

PROPUESTA DE UN NUEVO INDICADOR PARA LA BIODEGRADACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS EN EL SUELO EN FUNCIÓN DE SU HUMEDAD: CASO DEL COMPUESTO ^{14}C -BENAZOLINA

J. Ruoss¹, R. Schroll², A. Zsolnay², J.L. Díaz-Hernández³, J.C. Munch²

¹ Estación Experimental del Zaidín, CSIC, C/ Profesor Albareda, 1, 18008 Granada, jurgen.ruoss@eez.csic.es.

² Institute of Soil Ecology, GSF Research Centre for Environment and Health, Ingolstädter Landstrasse 1, 85764 Oberschleissheim, schroll@gsf.de.

³ Area de Producción Ecológica y Recursos Naturales, IFAPA Camino del Purchil s/n, Apdo. 2027, 18080 Granada, josel.diaz@juntadeandalucia.es.

RESUMEN. Recientes estudios han demostrado que el potencial de agua (expresado como pF) es la medida correcta para poder comparar la capacidad de degradación microbológica de compuestos orgánicos entre diferentes suelos. Un indicador para esta función del suelo debe seguir la misma pauta.

En el presente estudio se establece el IPC (“In-situ Partitioning Coefficient”), calculado como relación entre el compuesto orgánico adsorbido y el compuesto disuelto en la solución del suelo. El IPC, al contrario de la constante de disociación K_d , se determina al mismo contenido en agua con el que se produce la biodegradación.

El compuesto modélico elegido (^{14}C -benazolina) se ha aplicado a 4 suelos a diferentes contenidos en agua: 60 % de la Capacidad de Retención de Agua (CRA), 40 % CRA y pF = 2.5. La solución del suelo se obtuvo mediante centrifugación fraccionada a 750*g, 2500*g y 3500*g. La cantidad de agua, al igual que la concentración del compuesto químico, estuvo condicionada por el tipo de suelo, contenido en agua y fuerza centrífuga aplicada.

Paralelamente, se han realizado experimentos de biodegradación, donde se ha determinado la mineralización. A altos contenidos en agua (60% CRA) la K_d ha mostrado una correlación significativa con el IPC ($r^2 = 0.967$, $p = 0.0165$), no así a contenidos en agua bajos: 40% CRA ($r^2 = 0.885$, $p = 0.0591$) y pF = 2.5 ($r^2 = 0.883$, $p = 0.0605$).

El objetivo del trabajo era demostrar que el IPC es un indicador válido de la biodegradación de la ^{14}C -benazolina, y que el pF es el sistema de referencia: existe una alta correlación entre el IPC y la mineralización a los 5 días ($r^2 = 0.987$, $p = 0.0067$), mientras que no es significativa la correlación entre K_d -mineralización, ni tampoco la correlación entre IPC-mineralización a 60 % de la CRA. La correlación entre IPC y mineralización acumulada durante 11 días también fue significativa.

Este indicador es de fácil obtención y puede predecir en buena medida la biodegradación de la ^{14}C -benazolina.

ABSTRACT. Recent studies have demonstrated that water potential (expressed as pF) is the correct measurement for carrying out comparisons of the microbiological degradation capacity of organic

compounds in different soils. Any indicator for this soil function should follow the same behaviour.

In the present study, we propose the IPC (“In-situ Partitioning Coefficient”) defined as the relation between the adsorbed organic compound and the compound dissolved in the soil solution. The IPC, in contrast to the dissociation constant K_d , is determined at the same water content as the one in which biodegradation takes place.

The chosen model compound (^{14}C -benazoline) was applied to 4 soils with different water contents: 60 % of the Water Holding Capacity (WHC), 40 % WHC and pF = 2.5. The soil solution was obtained by fractionated centrifugation (750*g, 2500*g and 3500*g). The amount of soil solution extracted and the concentration of the chemical compound varied depending on the soil types, water content and centrifugal strength applied.

During parallel biodegradation experiments, we determined the mineralization. At high water contents (60

% WHC), the K_d correlated significantly with IPC ($r^2 = 0.967$, $p = 0.0165$), but not at a low water content: 40% WHC ($r^2 = 0.885$, $p = 0.0591$) and pF = 2.5 ($r^2 = 0.883$, $p = 0.0605$).

The objective of this study was to establish IPC as a valid indicator for biodegradation of ^{14}C -benazoline and pF to be the reference system for humidity: we found a highly significant correlation between IPC and mineralization 5 days after application ($r^2 = 0.987$, $p = 0.0067$), whereas neither the correlation K_d -mineralization nor that of IPC-mineralization were significant at 60% WHC. The correlation of IPC with mineralization accumulated over 11 days was also significant.

This indicator is easy to obtain and is able to predict biodegradation of ^{14}C -benazoline to a considerable extent.

1.- Introducción

Recientemente se ha demostrado que el potencial de agua (expresado como pF) es la medida correcta para poder comparar la capacidad de degradación microbológica de compuestos orgánicos entre diferentes suelos. En su estudio, Schroll et al. (2006) han puesto de manifiesto que en base al pF se pueden comparar 15 suelos y 5 compuestos orgánicos (3 plaguicidas, entre ellos benazolina, 1 poliaromático y 1 antibiótico).

La biodisponibilidad es uno de los principales factores que afecta al comportamiento de xenobióticos en el suelo, y especialmente a su biodegradación. Por lo tanto, la biodisponibilidad podría ser un indicador válido. Sin embargo, el concepto “biodisponibilidad” está siendo discutido, ya que no se puede concluir que la disponibilidad de un compuesto para un organismo sea igual que para otros. Sin embargo, en una primera aproximación, Hund-Rinke y Kördel (2003) consideraron la concentración de un compuesto químico en la solución del suelo como la fracción más accesible. También Reid et al. (2000) encontraron que la disponibilidad microbológica de sustancias orgánicas está ligada a la fase líquida del suelo. Asimismo, el modelo de biodisponibilidad propuesto por Landrum et al. (1994) destaca en primer lugar la importancia de la distribución de los xenobióticos entre la fase sólida y líquida.

Un valor que describe la distribución de químicos en suelos es la constante de distribución K_d , que describe la relación entre la concentración del compuesto adsorbido en la matriz del suelo ($[c_{ad}]$) y la concentración del compuesto disuelto en la solución del suelo ($[c_{dis}]$):

$$K_d = [c_{ad}] / [c_{dis}] \quad (1)$$

La K_d es muy eficaz para describir procesos de lixiviación, pero también se utiliza para la biodisponibilidad de xenobióticos. Según el método de la OECD, la K_d se determina agitando 7 g de suelo con 35 ml de 0.01 M CaCl₂ (EEC Directive 79/831).

Este factor no contempla el contenido en agua del suelo, que es importante para la capacidad de degradación. Por lo tanto un indicador de biodisponibilidad debe reflejar la situación en el suelo sin añadir solución externa. Tal método es la extracción mediante fuerza centrífuga. Varios estudios ven este método como el más adecuado para determinar el equilibrio de cationes entre la fase sólida y la solución del suelo (Gillman 1976; Raber et al. 1998; Ranger et al. 2001). Existen varios estudios tanto para extraer materia orgánica disuelta (Gallet y Keller 1999, Chapman et al., 2001; Raber et al. 1998; Kawahigashi et al., 2003) como para determinar la concentración de cationes (Falkengren-Gerup et al. 1995, Gustafsson et al. 2000). Sin embargo existen pocos trabajos con xenobióticos (Meharg 1996, Peijnenburg et al. 2005). Tyler (2000) encontró cambios en la concentración de cationes con una extracción fraccionada a diferente fuerza centrífuga.

Aplicando este método junto con la técnica de marcaje con ¹⁴C, se presenta en este trabajo el IPC (In-situ Partitioning Coeficient) como un indicador para la biodegradación de compuestos orgánicos, que es rápido y fácil de determinar.

Para contrastar su validez, lo comparamos con la K_d , muy utilizada en modelos matemáticos (Javadi et al. 2007). Para que el IPC sea realmente válido debe seguir la misma pauta que la biodegradación con respecto a la humedad del suelo, por lo que comparamos el IPC a pF = 2.5 con el mismo indicador a 40% y 60% de la capacidad

de retención de agua (CRA), un sistema utilizado por otros autores (Schinkel et al. 1986).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es estudiar si el IPC es válido para determinar la biodegradación de ¹⁴C-benzolína en suelos o que incluso pueda predecirlo.

2.- Material y métodos

2.1. Suelos utilizados

Para los experimentos de laboratorio se han utilizado los primeros 10 cm de 4 suelos diferentes (tabla 1): un Alfisol, un Inceptisol y dos Mollisoles con diferente cantidad y calidad de materia orgánica. Estos suelos proceden de un experimento de larga duración en Bad Lauchstädt (Alemania). Durante más de 100 años el Mollisol se ha tratado (*in situ*) con diferentes dosis de abonado: abono orgánico, con dosis que corresponde a 10 veces la aplicación de abono usual (Mollisol-high) y sin aplicación de abonos (Mollisol-low).

2.2. Compuesto modélico aplicado

Como compuesto orgánico se ha utilizado ¹⁴C-benzolína (C₉H₆ClNO₃S, masa molar 243.67 g/mol, solubilidad 0.60 g/l, constante de Henry 2.00*10⁻¹¹ Pa*m³/mol, a 20 °C) con una pureza radioquímica del 98.5 %.

2.3. Determinación de la K_d

Se han aplicado 0.1 µg/g de ¹⁴C-benzolína homogéneamente a 7 g de suelo seco. Después de añadir 35 ml de CaCl₂ (0.01 M), se agitó hasta establecerse un equilibrio entre suelo y solución (alcanzado cuando dos mediciones seguidas después de agitar media hora tienen el mismo resultado). Tras centrifugar se determinó la concentración de ¹⁴C-benzolína en la solución. Finalmente se calculó la K_d como relación entre el compuesto adsorbido y el compuesto disuelto

2.4 Extracción de la solución del suelo

Se han aplicado 0.1 µg/g de ¹⁴C-benzolína homogéneamente a 25 g de suelo (peso seco) a diferente humedad (40% CRA, 60% CRA, pF = 2.5) con tres réplicas cada uno. Después del tiempo de inoculación (5 días) se ha centrifugado el suelo (centrífuga Beckmann J2-21 y rotor JA-14, Munich, Alemania) a diferentes fuerzas centrífugas (750*g, 2500*g, 3500*g) y 4 °C durante 90 minutos respectivamente (peso constante). A continuación se determinó el volumen de la solución extraída del suelo (agua extr.), así como la radioactividad en 3 alícuotas de 100 µl (¹⁴C-Conc.) en un contador de centelleo líquido (Wallac 1414 Winspectral DSA, Turku, Finlandia). Dado que la concentración del compuesto en la solución extraída no varía

Tabla 1: Propiedades físico-químicas de los suelos Inceptisol, Alfisol, Mollisol-high y Mollisol-low

Tipo de suelo (Soil Taxonomy)	Inceptisol	Alfisol	Mollisol-high	Mollisol-low
Arena, 63-2000 μm (%) ¹	43	4	6	9
Limo, 2-63 μm (%) ¹	33	80	69	68
Arcilla, < 2 μm (%) ¹	24	16	25	23
pH (0,01 mCaCl ₂) ²	6.2	7.4	6.6	6.2
C-org. (%) ³	1.43	1.07	2.44	1.81
CRA (%) ⁴	58.56	42.07	59.37	39.16
Contenido en agua (%) a pF=2.5 ⁵	21.0	16.7	23.9	15.8

¹con tamizado y sedimentación (Schlichting et al. 1995); ²relación suelo : CaCl₂ (0.01 m) 1 : 2; ³combustion en seco (Allison et al. 1965); ⁴Klute (1986); ⁵con placas de Richards

mucho entre 2500*g y 3500*g (máxima fuerza usada), se ha aplicado la concentración de esta última extracción a la cantidad de solución no extraíble con esta técnica (resto). De este modo se puede determinar la cantidad total de compuesto disuelto en la solución del suelo en cada experimento. Se ha determinado el coeficiente de repartición *in situ* (IPC = “*in-situ* partitioning coefficient”) como relación entre la ¹⁴C-radioactividad adsorbida (c_{ad}) y la ¹⁴C-radioactividad disuelta en la solución del suelo (c_{dis}):

$$IPC = [c_{ad}] / [c_{dis}] \quad (2)$$

Dado que la mineralización y volatilización son despreciables (< 2 %), la cantidad de compuesto adsorbido (c_{ad}) es igual a compuesto aplicado (c_{apl}) menos el compuesto disuelto, resultando:

$$IPC = ([c_{apl}] - [c_{dis}]) / [c_{dis}] \quad (3)$$

2.5. Experimentos de biodegradación

Para verificar la validez del IPC, se han realizado

experimentos de degradación, también por triplicado. Estos se realizaron en un sistema cerrado donde se ha determinado la volatilización (con trampas de éter monometílico de etilenglicol), e independientemente la mineralización (con trampas de NaOH (0.1 M) para atrapar ¹⁴CO₂), midiendo las concentraciones mediante centelleo líquido (Schroll et al. 2004, 2006).

3.- Resultados y discusión

Los ejemplos de la tabla 2 muestran que la capacidad de extracción de agua (agua extr.) y la concentración de ¹⁴C-benzolina (¹⁴C-Conc.) varía según los diferentes contenidos en agua y las fuerzas centrífugas aplicadas. Pero la concentración del compuesto en la solución cambia también: mientras aumentó la concentración en los extractos del Mollisol-low a mayor humedad, en el Inceptisol ocurrió lo contrario (se obtuvo mayor concentración a menor humedad). Igualmente Edmunds y Bath (1976), Raber et al. (1998) y Tyler (2000) encontraron cambios en la concentración de sustancias a diferente humedad y fuerza centrífuga. Esto puede explicar del mismo modo los resultados de Giesler et al. (1996), quienes encontraron diferentes concentraciones en

Tabla 2: Agua extraíble (agua extr. en ml), concentración de ¹⁴C-benzolina en 100 μl de solución (¹⁴C-Conc. en % del ¹⁴C aplicado) y benzolina extraído en total (Total ¹⁴C en % del ¹⁴C aplicado) a diferente humedad del suelo (60 % CRA, 40 % CRA, pF = 2.5) en las diferentes fracciones de solución (750, 2500, 3500 * g) en los suelos Inceptisol y Mollisol-low. “Suma”: agua/¹⁴C-benzolina extraído por los tres pasos de centrifugación; “resto”: “total” de agua aplicado en cada experimento menos solución extraída (se estipula la concentración de ¹⁴C igual a la de la última fracción extraída); “total”: toda la solución del suelo y ¹⁴C-benzolina disuelto en ella.

Suelo	Fracción	60 % CRA			40 % CRA			pF = 2.5		
		agua extr. (ml)	¹⁴ C-Conc. (%/100μl)	Total ¹⁴ C (% del ¹⁴ C)	agua extr. (ml)	¹⁴ C-Conc. (%/100μl)	Total ¹⁴ C (% del ¹⁴ C)	agua extr. (ml)	¹⁴ C-Conc. (%/100μl)	Total ¹⁴ C (% del ¹⁴ C)
Inceptisol	750 * g	0.67	1.88	12.6	0.21	3.64	7.6	0.00	0.00	0.0
	2500 * g	0.64	1.57	10	0.48	3.10	14.9	0.16	3.61	5.9
	3500 * g	0.32	1.50	4.8	0.28	2.88	8.1	0.16	3.66	5.7
	suma	1.63	-	27.4	0.97	-	30.6	0.32	-	11.6
	resto	6.16	1.50	92.4	4.86	2.88	140.0	3.29	3.66	120.3
	total	7.79	-	119.8	6.8	-	170.6	3.92	-	131.9
Mollisol-low	750 * g	0.62	0.87	5.4	0	-	-	0.00	-	-
	2500 * g	0.58	0.58	3.4	0.23	0.41	0.9	0.23	0.41	0.9
	3500 * g	0.29	0.51	1.5	0.15	0.39	0.6	0.15	0.39	0.6
	suma	1.49	-	10.2	0.38	-	1.5	0.38	-	1.5
	resto	4.3	0.51	21.9	3.44	0.39	13.4	3.44	0.39	13.4
	total	5.79	-	32.2	4.2	-	14.9	3.82	-	14.9

soluciones de suelos, extraídas mediante lisímetros de tensión cero y con centrifugación.

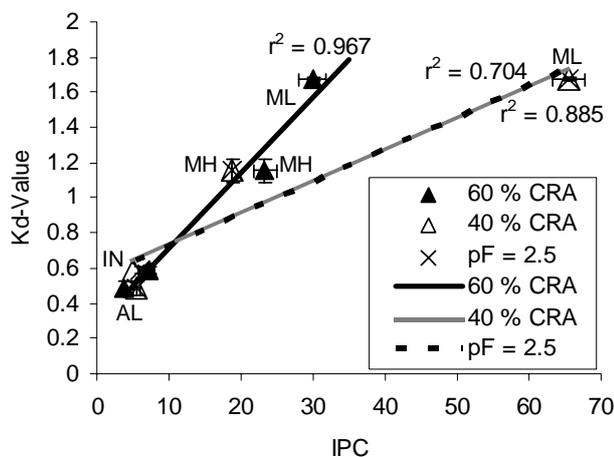


Fig. 1: Correlación entre el IPC y el K_d de ¹⁴C-benzolína a 40 % CRA, 60 % CRA y pF = 2.5 en los suelos Alfisol (AL), Inceptisol (IN), Mollisol-high (MH) y Mollisol-low (ML).

Debido a la imposibilidad de extraer toda la solución del suelo mediante centrifugación, en el presente estudio no se ha podido extraer la solución retenida a una fuerza mayor de 3500*g (poros menores de 0.9 μm). Sin embargo la diferencia de la concentración de las soluciones extraídas a 2500*g y 3500*g en todos los suelos estudiados varía poco, al contrario de las soluciones extraídas a 750*g.

En tabla 2 se puede observar, además, que en el Mollisol el contenido en agua a pF=2.5 es igual que a 40 % CRA, pero varía considerablemente en el Inceptisol.

El cálculo del IPC de los suelos estudiados revela que el IPC es mucho mayor que la K_d determinada mediante el método de la OECD (figura 1). Un aspecto importante aquí es la relación entre líquido y materia sólida, que en el caso de la K_d es de 5 : 1. En esta suspensión se puede establecer un auténtico equilibrio entre fase líquida y sólida. Sin embargo, en el caso del IPC (y la biodegradación), la relación entre fase líquida y sólida, dependiendo del experimento, está entre 1 : 3 y 1 : 5, donde la adsorción del compuesto en la fase sólida es mucho más importante. La falta de equilibrio, como en el caso de la K_d , se pone de manifiesto en la variación de la concentración del compuesto a diferente fuerza centrífuga, es decir en poros de diferente diámetro. Este aspecto puede explicar la existencia de una correlación significativa entre el IPC al 60 % CRA y la K_d ($r^2 = 0.967$, $p = 0.0165$), pero no es significativa para un 40 % CRA ($r^2 = 0.885$, $p = 0.0591$) o pF = 2.5 ($r^2 = 0.883$, $p = 0.0605$). Es decir, a un mayor contenido en agua (60 % CRA) la situación del IPC se acerca más a un equilibrio como es el caso de la K_d . Este resultado confirma la validez de la K_d para describir procesos de lixiviación de compuestos en el perfil del suelo, que se desarrolla a altos

contenidos en agua, donde la situación se acerca bastante a un equilibrio.

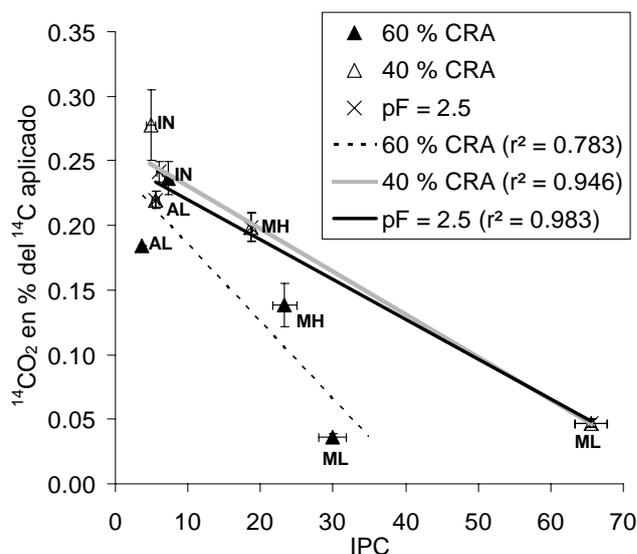


Fig. 2: Correlación entre IPC y mineralización, medido como ¹⁴CO₂ en % del ¹⁴C aplicado, al 40 % CRA, 60 % CRA y pF = 2.5 en los suelos Alfisol (AL), Inceptisol (IN), Mollisol-high (MH) y Mollisol-low (ML).

Sin embargo, la K_d , no tiene ninguna correlación significativa con la mineralización (tabla 3). La única humedad donde existe cierta tendencia es al 60 % CRA ($r^2 = 0.879$, $p = 0.0627$), donde, como ya se ha visto, la situación se acerca más a un equilibrio.

Llama la atención que al 40 % CRA los valores del IPC en los suelos Inceptisol y Mollisol-high son menores (4.91 y 18.72 respectivamente) que al 60 % CRA (7.34 y 23.31 respectivamente). En otras palabras, aunque la cantidad de solución extraída a menor contenido en agua sea menor, la mayor concentración de ¹⁴C-benzolína disuelta en la solución del suelo es mucho mayor y como consecuencia el producto de ambos es mayor que a humedad superior.

Para determinar la validez del IPC como indicador de la biodegradación de ¹⁴C-benzolína, éste se ha comparado con la mineralización del compuesto después del mismo tiempo de inoculación (5 días). La mejor correlación es la que resulta a un contenido en agua correspondiente a pF = 2.5 ($r^2 = 0.987$, $p = 0.0067$, figura 2). La correlación es peor al 40 % CRA ($r^2 = 0.946$, $p = 0.0274$) y no es significativa al 60 % CRA ($r^2 = 0.783$, $p = 0.1154$). Por lo tanto el IPC sigue la misma pauta que la degradación. Incluso existe una correlación significativa hasta la mineralización acumulativa de 11 días (tabla 3, $r^2 = 0.968$, $p = 0.0160$), por lo que el IPC puede predecir la mineralización por lo menos hasta este punto del experimento.

Siguiendo el modelo de Schroll et al. (2006) se han normalizado los valores del IPC y mineralización al valor máximo de mineralización que resulta a un pF = 2.18. A pF superiores, la mineralización decrece linealmente con la humedad y a pF inferiores la mineralización es constante o vuelve a disminuir. Existió una correlación lineal negativa

Tabla 3: Datos estadísticos (r^2 , error típico, F, y p-valor) para la regresión entre IPC, K_d y la mineralización a 5 días (Min., día 5), min. cumulativa después de 11 días (Min. Cum. 11 días) a diferente humedad (40 % CRA, 60 % CRA y pF = 2.5). El valor de pF = 2.18 resulta de la normalización de los valores según el modelo de Schroll et al. (2006) con máxima mineralización a esta humedad (n = 10, Inceptisol humedad 60 % CRA > pF = 2.18; **sig. > 99 %; *sig. > 95 %).

Humedad	Variable dependiente	IPC				K_d			
		Modelo		ANOVA		Modelo		ANOVA	
		R^2	error típico	F	p-valor	R^2	error típico	F	p-valor
40 % CRA	Min., día 5	0.946	0.028	34.95	0.0274*	0.817	0.0515	8.948	0.0960
	Min. Cum. 11 días	0.822	0.423	9.254	0.0932	0.716	0.5347	5.042	0.1538
	Kd	0.885	0.2279	15.406	0.0592	-	-	-	-
60 % CRA	Min., día 5	0.782	0.0486	7.193	0.1154	0.879	0.0363	14.477	0.0627
	Min. Cum. 11 días	0.751	0.3467	6.039	0.1333	0.842	0.2763	10.657	0.0824
	Kd	0.967	0.1215	59.207	0.016*	-	-	-	-
pF = 2.5	Min., día 5	0.987	0.0125	146.805	0.0067**	0.831	0.0445	9.812	0.8886
	Min. Cum. 11 días	0.968	0.1347	61.172	0.016*	0.791	0.3459	7.583	0.1104
	Kd	0.882	0.2305	15.019	0.0606	-	-	-	-
pF = 2.18 (n = 11)	Min., día 5	0.712	0.0673	22.28	0.0011**	-	-	-	-

entre el pF y la mineralización, así que el pF debe alcanzar su mínimo a este mismo valor. El único suelo estudiado con una humedad superior a este valor es el Inceptisol al 60 % CRA, y efectivamente el IPC es superior y la mineralización inferior al de pF = 2.5 ó 40 % CRA. Normalizando (al valor máximo de mineralización, a pF = 2.18) los demás valores de IPC y mineralización a los 5 días (a todas las humedades estudiadas) resulta una correlación altamente significativa ($r^2 = 0.712$, $p = 0.0011$).

Para que sea posible establecer esta relación hay que tener en cuenta dos aspectos. Por un lado, la volatilización es despreciable en el caso de ¹⁴C-benzolina (< 0.01 %), es decir que sólo hay que atender la distribución entre la fase sólida y líquida. Para compuestos más volátiles, también habría que considerar la fase gaseosa.

Por otro lado, la capacidad de degradación microbiana es comparable en los 4 suelos estudiados. No existen comunidades microbianas con una mineralización metabólica, como los encontrados para otros compuestos (Grundmann et al. 2007, Ruoss 2005, Schroll et al. 2004).

4.- Conclusiones

La significativa correlación entre K_d e IPC a altos contenidos en agua (60 % CRA), donde la situación se acerca a un equilibrio, confirma que la K_d es un buen valor para predecir la lixiviación de benzolina. Sin embargo no puede caracterizar la disponibilidad y biodegradación a menor humedad.

Aunque el IPC debería ser comprobado con más suelos y compuestos orgánicos, creemos que es un indicador válido de la biodegradación de compuestos orgánicos, siempre que el potencial de agua sea el sistema de referencia para la humedad. Otra ventaja importante del

método presentado es su fácil y rápida ejecución, así como el material necesario que no exige un equipamiento muy caro, como por ejemplo experimentos con lisímetros (Gallet y Keller 1999).

Bibliografía

- Allison, L.E., Bollen, W.E., Moodie, C.D. (1965): Organic Carbon. En: Black et al. (Eds.): *Methods of soil analysis*. Part 2. Agron. Monogr. 9. ASA, Madison (EE. UU.).
- Chapman, P. J., Williams, B. L., Hawkins, A. (2001): Influence of temperature and vegetation cover on soluble inorganic and organic nitrogen in a spodosol. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1113-1121.
- Edmunds, W. M., Bath, A. H. (1976): Centrifuge Extraction and Chemical Analysis of interstitial waters. *Environ. Sci. Technol.* 10: 467-472.
- Falkengren-Gerup, U.; Quist, M.E., Tyler, G. (1995): Relative importance of exchangeable and soil solution concentrations to the distribution of vascular plants. *Environ. Exp. Bot.* 35: 9-15.
- Gallet, C., Keller, C. (1999): Phenolic composition of soil solutions: comparative study of lysimeter and centrifuge waters. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1151-1160.
- Giesler, R., Lundström, U.S., Grip, H. (1996): Comparison of soil solution chemistry using zero-tension lysimeters or centrifugation. *Europ. J. Soil Sci.* 47: 395-405.
- Gillman, G.P. (1976): *A Centrifuge Method for obtaining soil solution*. Division of Soils Divisional Report No.16. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia.
- Grundmann, S.; Fuss, R.; Schmid, M.; Laschinger, M.; Ruth, B.; Schulin, R.; Munch, J.C.; Schroll, R. (2007): Application of microbial hot spots enhances pesticide degradation in soils. *Chemosphere* 68, 511-517.
- Gustafsson, J. P.; Van Hees, P.; Starr, M.; Karlton, E., Lundström, U. (2000): Partitioning of base cations and sulphate between solid and dissolved phases in three podzolised forest soil. *Geoderma* 94: 311-333.
- Hund-Rinke, K., Kördel, W. (2003): Underlying issues in bioaccessibility and bioavailability: experimental methods. *Ecotox. Environ. Saf.* 56: 52-62.
- Javadi, A.A., AL-Najjar, M.M. (2007): Finite element modeling of contaminant transport in soils including the effect of chemical reactions. *J. Hazard. Mat.* 143, 690-701.
- Kawahigashi, M., Sumida, H., Yamamoto, K. (2003): Seasonal changes in organic compounds in soil solutions obtained from volcanic ash soils under different land uses. *Geoderma* 113: 381-396.
- Klute, A. (1986): Water Retention: Laboratory Methods. En: Klute, A. (Ed.): *Methods of Soil analysis. Part 1: Physical and Mineralogical Methods*. Pp. 635-662. Madison, Wisconsin (EE. UU.).

- Landrum, P.L.; Hayton, L. W.; Lee, H.; McCarthy, H.; Mackay, D., McKim, J. M. (1994): Bioavailability: Physical, Chemical and Biological interactions. In: Hamerlöink, J.L.; Landrum, P. F.; Bergman, H. L., Benson, E. (Eds.): *SETAC Pellston Workshop Series*. Lewis, Bacon Raton, FL. 203-219.
- Meharg, A. A. (1996): Bioavailability of atrazine to soil microbes in the presence of the earthworm *Lumbricus terrestris* (L.). *Soil Biol. Biochem.* 28: 555-559.
- Peijnenburg, W., de Groot, A., Jager, T., Posthuma, L. (2005): Short-term ecological risk of depositing contaminated sediment on arable soil. *Ecotox. Environ. Saf.* 60: 1-14.
- Raber, B., Kögel-Knabner, I., Stein, C., Klem, D. (1998): Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons to dissolved organic matter from different soils. *Chemosphere* 36: 79-97.
- Ranger, J., Marques, R., Jussy, J.-H. (2001): Forest soil dynamics during stand development assessed by lysimeter and centrifuge solutions. *Forest Ecol. Manag.* 144: 129-145.
- Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K. T. (2000): Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environ. Pollut.* 108: 103-112.
- Ruoss, J. (2005): *Einfluss bodenphysikalischer und mikrobiologischer Faktoren auf das Abbauverhalten der Modellgemikalien Benazolin-Ethy und Benzo(a)pyren in Böden - Abbau, Umwandlung und Methoden zur Steuerung des in-situ-Abbaus*. Tesis doctoral, Universidad Técnica de Munich (Alemania).
- Schinkel, K., Nolting, H.-G., Lunde, J.-R. *Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4-1, Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden - Abbau, Umwandlung und Metabolismus*; Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Bundesrepublik Deutschland; ACO Druck GmbH: Braunschweig, Germany, 1986.
- Schlichting, E., Blume, H.P., Stahr, K. (1995): *Bodenkundliches Laborpraktikum*. Studentexte 81. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin (Alemania).
- Schroll, R., Brahusi, F., Dörfler, U., Kühn, S., Fekete, J., Munch J.C. (2004): Biomineralisation of 1,2,4-trichlorobenzene in soils by an adapted microbial population. *Environ. Pollut.* 127: 395-401.
- Schroll, R., Becher, H. H., Dörfler, U., Gayler, S., Grundmann, S., Hartmann, H.P., Ruoss, J. (2006): Quantifying the effect of soil moisture on the aerobic microbial mineralization of selected pesticides in different soils. *Environ. Sci. Technol.* 40: 3305-3312.
- Tyler, G. (2000): Effects of sample pretreatment and sequential fractionation by centrifuge drainage on concentrations of minerals in a calcareous soil solution. *Geoderma* 94: 59-70.