) formában

1. táblázat Szennyezett homokos vályogtalajban a jelzett fenantrén extrakciója és biodegradálhatósága közötti összefüggés korrelációs analízise [6]

	r^2	Meredekség	Tengelymetszet
Teljes fenantrén-tartalom (elégetés utáni radioaktivitás)	0,989	0,763	-5,66
Extrakció diklórmetánnal	0,986	0,648	0,34
Extrakció butanollal	0,957	0,614	0,544
Extrakció vizes HPBCD-oldattal	0,964	0,977	0,162



Egy másik lehetőség a könnyen deszorbeálódó szerves szennyezőanyag kinyerésére az, ha összekeverik a szennyezett talajt ioncserélő gyantával, és azon adszorbeálódik a szennyezőanyag (szilárd fázisú extrakció) [7]. Az egyensúlyok hasonlóak, mint a ciklodextrines extrakció esetén: a szennyezőanyag előbb deszorbeálódik a talajról, majd megkötődik a gyanta kötőhelyein vagy a ciklodextrin gyűrűben:

Talaj \longleftrightarrow a talaj vizes fázisa \longleftrightarrow gyanta

Talaj \longleftrightarrow a talaj vizes fázisa \longleftrightarrow ciklodextrin

A HPBCD vizes oldatával végzett extrakció eredménye jobban korrelált a mikrobiológiai folyamatokkal lebontható frakció mennyiségével naftalinnal szennyezett talajok esetén, mint az Amberlite XAD gyantával végzett szilárd fázisú extrakcióé [8].

Egy további lehetőség az emlősökre gyakorolt hatások modellezésére, a biológiai hozzáférhetőség jellemzésére a mesterséges emésztőnedvvel végzett extrakció [9].

Nem kimerítő extrakció vizes HPBCD-oldattal. A módszer leírása

1,25 g talajt mérnek be 35 ml-es centrifugacsövekbe és 25 ml 50 mM-os (kb. 6.5%-os) HPBCD-oldatot adnak hozzá. A csöveket lezárás után laboratóriumi rázógépre helyezik és 150/perc sebességgel rázatják 20-22 órán át, majd centrifugálják (3000-27000 g), és mintát vesznek a felülószból további vizsgálatra [6,10]. Esetenként az extrakciót többször (ötször-hatszor) ismétlik az extraktum leöntése után friss HPBCD-oldattal (konszekutív extrakció), és a kumulatív görbe alapján számítják az összes biodegradálható frakció mennyiségét [4,11].

Az alkalmazhatóság körülményei

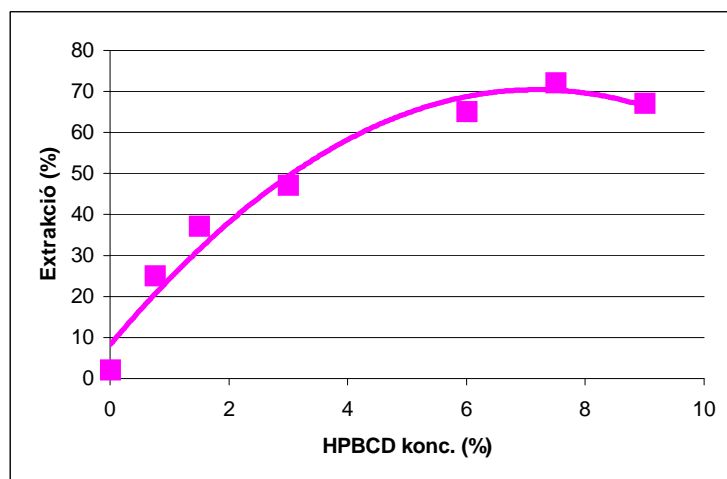
A fenti módszerleírásban megadott paramétereket fenantrénnel szennyezett talajon végzett optimálási kísérletek alapján állapították meg. A HPBCD koncentráció és az extrakciós idő hatását mutatja a 3. és 4. ábra.

Legalább 6 % HPBCD koncentráció és legalább 5 órás ráztatás kell a megoszlási egyensúly beállításához.

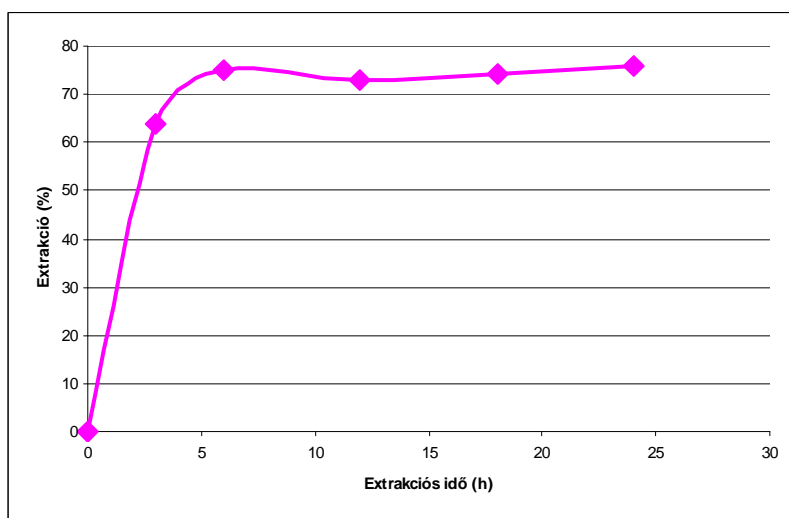
Foszfát pufferrel készült HPBCD-oldatot használva, az extrakció hatásfoka megnő, közel kimerítővé válik. Az extraktumok színén is látszik, hogy a pufferolt oldatok a talaj szerves anyag-tartalmát is kioldják. Ezért a biodegradálható frakció becslésére jobb a vizes HPBCD-oldat [6].

Miközben a HPBCD-oldatos extrakció remekül korrelál a respirációs tesztekkel mért mikrobiológiailag degradálható frakció mennyiségével, nincs korreláció a földi giliszta tesztek eredményével, amikor jelzett fenantrénnel mesterségesen szennyezett homokos, iszapos, agyagos és tözezes talajt hasonlítanak össze [12]. Emiatt a módszert egyre inkább **mikrobiológiai hozzáférhetőségnek** nevezik, hiszen tudjuk, a biológiai hozzáférhetőség fajtól, magasabb rendű szervezeteknél sokszor egyedtől függően is változhat. Semple és mtársai szerint még pontosabb **biológiai elérhetőség**ről beszélni, hiszen a mikrobiológiai lebonthatósági teszt során alkalmazott optimális körülmények (iszapfázis, tápanyagpótlás,

stb.) nem fordulnak elő a természetben, így az a szennyezőanyag hányad is hozzáférhetővé válhat, amely természetes körülmények között nem hozzáférhető [10].



3. ábra A vizes HPBCD-oldat koncentrációjának hatása a kiextrahált fenantrén mennyiségére [6]



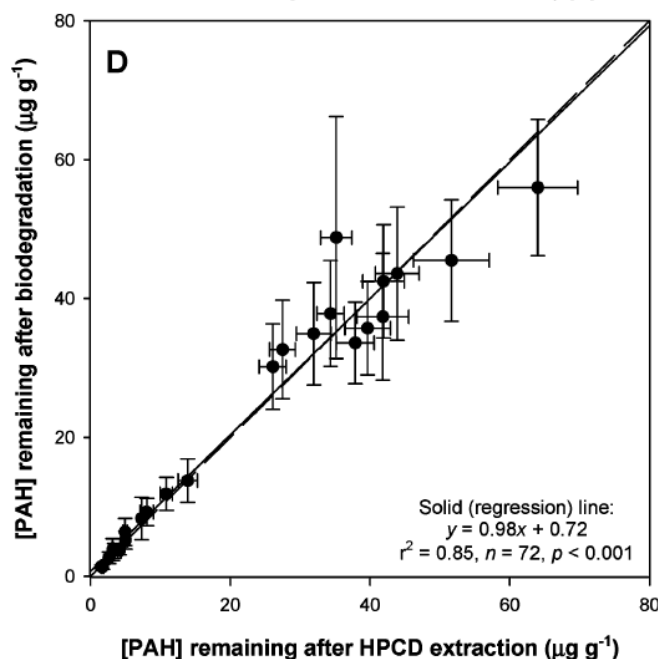
4. ábra Az extrahálás időtartamának hatása az extrahálás hatásfokára [6]

Húszféle PAH-vegyületet azonosítottak egy gázgyár területéről származó, régóta szennyezett talajban. A maradék *PAH-tartalom* értékek a HPBCD extrahálás után és a 49 napos biodegradáció után jól korrelációt mutattak (regressziós tényezők: 1,032 és -0,227, korrelációs faktor: 0,986) [13].

Egy másik kísérletsorozatban ^{14}C -el jelzett *fenil-dodekán* volt a szennyezőanyag (a kábelszigetelő olajak jellemző komponense) [14]. Ebben az esetben is a HPBCD-oldatos

„nem kimerítő” extrakció eredménye korrelált jobban a mineralizálható frakcióval, mint a „kimerítő” diklórometános extrakcióé akár új akár régi szennyeződés esetén.

A „ciklodextrines” (a vizes HPBCD-oldatos) extrakció mind kívülről bevitt speciális mikroorganizmusok alkalmazásakor mind a talaj saját mikroflorájának kihasználásával végzett biodegradáció esetén jól korrelál a degradálható PAH-frakció mennyiségével mind mesterségesen szennyezett mind szennyezett területről származó talajok esetén. Segítségével becsülhető a mikrobiológiai degradáció mértéke, és a módszer alkalmas a talajok technológiatervezést előkészítő felmérésére [15], a biodegradáción alapuló remediációs technológia várható végkoncentrációjának meghatározására [4] (5. ábra).

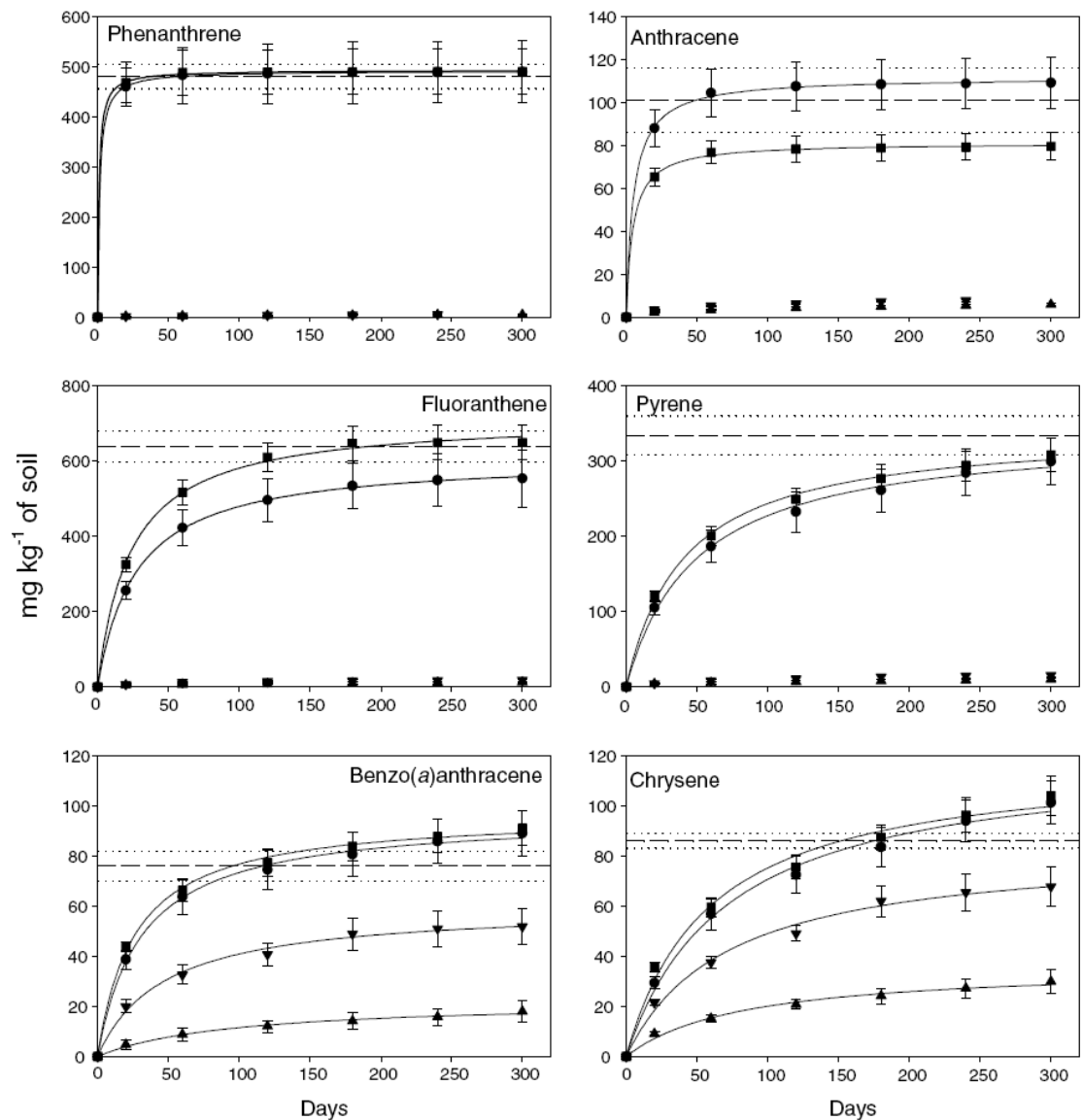


5. ábra PAH-vegyületekkel szennyezett talaj biodegradáció után mért PAH-koncentrációja és a HPBCD extrakcióval becsült (nem hozzáférhető) végkoncentráció közötti korreláció [15]

A HPBCD-oldatos extrakció alkalmazásával jól becsülhető volt négy különböző talajban a *fenantrén* és *p-krezol* mineralizálható frakciójának mennyisége [16].


Különböző szerves anyag- és agyagtartalmú, *fenantrénnel*, *pirénnel* és *benzo[a]pirénnel* régen és frissen szennyezett talajokat extraháltak butanollal vagy vizes HPBCD-oldattal, hogy meghatározzák a biológiailag hozzáférhető frakció mennyiségét [17]. Azt tapasztalták, hogy a szennyezőanyag hidrofób jellegének növekedésével a butanol egyre inkább kimerítő extrahálószerre válik különösen a nagyobb szerves anyag- és agyagtartalmú talajoknál, míg a HPBCD-oldatos extrakció esetén ez nem figyelhető meg.

A HPBCD-oldatos extrakciót többször ismételve újabb és újabb szennyezőanyag vonható ki a talajból [4]. Hat vizsgált PAH-vegyületre kumulatív ábrázolással kapott telítési görbéket mutatja a 6. ábra. (Noha láttuk a 2. ábrán, hogy kb. 5 óra alatt beáll az egyensúly, csak 20-60 óránként cserélték a HPBCD-oldatokat).



6. ábra PAH-vegyületek deszorpciója kőszénkátránnyal régóta szennyezett talajról vizes HPBCD-oldattal (kumulatív görbék) [4]. Talaj a biodegradációs kísérlet előtt (●), és a 200 napos kísérlet után: kontroll (■), levegőztetett, nedvesített talaj (▲) és levegőztetett, nedvesített, szervesanyag-gal ellátott talaj (▼)

Láthatjuk, hogy *fenantrén* és *antracén* esetén két-három extrakcióval kivonható az összes mozgékony szennyezőanyag, míg a jobban adszorbeálódó komponensek, pl. *fluorantén*, *pirén* esetén 6-szoros extrakcióval sem. Ezekben az esetekben extrapolációval határozták meg a mobilis, deszorbeálható frakciót, amely a biodegradálható szennyezőanyag-tartalomnak felel meg. Az ábrákon egyenes vonallal behúzott érték a 200 napos biodegradációs kísérletben lebomlott szennyezőanyag-koncentrációt jelzi. A nagyobb PAH-vegyületek esetén feltehetően

	Kísérleti terv oktanol/víz megoszlási hányados meghatározására javasolt új extrapolációs módszer validálására	Report No: CYL II.1.4.
		Compiled by: Fenyvesi É.
		File: CYL II214
		Date: 2006. 09. 15.
		Page : 10 of 14

a 200 napos kísérletben nem bomlott még el az összes hozzáférhető szennyezőanyag, maradt valamennyi még mobilis koncentráció.

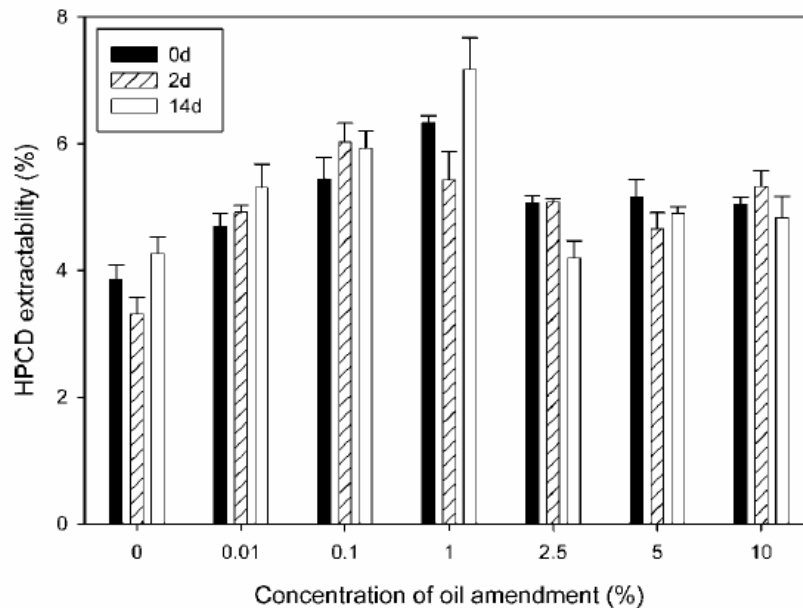
Az egyik kísérletben, a kőszénkátránnyal régóta szennyezett talajt extrahálva a HPBCD ürege számára túl nagy méretű PAH-vegyületek, pl. benzo[b+k]fluorantén, benzo[a]pirén, indén[1,2,2-c,d]pirén és benzo[g,h,i]perilén nem jelentek meg kimutatható mennyiségben a HPBCD extraktumban [4], más kísérletben az 5- és 6-gyűrűs PAH-vegyületeket is azonosították a kivonatban [18], egy harmadik közlemény pedig éppen arról számolt be, hogy a HPBCD-oldatos extrakció túlbecsülte a nagyobb gyűrűtagszámú PAH-vegyületek biodegradálhatóságát [19]. Ezek az egymásnak ellentmondó eredmények arra vezethetők vissza, hogy nagyon nehéz PAH-vegyületekkel dolgozni, könnyen adszorbeálódnak az üvegedény falán, emiatt analízisük sokszor megbízhatatlan eredményeket ad.

Vizsgálták azt is, hogy más szennyezőanyagok jelenlétében mennyire használható a HPBCD-oldatos extrakció a biodegradálható frakció meghatározására. Például, 20, 200, 2000 és 20000 mg/kg dízelolaj jelenlétében az extrahálható fenantrénmennyiség csak kis mértékben nő a dízelolaj koncentráció növekedésével [20]. A mineralizálódó és a HPBCD-vel extrahálódó fenantrén mennyisége között csak a 20000 mg/kg dízelolaj-koncentráció esetén volt 1-hez közeli a regressziós koefficiens. A dízelolaj ebben az esetben segédoldószerként viselkedik (benne oldódik a fenantrén), és bár hozzáférhető formában marad a biodegradáció nem halad olyan mértékben, mert a mikrobákra negatív hatással van a nagy mennyiségű dízelolaj. Azt nem vizsgálták, hogy mennyi dízelolajat extrahált a HPBCD-oldat.

Fenantrénnel mesterségesen szennyezett talajhoz 0, 0,01 és 0,1% transzformátorolajat keverve sem a biodegradáció sem az 1 nap múlva HPBCD-oldattal kivonható biodegradálható frakció mennyisége nem különbözött számottevően [21].

Sem a szerves oldószerrel (diklórmetánnal) kivonható összes szennyezőanyag, sem a HPBCD-oldattal kivonható biodegradálható szennyezőanyag mennyisége nem változott számottevően olyan PCB- és PAH-vegyületekkel mesterségesen szennyezett talajoknál, melyeket HPBCD-oldattal kezeltek, noha azt várták, hogy a HPBCD-kezelés hatására a szennyezőanyag deszorbeálódik a talajról és mind az összes kivonható mind a biodegradálható frakció mennyisége növekszik [22].

Transzformátorolajjal kezelve ugyanezeket a talajokat a diklórmetánnal extrahálható szennyezőanyag kis mértékben nőtt a kezelés időtartamának növekedésével függetlenül az alkalmazott transzformátorolaj-koncentrációtól [22]. A HPBCD-oldattal extrahálható mennyiség kis olajkoncentrációnál nőtt, majd csökkent mind PAH, mind PCB esetén (7. ábra). Véleményünk szerint a PAH-vegyületek nagyobb transzformátorolaj-koncentrációnál tapasztalt csökkent extrahálhatósága nem feltétlenül a csökkent biológiai hozzáférhetőség következménye (bár az olaj/víz megoszlás hozzájárul a talaj/víz megoszláshoz csökkentve a talaj vizes fázisába átoldódó szennyezőanyag mennyiségét), hanem annak is, hogy a transzformátorolaj és a szennyezőanyag versenyeznek a CD-gyűrűkért, és kevesebb gyűrű marad a szennyezőanyag számára.



7. ábra Transzformátorolaj-kezelés hatása a HPBCD-oldatos extrakció hatásfokára PAH-vegyületekkel régóta szennyezett talaj esetén a transzformátorolaj hozzáadása után közvetlenül (0 d), 2 nappal (2 d) és 14 nappal (14 d) azt követően [22].

Eddigi kipróbálások

Ahogy kezd közismertté válni a HPBCD-oldatos extrakció alkalmazhatósága a mikrobiológiai hozzáférhetőség becslésére, egyre több olyan közleménnyel találkozunk, ahol ezt a módszert használják.

Autópálya melletti diffúz szennyezetségű területen a PAH-vegyületek mikrobiológiai elérhetőségét HPBCD extrakcióval mindössze 1-5%-nak találták, amit azzal magyaráznak, hogy a közlekedésből származó sok koromszemcsén adszorbeálódnak ezek a vegyületek [23].

PAH-vegyületekkel szennyezett üledékeket extraháltak HPBCD-oldattal és Triton X-100 tenzidoldattal. Míg a HPBCD-oldat a könnyen hozzáférhető szennyezőanyag-tartalmat vonta ki, a tenzidoldatos extrakció a könnyen és nehezen hozzáférhető PAH-tartalmat egyaránt [18], így az utóbbi módszer nem alkalmas a biológiai hozzáférhetőség becslésére.

Míg a HPBCD-oldatos extrakció eredménye jól korrelált mind gázgyári szennyezett területről származó, mind régóta PAH-vegyületekkel mesterségesen szennyezett talaj esetén a biodegradálhatósággal, addig egy másik több mint egy éve beszennyezett talaj esetében, ahol a biodegradáció csak kis mértékben zajlott, nem volt jelen alkalmazkodott mikróflóra, a HPBCD-extrakció alábecsülte a biodegradálható frakciót [13].

A biodegradáció végpontja jól becsülhető volt a HPBCD-oldatos konszekutív extrakció alapján PAH-vegyületekkel és fenolokkal szennyezett gázgyári talaj esetén [11].



Összefoglalás

A HPBCD-oldatos extrakció alapján megfelelő pontossággal becsülhető a biológiailag elérhető szennyezőanyag-frakció mesterségesen szennyezett talajok és szennyezett területről származó régóta szennyezett talajok esetén (egy kivételt láttunk az irodalomban, amikor a régóta mesterségesen szennyezett talajban nem alakult ki adaptálódott mikroflóra, és itt a HPBCD-oldatos extrakció alábecsülte a biodegradálható frakció mennyiségét). Mono- és policiklusos aromás vegyületekre, PCB-re és fenolokra már kipróbáltan alkalmas a módszer. A biológiai hozzáférhetőség javítására a talajhoz adott HPBCD-adalék nem befolyásolta a PAH-vegyületek hozzáférhetőségét, a dízelolaj és transzformátorolaj adalék viszont koncentrációtól függően javította vagy rontotta és ezt a HPBCD-oldatos extrakcióval jól lehetett követni. A HPBCD további előnye, hogy nem adszorbeálódik számottevően a talajon [24].

Irodalomjegyzék

1 Semple, K.T., Morris, A.W.J., Paton, G.I.: Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, 54, 809-818, 2003

2 Semple, K.T., Doick, J.: Bioavailability of organic contaminants in soil: what does it mean and can it be measured? *Contaminated Land: Applications in Real Environment (CL:AIRE)* 2003, Summer

3 Harmsen, J.; Eijsackers, H.J.P.; Römkens, P.F.A.M.; Rulkens, W. H.: Bioavailability: from qualitative concept to quantitative measurements. Proceedings of the 8th Intern. FZK/TNO Conf. on Contam. Soil, pp. 3420-3429, 2003


4 Sabaté, J., Vinas, M., Solanas, A.M.: Bioavailability assessment and environmental fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in biostimulated creosote-contaminated soil. *Chemosphere* 63, 1648-1659, 2006

5 Liste, H.H., Alexander, M. Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil *Chemosphere*, 46, 1011-1017, 2002

6 Reid, B. J.; Stokes, J. D.; Jones, K. C.; Semple, K. T.: Nonexhaustive Cyclodextrin-Based Extraction Technique for the Evaluation of PAH Bioavailability. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3174-3179, 2000

7 Puglisi, E.; Patterson, C. J.; Paton, G. I.: Non-exhaustive extraction techniques (NEETs) for bioavailability assessment of organic hydrophobic compounds in soils. *Agronomie*, 23, 755-756, 2003

8 Colin J. Patterson, Kirk T. Semple and Graeme I. Paton Non-exhaustive extraction techniques (NEETs) for the prediction of naphthalene mineralisation in soil *FEMS Microbiology Letters*, 241, 215-220, 2004

	Kísérleti terv oktanol/víz megoszlási hányados meghatározására javasolt új extrapolációs módszer validálására	Report No: CYL II.1.4.
		Compiled by: Fenyvesi É.
		File: CYL II214
		Date: 2006. 09. 15.
		Page : 13 of 14

9 Dean, J. R., Scott, W. C.: Recent developments in assessing the bioavailability of persistent organic pollutants in the environment *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23, 609-618, 2004

10 Semple, K.T., Dew, N.M., Doick, K.L., Rhodes, A.H.: Can microbial mineralization be used to estimate microbial availability of organic contaminants in soil? *Environmental Pollution* 140, 164-172, 2006

11 Reid, B.J., Swindell, A.L., Allan, I.J., Semple, K.T.: Predicting bioremediation endpoints based on cyclodextrin extractable fractions. 8th In Situ and On Site Bioremediation Symposium, Baltimore, June 6-9, 2005 F.15/1-F.15/7

12 Hickman, Z. A., Reid, B. J: Towards a more appropriate water based extraction for the assessment of organic contaminant availability *Environmental Pollution*, 138, 299-306 2005

13 Stokes, J. D.; Wilkinson, A.; Reid, B. J.; Jones, K. C.; Semple, K. T.: Prediction of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in contaminated soils using an aqueous hydroxypropyl-beta- cyclodextrin extraction technique. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 1325-1330, 2005

14 Dew, N. M., Paton, G. I., Semple, K. T.: Prediction of [3-¹⁴C]phenyldodecane biodegradation in cable insulating oil-spiked soil using selected extraction techniques *Environmental Pollution*, 138, 316-323, 2005

15 Doick, K.J., Dew, N.M., Semple, K.T.: Linking catabolism to cyclodextrin extractability: determination of the microbial availability of PAHs in soil. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8858-64, 2005

16 Allan, I.J., Hare, T., Reid, B.J.: Prediction of mono- and polycyclic hydrocarbon degradation in spiked soils using cyclodextrin extraction. *Environ. Pollut.* 144, 562-71, 2006


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

18 Cuypers, C.; Pancras, T.; Grotenhuis, T.; Rulkens, W.: The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl-b-cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques. *Chemosphere*, 46, 1235-1245, 2002

19 Juhasz, A.; Waller, N.; Stewart, R.: Predicting the Efficacy of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Bioremediation in Creosote-Contaminated Soil Using Bioavailability Assays. *Bioremediation Journal*, 9, 99-114, 2005

20 Swindell A.L., Reid, B.J.: The influence of NAPL on the loss and biodegradation of (14)C-phenanthrene residues in two dissimilar soils. *Chemosphere* 66, 332-339, 2006

21 Doick, K. J.; Lee, P. H.; Semple, K. T.: Assessment of spiking procedures for the introduction of a phenanthrene-LNAPL mixture into field-wet soil. *Environmental Pollution*, 126, 399-406, 2003

	Kísérleti terv oktanol/víz megoszlási hányados meghatározására javasolt új extrapolációs módszer validálására	Report No: CYL II.1.4.
		Compiled by: Fenyvesi É.
		File: CYL II214
		Date: 2006. 09. 15.
		Page : 14 of 14

22 Doick, K. J.; Burauel, P.; Jones, K. C.; Semple, K. T.: Effect of cyclodextrin and transformer oil amendments on the chemical extractability of aged [14C]polychlorinated biphenyl and [14C]polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 2138-2144, 2005

23 Johnsen, A.R., De Liphay, J.R., Reichenberg, F., Sorensen, S.J., Andersen, O., Christensen, P., Binderup, M.L., Jacobsen, C.S.: Biodegradation, bioaccessibility, and genotoxicity of diffuse polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution at a motorway site. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3293-8, 2006

24 Ko, S.-O.; Schlautman, M. A.; Carraway, E. R.: Partitioning of Hydrophobic Organic Compounds to Hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Experimental Studies and Model Predictions for Surfactant-Enhanced Remediation Applications. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2765-2770, 1999