

## Optimization of phenanthrene contaminated soil washing using Response Surface Methodology

Farzaneh Gharibzadeh<sup>1</sup>, Roshanak Rezaei Kalantary<sup>2\*</sup>, Simin Nasseri<sup>3</sup>, Ali Esrafil<sup>2</sup>, Masoumeh Golshan<sup>2</sup>

1- Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Center for Water Quality Research (CWQR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background and Aims:** Soil washing using surfactant is a promising technology for PAHs removal from soil transferring them into liquid phase. The performance of this process is influenced by several factors such as surfactant concentration, washing time, liquid:soil ratio (L/S) and the presence of natural organic matter, which in the present study was totally investigated using the nonionic surfactant Tween 80.

**Materials and Methods:** Surfactant solution with three various concentrations of 500, 2750, 5000 mg/l, at liquid:soil ratios of 10, 20, 30 v/w (ml/g) containing three concentrations of 0, 10, 20 mg/l humic acid (as NOM) was added to phenanthrene contaminated soil samples. The samples were placed on a shaker for time interval of 2, 13 and 24 hours, then it was injected to HPLC for phenanthrene concentration analyze. This research was conducted on the basis of central composite design by using response surface method (RSM) in 29 experimental runs.

**Results:** Maximum removal efficiency (77.35%) was achieved under the experimental conditions of 5000 mg/l surfactant concentration, 30 v/w liquid:soil ratio, absence of humic acid and 24 h washing time. Surfactant concentration with impact value of 82.03% was the most effective parameter in phenanthrene removal. L/S was also the other significant factor ( $P < 0.0001$ ), but humic acid and washing time were, statistically, insignificant. The interaction between surfactant concentration and L/S was significant too.

**Conclusion:** Considering the conditions of Iran's soils containing 3-6 percent organic matter and based on the suggestions of RSM with 95.10% desirability, the optimum conditions for washing high- phenanthrene soil (about 500 mg/kg) with minimum washing time of 2 hours were as 5000 mg/l surfactant concentration, 30 v/w (ml/g) liquid:soil ratio, and 2.1 mg/l humic acid concentration (6.30%).

**Key words:** phenanthrene, soil washing, surfactant Tween 80, optimization

### \*Corresponding Author:

Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**Tel:** +982186704775

**Email:** rezaei.r@iums.ac.ir

**Received:** 4 June 2014

**Accepted:** 5 January 2015

## بهینه سازی شستشوی خاک آلوده به فنانتین به روش سطح پاسخ

فرزانه غریب زاده<sup>۱</sup>، روشنگ رضایی کلانتری<sup>۲\*</sup>، سیمین ناصری<sup>۲</sup>، علی اسرافیلی<sup>۳</sup>، معصومه گلشن<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات کیفیت آب، دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۴</sup> استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

<sup>۵</sup> کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** شستشوی خاک با کمک سورفاکتانت‌ها یک فن آوری با پتانسیل بالا برای حذف PAHs از خاک و انتقال آنها به فاز آبی می‌باشد. عملکرد این فرآیند تحت تاثیر پارامترهایی از قبیل غلظت سورفاکتانت، زمان شستشو، نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک (L/S) و حضور مواد آلی طبیعی می‌باشد، که در این پژوهش با استفاده از سورفاکتانت غیر یونی Tween 80 مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** به نمونه‌های خاک آلوده شده به فنانتین، محلول سورفاکتانت با سه غلظت ۵۰۰، ۲۷۵۰ و ۵۰۰۰ mg/l، نسبت‌های حجم محلول سورفاکتانت به خاک ۱۰ (v/w)، ۲۰، ۳۰، سه سطح غلظتی اسید هیومیک (به عنوان مواد آلی طبیعی) ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر لیتر اضافه و به مدت ۲، ۱۳ و ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از طی زمان‌های مذکور از محلول‌ها نمونه برداری شد و نمونه‌ها برای سنجش غلظت فنانتین به HPLC تزریق شدند. این مطالعه بر اساس طراحی مرکب مرکزی با استفاده از روش سطح پاسخ در ۲۹ دوره آزمایش انجام و از نرم افزارهای Design-Expert V.7 و Excel برای طراحی و آنالیز نمونه‌ها استفاده شد و داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** حداکثر راندمان حذف (۷۷/۳۵٪) در غلظت سورفاکتانت ۵۰۰۰ mg/l، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک ۳۰ v/w، زمان شستشوی ۲۴ ساعت و عدم حضور اسید هیومیک به دست آمد. غلظت سورفاکتانت با میزان تاثیر برابر با ۸۲/۰۳٪ موثرترین عامل در حذف فنانتین بود. فاکتور L/S نیز دیگر عامل معنی دار ( $P_{\text{Value}} = ۰/۰۰۰۱$ ) بود. همچنین بر هم کنش دو فاکتور غلظت سورفاکتانت و L/S نیز دارای تاثیر مثبت معنی دار بر حذف فنانتین بوده است. اما اسید هیومیک ( $P_{\text{Value}} = ۰/۷۹۷$ ) و مدت زمان شستشو ( $P_{\text{Value}} = ۰/۱۳۶$ ) فاکتورهای معناداری نبودند.

**نتیجه گیری:** با در نظر گرفتن شرایط طبیعی خاکهای ایران که حاوی حدود ۳ تا ۶ درصد مواد آلی می‌باشند، شرایط بهینه شستشوی خاک آلوده به غلظت بالایی از فنانتین (حدود ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک) در حداقل زمان شستشو بر مبنای پیشنهاد روش سطح پاسخ با مطلوبیت ۹۵/۱٪ عبارتست از غلظت سورفاکتانت ۵۰۰ mg/l (v/w L/S)، ۳۰ زمان شستشو ۲ ساعت و ۲/۱ mg/l (۶/۳٪) اسید هیومیک می‌باشد.

**کلید واژه‌ها:** فنانتین، شستشوی خاک، سورفاکتانت Tween 80، بهینه سازی

\* آدرس نویسنده مسئول:

تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده بهداشت، گروه مهندسی بهداشت محیط، تلفن: ۰۲۱۸۶۷۰۴۷۷۵

Email: rezaei.r@iums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۱۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۱۵

## مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) گروهی از آلاینده‌های آلی می‌باشند که در فرآیندهایی از قبیل احتراق ناقص سوخت‌های فسیلی، پالایش نفت، تولید گاز و زغال سنگ، پردازش چوب، و همچنین در اثر نشت و ریزش اتفاقی نفت انتشار می‌یابند [۱، ۲]. این ترکیبات بسیار سمی می‌باشند و پتانسیل سرطانزایی و جهش‌زایی دارند و به همین دلیل ۱۶ ترکیب PAH در فهرست آلاینده‌های در اولویت سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا قرار گرفته است [۲، ۳]. این ترکیبات به دلیل دارا بودن خصوصیتی از قبیل حلالیت آبی پایین، فراریت کم، ضریب انتشار اکتانول-آب ( $K_{ow}$ ) بالا، به شدت جذب خاک می‌شوند و پایداری آن‌ها در خاک تجزیه زیستی را زمان بر می‌سازد [۴].

جداسازی PAHs از خاک و حذف آن‌ها در محیط مایع می‌تواند یک روش سریع و موثر برای حذف این ترکیبات از محیط زیست باشد. روش شستشوی خاک با کمک سورفاکتانت‌ها یک فن آوری فیزیکی-شیمیایی با پتانسیل بالا برای خارج ساختن سریع آلاینده‌ها از خاک و انتقال آنها به فاز آبی می‌باشد [۵، ۱]. در بررسی‌های انجام شده سورفاکتانت غیر یونی Tween 80 با بیشترین ظرفیت حلالیت و استخراج، کمترین سمیت را در مقایسه با دیگر سورفاکتانت‌های شیمیایی داشته است [۶-۸].

پارامترهای مختلفی بر راندمان واجذب PAHs از خاک بوسیله سورفاکتانت‌ها تاثیر می‌گذارند. غلظت سورفاکتانت و زمان از پارامترهایی می‌باشند که تاثیر قابل توجهی بر راندمان استخراج PAHs دارند [۹-۱۱]. در بررسی Peng و همکاران (۲۰۱۱) و Fonseca و همکاران (۲۰۱۱) افزایش نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک تاثیر معناداری در افزایش استخراج PAHs از خاک داشته است [۹، ۱۱]. همچنین افزایش میزان واجذب PAHs در حضور همزمان سورفاکتانت و مواد آلی محلول گزارش شده است [۱۳، ۱۲]. Conte و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که راندمان اسید هیومیک در استخراج PAHs از خاک مشابه سورفاکتانت‌های شیمیایی می‌باشد [۱۴]. با این وجود در برخی مطالعات بیان شده است که جذب PAHs توسط مواد هوموسی باعث پایداری بیشتر آلاینده و کاهش میزان واجذب شده است [۱۶، ۱۵]. خاک‌های طبیعی دارای مواد آلی می‌باشند و حضور آن‌ها ممکن است بر واجذب آلاینده‌های آلی آبریز در فرایند شستشوی خاک تاثیر بگذارد، بنابراین تاثیر آن در

سیستم شستشوی خاک نیاز به بررسی دارد.

ارزیابی پارامترهای موثر بر راندمان حذف PAHs و بهینه سازی آنها برای جلوگیری از هدر دادن زمان و اجرای یک فرایند اقتصادی ضروری است. مطالعات محدودی که تاکنون تاثیر پارامترهای مختلف را بر راندمان فرایند شستشوی خاک آلوده به PAHs مورد بررسی قرار داده‌اند عموماً به روش یک فاکتور در زمان بوده‌اند [۹]. بنابراین تعیین شرایط بهینه شستشوی خاک با استفاده از روش‌های آماری می‌تواند یک روش مناسب برای مشخص نمودن فاکتورهای موثر و میزان اثر گذاری آن‌ها و احتمال تداخل این اثرات باشد [۱۷]. هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر غلظت سورفاکتانت، اسید هیومیک، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک (L/S) و زمان شستشو بر راندمان حذف فناترن در فرایند شستشوی خاک با کمک سورفاکتانت غیر یونی Tween 80 می‌باشد. طراحی مرکب مرکزی (CCD) با استفاده از روش سطح پاسخ برای تعیین شرایط بهینه، بیان میزان تاثیر هر متغیر مستقل و اثرات متقابل بین آنها مورد استفاده قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### مواد شیمیایی

فناترن (نماینده‌ای از PAHs با فرمول مولکولی  $C_{14}H_{10}$  و وزن مولکولی ۱۷۸/۲۳ گرم بر مول با درجه خلوص بیش از ۹۸٪، استون و NaCl از شرکت Merck، کلرید جیوه ( $HgCl_2$ ) از شرکت BDH Chemicals Ltd خریداری شدند. سورفاکتانت Tween 80 و اسید هیومیک از شرکت Fluka و استونتریل HPLC grade از شرکت SAMCHUN کره جنوبی تهیه شدند.

### آزمایش حل کنندگی سورفاکتانت برای فناترن

۲۰ میلی لیتر از محلول سورفاکتانت با غلظت‌های متوالی در ارلن‌های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و فناترن به صورت ماده جامد به میزان بیشتر از مقدار مورد نیاز به منظور اشباع شدن به ارلن‌ها اضافه گردید. سپس ارلن‌ها بر روی شیکر Heidolph مدل ProMAX 2020 با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای  $1 \pm 20^\circ C$  قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه برای جداسازی کامل مواد حل نشده با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با مدل Hettich Universal سانتریفیوژ شدند. سپس حجم مناسبی از محلول برای سنجش غلظت فناترن برداشته و فیلتر شد (Syringe filter 0.45  $\mu m$  PTFE) [۱۰].

جدول ۲- سطوح و محدوده متغیرهای مستقل

متغیرهای مستقل	سطوح		
	-۱	۰	+۱
غلظت سورفاکتانت (mg/l)	۵۰۰	۲۷۵۰	۵۰۰۰
غلظت اسید هیومیک (HA) (mg/l)	۰	۱۰	۲۰
نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک (ml/g)(L/S)	۱۰	۲۰	۳۰
زمان شستشو (h)	۲	۱۳	۲۴

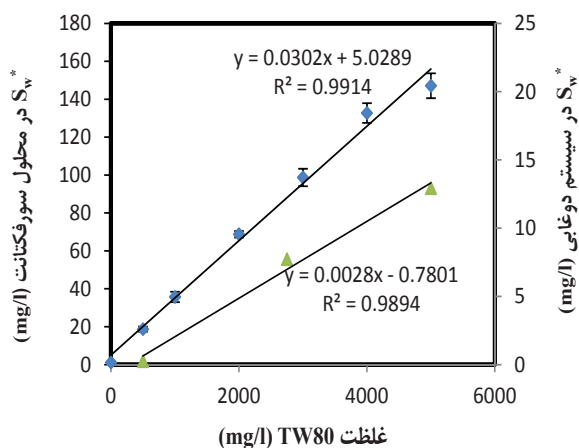
## روش سنجش فنانترون

غلظت فنانترون در محلول بوسیله دستگاه HPLC با مشخصات ستون آنالیز  $C_{18}$  4.1 × 250 mm ID، سرعت جریان ۱ mL/min، حجم تزریق ۲۰ μL، حلال استونیتریل / آب (۹۰-۱۰٪) و طول موج دتکتور ۲۲۰ nm، تعیین شد [۸].

## یافته‌ها

## حلالیت فنانترون

در این تحقیق افزایش حلالیت فنانترون توسط سورفاکتانت Tween 80 اندازه گیری و حلالیت ظاهری فنانترون ( $S_w^*$ ) که بیان کننده میزان فنانترون حل شده می‌باشد در مقابل غلظت سورفاکتانت در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود حلالیت آبی فنانترون با افزایش غلظت سورفاکتانت به صورت خطی افزایش می‌یابد.



شکل ۱- ارتباط بین میزان حلالیت فنانترون و غلظت سورفاکتانت Tween 80 در محلول سورفاکتانت ▲ سیستم دوغابی، L/S: ۲۰ v/w

## آزمایشات شستشوی خاک

خاک معمولی از ارتفاع حدود ۲۰-۱۰ سانتیمتری سطح زمین در تهران برداشته، در دمای اتاق خشک و برای یکنواختی از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. برای حذف مواد آلی، خاک چندین مرتبه با استون و در مرحله آخر با آب مقطر برای حذف استون شستشو داده شد و در دمای اتاق خشک گردید. از این خاک به میزان ۴ گرم در ارلن‌ها ی ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد. سپس از محلول فنانترون در استون برای دستیابی به غلظت ۵۰۰ kg/mg به نمونه‌های خاک اضافه گردید. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه قرار داده شدند تا استون تبخیر و خاک کاملاً خشک شود [۱].

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک در این مطالعه

هدایت الکتریکی (EC)	pH	مواد آلی	شن	ماسه	رس و سیلت
۲/۱۷۴ mmohs/cm	۸	۴/۲٪	۱۳٪	۶۰٪	۲۷٪

به نمونه‌های خاک آلوده محلول سورفاکتانت حاوی NaCl ۰/۰۱ مولار برای حفظ قدرت یونی و  $HgCl_2$  ۰/۰۱ مولار برای ممانعت از تجزیه بیولوژیکی، با غلظت‌های مختلف و نسبت‌های مختلف حجم محلول سورفاکتانت به خاک (L/S) برای بدست آوردن بهترین شرایط واجذب فنانترون، اضافه و نمونه‌ها در مدت زمان مشخصی روی شیکر با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه در دمای  $20 \pm 1^\circ C$  قرار داده شدند. پس از طی زمان‌های مشخص نمونه‌ها سانتریفیوژ و فیلتر شده و برای سنجش به HPLC تزریق شدند [۱۰، ۱۲].

## طراحی آزمایش

برای تعیین کارایی فرایند شستشوی خاک آلوده به فنانترون توسط محلول سورفاکتانت، بررسی تاثیر هر یک از فاکتورها و بهینه سازی آماری فاکتورها از طرح آماری مرکب مرکزی استفاده شد. در این تحقیق ۴ فاکتور در ۳ سطح مطابق جدول ۲ مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت ۲۹ آزمایش توسط مدل در نظر گرفته شد. به منظور بررسی سایر فاکتورها برای نمونه‌ها تعدادی شاهد، بدون حضور سورفاکتانت در نظر گرفته شد. کلیه نتایج آزمون از میانگین نتایج سه بار تکرار محاسبه گردید و اعداد با اطمینان ۹۵٪ ( $P < 0/05$ ) گزارش شدند. در این تحقیق از نرم افزار Design-Expert V.7 و Excel برای طراحی و آنالیز نمونه‌ها استفاده شد و داده‌ها با استفاده از آزمون آماری واریانس (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند.

## نتایج آزمایشات شستشوی خاک

نتایج حذف فناترن در آزمایشات شستشوی خاک در شکل ۲ نشان داده شده است. برای بیان راندمان حذف فناترن در برابر متغیرهای مستقل معادله زیر همراه با کد فاکتورها به وسیله مدل ارائه شد:

$$\begin{aligned} \text{حذف فناترن} = & +29/78 + 26/20 \times A + 10/26 \times B - \\ & 0/27 \times C + 1/60 \times D + 6/86 \times A \times B + 0/20 \times A \times C + \\ & 0/33 \times A \times D - 0/070 \times B \times C + 0/34 \times B \times D - 0/68 \times C \times D \end{aligned}$$

A غلظت سورفاکتانت، B نسبت محلول سورفاکتانت به خاک (L/S)، C غلظت اسید هیومیک و D زمان شستشو می‌باشد. نتایج واقعی بدست آمده و پیش بینی شده توسط مدل با ضریب همبستگی ( $R^2$ ) برابر با ۰/۹۷۷۸ بسیار با یکدیگر هماهنگ می‌باشند. این نتیجه به این معنی است که ۹۷/۷۸٪ مقادیر حذف با متغیرهای مستقل قابل توضیح است. حداکثر راندمان حذف (۷۷/۳۵٪) در غلظت سورفاکتانت ۳۰۰۰ mg/l، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک ۳۰ v/w، عدم حضور اسید هیومیک و در زمان شستشوی ۲۴ ساعت بدست آمد. براساس نتایج حاصل از آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA)،  $P \text{ Value} < 0/0001$  و F-value برابر با ۷۹/۱۱ نشان می‌دهد که مدل خطی انتخاب شده بسیار معنی دار بوده و می‌توان واجذب فناترن را از خاک در محدوده آزمایش شده پیش بینی نمود.

متغیر مستقل غلظت سورفاکتانت با F-value برابر با ۶۴۸/۹۶ و درصد تاثیر ۸۲/۰۳ به عنوان موثرترین عامل در حذف فناترن شناخته شد. فاکتور نسبت محلول سورفاکتانت به خاک نیز با F-value برابر با ۹۹/۵۲ و درصد تاثیر برابر با ۱۲/۵۷۹ دیگر عامل بسیار معنی دار ( $P \text{ Value} < 0/0001$ ) بود. اما دو فاکتور اسید هیومیک و مدت زمان شستشو با P Value به ترتیب برابر با ۰/۷۹۷ و ۰/۱۳۶ تاثیر معنی داری بر بازده حذف فناترن از خاک نداشتند. همه پارامترها به غیر از اسید هیومیک تاثیر مثبت بر روی بازده حذف فناترن داشتند، به این معنی که با افزایش غلظت اسید هیومیک راندمان حذف فناترن کاهش می‌یابد. در بین برهم کنش‌ها نیز تنها برهم کنش غلظت سورفاکتانت و L/S دارای اثر بسیار مهم ( $P \text{ Value} < 0/0001$ ) با F-value برابر با ۳۹/۵۴ می‌باشد. در هیچ یک از آزمایشات شاهد که بدون حضور سورفاکتانت و با در نظر گرفتن سایر پارامترها انجام شد، میزان واجذب فناترن در حد قابل تشخیص دست‌گام نبود.

برای اندازه گیری افزایش حلالیت PAHs توسط یک سورفاکتانت خاص از پارامتری به نام نسبت مولار حل کنندگی (MSR) استفاده می‌شود که عبارت است تعداد مول‌های ماده حل شونده به تعداد مول‌های محلول سورفاکتانت [۶].

$$MSR = \frac{S_{PAH,MIC} - S_{PAH,CMC}}{C_S - C_{CMC}}$$

$S_{PAH,MIC}$  و  $S_{PAH,CMC}$  به ترتیب عبارتند از حلالیت ظاهری کل PAH (مول در لیتر) در محلول سورفاکتانت در غلظت ویژه بیشتر از غلظت بحرانی میسل و حلالیت ظاهری PAH (مول در لیتر) در محلول سورفاکتانت در غلظت بحرانی میسل.  $C_S$  غلظت سورفاکتانت (مول در لیتر) که در آن  $S_{PAH,CMC}$  تعیین می‌شود و CMC (مول در لیتر) غلظت بحرانی میسل سورفاکتانت می‌باشد [۶]. در صورتی که پارامترهای معادله بر اساس واحد جرمی بیان شوند، به آن نسبت وزنی حل کنندگی (WSR) می‌گویند [۱۹]. در حضور مقدار کمی بیش از حد اشباع، می‌توان MSR و WSR را از شیب نمودار حلالیت که در آن حلالیت ماده حل شده در مقابل غلظت سورفاکتانت رسم شده است بدست آورد [۱۹].

برای بیان تاثیر حل کنندگی سورفاکتانتها برای PAHs عبارت دیگری به نام ضریب انتشار میسل-آب ( $K_m$ ) نیز استفاده می‌شود. عبارت است از نسبت جزء مولی PAH در فاز میسلار ( $X_m$ ) به جزء مولی PAH در فاز آبی ( $X_a$ )، که به صورت زیر بیان می‌شود [۶]:

$$K_m = \frac{X_m}{X_a}$$

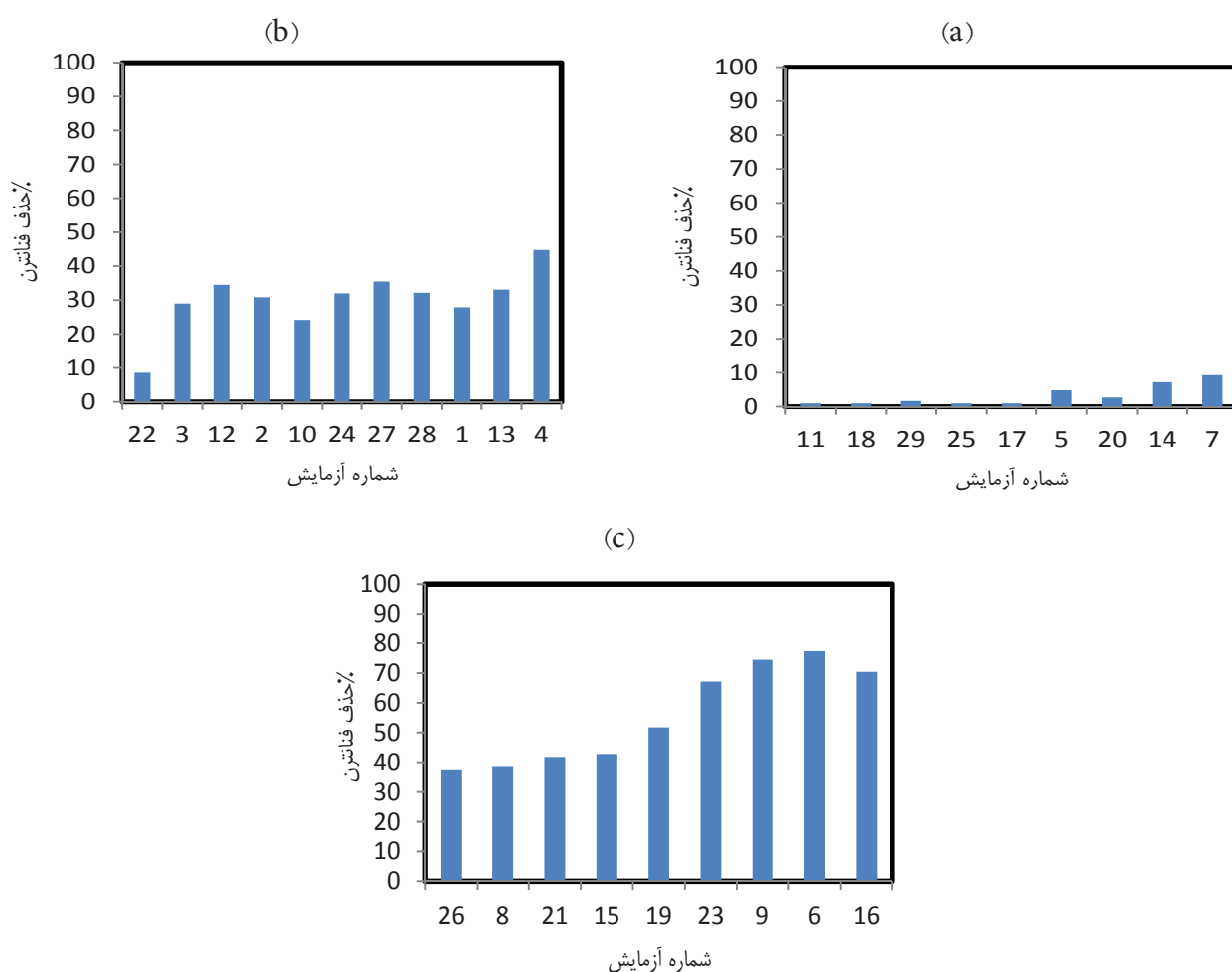
جزء مولی PAH در فاز میسلار ( $X_m$ ) را می‌توان با استفاده از MSR، از فرمول زیر محاسبه کرد:

$$X_m = \frac{MSR}{(1 + MSR)}$$

جزء مولی PAH در فاز آبی ( $X_a$ ) نیز به صورت زیر تعیین می‌شود:

$$X_a = S_{CMC} \times V_w$$

$V_w$  عبارت است حجم مولی آب (۰/۰۱۸۰۵ L/mol). میزان MSR و WSR فناترن در محلول سورفاکتانت Tw80 به ترتیب عبارتند از ۰/۲۲۱ و ۰/۰۳۰ مقدار  $\log k_m$  این سورفاکتانت برای فناترن نیز ۶/۰۵۸ بدست آمد.



شکل ۲- میزان حذف در آزمایشات مختلف (a) غلظت سورفاکتانت  $500 \text{ mg/l}$  (b) غلظت سورفاکتانت  $2750 \text{ mg/l}$  (c) غلظت سورفاکتانت  $5000 \text{ mg/l}$  در آزمایشات مختلف در  $L/S=10 \text{ ml/g}$  در آزمایشات ۱۱، ۱۸، ۲۹، ۲۵، ۲۲، ۲۶، ۸، ۲۱، ۱۵. در آزمایشات ۱۷، ۳، ۱۲، ۲، ۱۰، ۲۴، ۲۷، ۲۸، ۱، ۱۳، ۱۹.  $L/S=10 \text{ ml/g}$  در آزمایشات ۵، ۲۰، ۱۴، ۷، ۴، ۲۳، ۹، ۱۶. در آزمایشات  $HA=0 \text{ mg/l}$  در آزمایشات ۱۱، ۲۹، ۵، ۱۴، ۱۲، ۲۶، ۲۱، ۲۳، ۶.  $HA=10 \text{ mg/l}$  در آزمایشات ۱۷، ۲۲، ۳، ۲، ۱۰، ۲۴، ۲۷، ۲۸، ۱۳، ۴، ۱۹.  $HA=20 \text{ mg/l}$  در آزمایشات ۱۸، ۲۵، ۲۰، ۷، ۱، ۸، ۱۵، ۹، ۱۶. زمان شستشو= $2 \text{ h}$  در آزمایشات ۱۱، ۱۸، ۵، ۲۰، ۳، ۲۶، ۸، ۲۳، ۹. زمان شستشو= $13 \text{ h}$  در آزمایشات ۱۷، ۲۲، ۱۲، ۲، ۱۰، ۲۴، ۲۷، ۲۸، ۱، ۴، ۱۹. زمان شستشو= $24 \text{ h}$  در آزمایشات ۲۹، ۲۵، ۱۴، ۷، ۱۳، ۲۱، ۱۵، ۶، ۱۶.

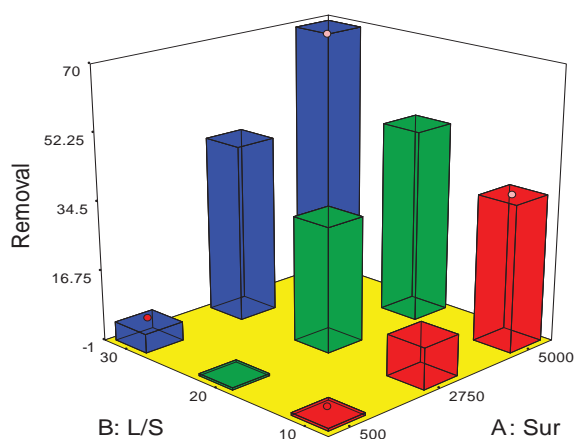
در غلظت‌های کم سورفاکتانتها به صورت مولکول‌های مجزا (مونومرها) در محلول حضور دارند. با افزایش غلظت سورفاکتانت و تجاوز از غلظت بحرانی میسل، مولکول‌های سورفاکتانت به یکدیگر می‌پیوندند و میسل‌ها را تشکیل می‌دهند [۱۱]. حلالیت فنانترن توسط مونومرهای سورفاکتانت ناچیز می‌باشد با افزایش غلظت سورفاکتانت، فنانترن در هسته‌های آبگریز میسل‌های آن قرار می‌گیرد که باعث افزایش حلالیت فنانترن می‌شود [۱۹].

## بحث

بررسی میزان حلالیت PAHs توسط یک سورفاکتانت خاص، به عنوان شاخصی در ارزیابی توانایی سورفاکتانت در فرآیند شستشوی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۹]. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است حلالیت فنانترن با افزایش غلظت سورفاکتانت به صورت خطی و با ضریب همبستگی  $0.991$  افزایش می‌یابد. این همبستگی خطی در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است [۶، ۱۹، ۲۰].

وقتی غلظت سورفاکتانت در سیستم دوغابی تا حد  $CMC_{eff}$  افزایش یابد، میزان سورفاکتانت جذب شده به سطح ثابتی می‌رسد و با افزایش غلظت سورفاکتانت میسل‌ها شروع به تشکیل شدن و رقابت برای گرفتن مولکول‌های PAH می‌کنند. در نتیجه غلظت PAH در فاز آبی افزایش می‌یابد [۲۲، ۲۳].

بر اساس نتایج آنالیز واریانس با اطمینان ۹۵٪ نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک دیگر فاکتور معنی دار بر بازده حذف فنانترون می‌باشد. همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است بازده حذف فنانترون با افزایش L/S از ۱۰ v/w تا ۳۰ v/w به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. زیرا حداکثر جذب سورفاکتانت مستقل از نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک می‌باشد و با افزایش حجم محلول تغییر نمی‌کند و تنها به ظرفیت جذب سورفاکتانت توسط خاک بستگی دارد [۲۴]. بنابراین مقدار بیشتری سورفاکتانت در سیستم باقی مانده که باعث افزایش بیشتر حلالیت PAH می‌شود. در بررسی Peng و همکاران (۲۰۱۱) نیز با افزایش L/S از ۱ v/w تا ۲۰ v/w میزان حذف PAHs از ۰ تا ۹۰٪ افزایش یافت [۹]. همچنین واجذب بیشتر فنانترون با افزایش نسبت محلول سورفاکتانت به خاک از ۲/۵ v/w به ۱۰ w/v توسط Fonseca و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش شد [۱۱]. با توجه به شکل ۳ و آنالیز واریانس مشخص است که بر هم کنش دو متغیر غلظت سورفاکتانت و نسبت حجم محلول سورفاکتانت به خاک بسیار معنا دار می‌باشد. به این معنا که افزایش این دو پارامتر به صورت همزمان باعث افزایش بیشتر مقدار سورفاکتانت در سیستم خواهد شد که در نتیجه افزایش حلالیت و حذف فنانترون از خاک را در پی خواهد داشت.



شکل ۳- تاثیر غلظت سورفاکتانتو نسبت L/S بر درصد حذف فنانترون، HA: ۱۰ mg/l، زمان شستشو: ۱۳ h

مقادیر MSR، WSR و  $\log K_m$  اندازه گیری شده بوسیله محققان دیگر به مقادیر محاسبه شده در این تحقیق نزدیک می‌باشد. برای مثال مقادیر MSR، WSR و  $\log K_m$  سورفاکتانت Tween 80 برای فنانترون بوسیله Zhou و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب ۰/۰۳۶۱، ۰/۲۵۶ و ۶/۲۲ و بوسیله Aryal و همکاران (۲۰۱۳) ۰/۰۳۹۵، ۰/۲۹ و ۶/۰۴۳ بدست آمد [۶، ۱۹]. مقادیر MSR و WSR در سیستم دوغابی در این تحقیق به ترتیب ۰/۰۰۲ و ۰/۰۱۸ بدست آمد، که نسبت به مقادیر بدست آمده در محلول سورفاکتانت بسیار کمتر می‌باشد. به دلیل این که در سیستم دوغابی مقداری از سورفاکتانت جذب خاک می‌شود که منجر به کاهش مقدار آن در محلول می‌شود، در نتیجه مقدار کمتری فنانترون را حل می‌کند [۹]. به علاوه جذب PAH به سورفاکتانت جذب شده به خاک نیز می‌تواند دلیل دیگر کاهش میزان حلالیت آن باشد [۲۱].

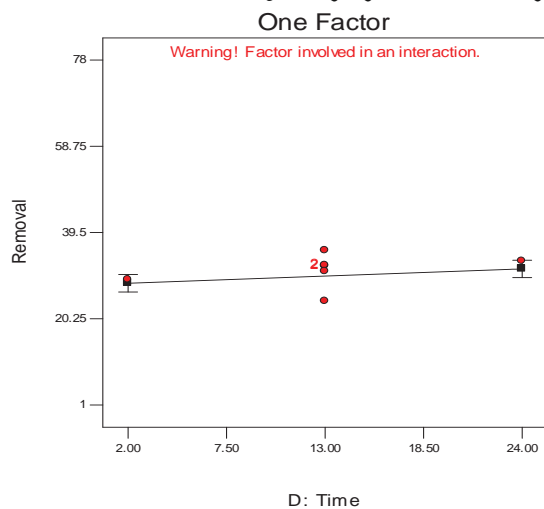
بر اساس مطالعات قبلی انجام شده بوسیله محققان دیگر، غلظت سورفاکتانت به عنوان یک متغیر مهم و تاثیرگذار در استخراج فنانترون از خاک معرفی شده است. در این مطالعه نیز همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است راندمان حذف فنانترون با افزایش غلظت Tw 80 از ۵۰۰ تا ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر به شدت افزایش می‌یابد، که با نتایج بدست آمده توسط Zhou و همکاران (۲۰۱۳) همخوانی دارد. اما آن‌ها دریافته‌اند که با افزایش بیشتر غلظت سورفاکتانت تا ۱۵ g/l واجذب فنانترون با شیب بسیار ملایمی افزایش می‌یابد و سپس به یک خط صاف می‌رسد [۱۰].

همچنین Peng و همکاران (۲۰۱۱) که درصد استخراج PAHs را بوسیله دو سورفاکتانت غیر یونی مورد بررسی قرار دادند، بیان کردند که درصد حذف PAHs با افزایش غلظت سورفاکتانت تا ۵ g/l به شدت افزایش می‌یابد و پس از آن به شرایط تعادلی می‌رسد [۹].

در آزمایشات شستشوی خاک با استفاده از محلول سورفاکتانت با غلظت ۵۰۰ mg/l حلالیت فنانترون بسیار ناچیز بود در حالی که ظرفیت حلالیت فنانترون در محلول سورفاکتانت با غلظت ۵۰۰ mg/l حدود ۱۸ mg/l می‌باشد (شکل ۱)، به دلیل جذب سورفاکتانت به خاک می‌توان گفت  $CMC$  سورفاکتانت در محیط دوغابی بیشتر از محیط محلول است [۹]. این  $CMC$  موثر ( $CMC_{eff}$ ) (غلظتی که در آن اولین میسل در سیستم خاک و محلول سورفاکتانت تشکیل می‌گردد) نامیده می‌شود.  $CMC_{eff}$  سورفاکتانت Tween 80 بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر تخمین زده شده است [۲۲].

به علاوه سورفاکتانت‌ها نیز می‌توانند به وسیله مواد آلی جذب شوند و میزان جذب آن‌ها با افزایش مواد آلی افزایش می‌یابد [۲۶]. در نتیجه مقدار سورفاکتانت در سیستم کاهش می‌یابد که می‌تواند سبب کاهش حذف فنانترن شود.

در این مطالعه بازه زمانی ۲ تا ۲۴ ساعت برای بررسی تاثیر پارامترهای موثر در فرایند شستشوی خاک در نظر گرفته شد. Yu و همکاران (۲۰۱۱) زمان ۲۴ ساعت را برای دستیابی به تعادل واجذب فنانترن و پابرن مدنظر قرار دادند [۱۳]. Lima و همکاران (۲۰۱۱) نیز آزمایشات شستشوی خاک را در مدت زمان ۲۴ ساعت انجام دادند [۲۸]. در مطالعه‌ی Fonseca و همکاران (۲۰۱۱) واجذب فنانترن در مدت ۸ ساعت به تعادل رسید [۱۱]. López-Vizcaíno و همکاران (۲۰۱۲) زمان ۶ ساعت را برای مطالعه تاثیر پارامترها در فرایند شستشوی خاک در نظر گرفتند [۱]. اما در تحقیق Peng و همکاران (۲۰۱۱) زمان یک ساعت به عنوان زمان تعادلی در استخراج PAHs از خاک گزارش شد [۹]. در مطالعه حاضر نیز با توجه به شکل ۵ واجذب فنانترن با افزایش زمان واکنش تقریباً ثابت است. بنابراین زمان ۲ ساعت می‌تواند زمان مناسب برای حذف فنانترن از خاک در نظر گرفته شود.



شکل ۵- تاثیر زمان بر درصد حذف فنانترن، غلظت سورفاکتانت:

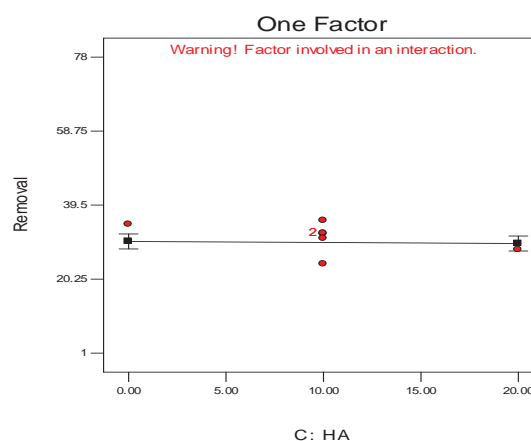
$$20\text{v/w} : \text{L/S} : \text{HA} : 10, 2750 \text{ mg/l}$$

#### بهینه سازی شرایط برای حذف فنانترن

به منظور تعیین شرایط بهینه در فرایند شستشوی خاک برای دستیابی به حداکثر راندمان حذف، درصد حذف فنانترن (پاسخ)، حداکثر (maximize) و متغیرهای مستقل، در محدوده (in range) تعریف شدند.

به طوری که با افزایش تنها یک عامل بازده حذف خیلی کمتر خواهد بود. به عنوان مثال با افزایش غلظت سورفاکتانت تا ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر و ثابت در نظر گرفتن نسبت محلول به خاک برابر ۱۰ راندمان حذف تنها حدود ۳۸٪ خواهد بود، در حالی که با افزایش نسبت محلول به خاک تا ۳۰ w/v همزمان با افزایش غلظت راندمان حذف تا حدود ۷۷٪ افزایش خواهد یافت.

براساس آنالیز واریانس اسید هیومیک به عنوان یک فاکتور بی تاثیر در واجذب فنانترن از خاک تشخیص داده شد. به علاوه با توجه به شکل ۴ درصد حذف فنانترن در قبال غلظت اسید هیومیک از شیب منفی آرامی پیروی می‌کند که برخلاف نتیجه ای است که توسط P. Conte و همکاران (۲۰۰۵) به دست آمد [۱۴]. An و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که میزان واجذب فنانترن از خاک فاقد مواد آلی محلول در مقایسه با خاک دارای مواد آلی محلول، نسبتاً کمتر بود [۲۵]. در تحقیق Cheng و Wong (۲۰۰۶) نیز حضور همزمان مواد آلی محلول و Tween 80 در مقایسه با تاثیر هر یک از آن‌ها به تنهایی در واجذب فنانترن بیشتر بود [۱۲]. از طرفی Sun و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که حضور مواد آلی راندمان استخراج PAHs را کاهش می‌دهد [۲۶]. ترکیبات PAH تمایل زیادی به جذب شدن توسط مواد آلی دارند و میزان جذب با افزایش مقدار مواد آلی خاک افزایش می‌یابد [۲۶]. بنابراین پیوستگی بین PAHs و هیومیک اسید مقدار آزاد آلاینده را در سیستم کاهش می‌دهد و باعث محدود شدن واجذب و افزایش پایداری آن در خاک می‌شود [۱۵، ۱۶]. در مطالعه قبلی ما نیز حضور مواد آلی واجذب آرام PAH را در پی داشت [۲۷].



شکل ۴- تاثیر غلظت اسید هیومیک (HA) بر درصد حذف فنانترن،

غلظت سورفاکتانت:  $20\text{v/w} : \text{L/S} : 2750 \text{ mg/l}$ ، زمان شستشوی: ۱۳ h



با ۰/۲۲۱، ۰/۳۰ و ۶/۰۵۸ افزایش یافت. بررسی فاکتورهای موثر بر بازده حذف فناترن در فرایند شستشوی خاک نشان داد که غلظت سورفاکتانت با ۸۲/۰۳٪ تاثیر بیشترین تاثیر را بر راندمان حذف فناترن داشته است. CMC موثر سورفاکتانت در سیستم دوغابی به دلیل جذب سورفاکتانت روی خاک بیشتر از CMC در محیط مایع است. با افزایش غلظت سورفاکتانت بیشتر از  $CMC_{eff}$  بازده حذف فناترن افزایش یافت. نسبت محلول سورفاکتانت به خاک نیز دیگر عامل موثر بر میزان حذف فناترن بوده است، به طوری که با افزایش  $L/S$  از  $v/w$  ۱۰ تا ۳۰ بازده واجذب فناترن افزایش می‌یابد. دو پارامتر اسید هیومیک و زمان شستشو در محدوده انتخاب شده است تاثیر معنی داری را بر راندمان حذف فناترن نشان ندادند. بر هم کنش دو فاکتور غلظت سورفاکتانت و  $L/S$  تاثیر معنی دار و مثبتی را بر میزان استخراج فناترن داشت. شرایط بهینه در این تحقیق برای دستیابی به حدکثر راندمان حذف فناترن با توجه به میزان مواد آلی در خاک‌های طبیعی عبارتست از: غلظت سورفاکتانت  $5000 \text{ mg/l}$ ، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک  $30 \text{ v/w}$ ، غلظت اسید هیومیک  $2/1 \text{ mg/l}$  (۶/۳٪)، زمان شستشو ۲ ساعت. با توجه به غلظت در نظر گرفته شده آلاینده در خاک از این روش می‌توان برای خاک‌های با آلودگی بسیار بالا که بیشتر مربوط به نشتی‌های طولانی مدت و یا حوادث هستند استفاده نمود.

شرایط بهینه برای دستیابی به حداکثر درصد حذف عبارتست از غلظت سورفاکتانت  $5000 \text{ mg/l}$ ، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک  $30 \text{ v/w}$ ، غلظت اسید هیومیک  $2/1 \text{ mg/l}$ ، زمان شستشو ۲۴ ساعت. در این شرایط میزان حذف فناترن پیش بینی شده توسط مدل  $75/72\%$  می‌باشد. همانطور که ذکر شد افزایش زمان واکنش نیز در محدوده ۲ تا ۲۴ ساعت افزایش قابل توجهی را در افزایش بازده حذف فناترن در پی نداشت. در نتیجه برای صرفه جویی در زمان، انرژی و هزینه می‌توان این فاکتور را حداقل تعریف کرد. در این شرایط مقادیر بهینه متغیرها برای دستیابی به حدکثر راندمان حذف عبارتند از غلظت سورفاکتانت  $5000 \text{ mg/l}$ ، نسبت محلول سورفاکتانت به خاک  $30 \text{ v/w}$ ، غلظت اسید هیومیک  $2/1 \text{ mg/l}$ ، زمان شستشو ۲ ساعت. در این شرایط میزان حذف فناترن پیش بینی شده توسط مدل با مطلوبیت  $69/98\%$  می‌باشد، که نسبت به شرایط بهینه پیشنهادی توسط مدل تفاوت چشمگیری نداشته، اما زمان شستشو از ۲۴ ساعت به ۲ ساعت تقلیل می‌یابد که در اجرا می‌تواند تاثیر بسزایی داشته باشد.

### نتیجه گیری

حلالیت فناترن در محلول سورفاکتانت غیر یونی Tween 80 با افزایش غلظت سورفاکتانت از  $500 \text{ mg/l}$  تا  $5000 \text{ mg/l}$  به صورت خطی، با میزان WSR، MSR و  $\log k_m$  به ترتیب برابر

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی مرکز تحقیقات کیفیت آب پژوهشگاه محیط زیست دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران اجرا شده است. نویسندگان این مقاله از این مرکز به دلیل مساعدت در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

**REFERENCES**

1. López-Vizcaíno R, Sáez C, Cañizares P, Rodrigo MA. The use of a combined process of surfactant-aided soil washing and coagulation for PAH-contaminated soils treatment. *Separation and Purification Technology* 2012; 88(0): 46-51.
2. Fernández-Luqueño F, Valenzuela-Encinas C, Marsch R, Martínez-Suárez C, Vázquez-Núñez E, Dendooven L. Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil—possibilities and challenges: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 2011; 18(1): 12-30.
3. Lu X-Y, Zhang T, Fang H. Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2011; 89(5): 1357-71.
4. Yang L, Jin M, Tong C, Xie S. Study of dynamic sorption and desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in silty-clay soil. *Journal of Hazardous Materials* 2013; 245(0):77-85.
5. Gómez J, Alcántara MT, Pazos M, Sanromán MA. Remediation of polluted soil by a two-stage treatment system: Desorption of phenanthrene in soil and electrochemical treatment to recover the extraction agent. *Journal of Hazardous Materials* 2010; 173(1–3): 794-8.
6. Aryal M, Liakopoulou-Kyriakides M. Biodegradation and Kinetics of Phenanthrene and Pyrene in the Presence of Nonionic Surfactants by *Arthrobacter* Strain Sphe3. *Water Air Soil Pollut* 2013; 224 (2): 1-10.
7. Alcántara MT, Gómez J, Pazos M, Sanromán MA. Combined treatment of PAHs contaminated soils using the sequence extraction with surfactant–electrochemical degradation. *Chemosphere* 2008;70(8):1438-44.
8. Jin D, Jiang X, Jing X, Ou Z. Effects of concentration, head group, and structure of surfactants on the degradation of phenanthrene. *Journal of Hazardous Materials* 2007;144(1–2): 215-21.
9. Peng S, Wu W, Chen J. Removal of PAHs with surfactant-enhanced soil washing: Influencing factors and removal effectiveness. *Chemosphere* 2011; 82(8): 1173-7.
10. Zhou W, Wang X, Chen C, Zhu L. Enhanced soil washing of phenanthrene by a plant-derived natural biosurfactant, *Sapindus saponin*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2013 ;425(0): 122-8.
11. Fonseca B, Pazos M, Figueiredo H, Tavares T, Sanromán MA. Desorption kinetics of phenanthrene and lead from historically contaminated soil. *Chemical Engineering Journal* 2011 ;167(1): 84-90.
12. Cheng KY, Wong JWC. Combined effect of nonionic surfactant Tween 80 and DOM on the behaviors of PAHs in soil–water system. *Chemosphere* 2006 ;62(11):1907-16.
13. Yu H, Huang G-h, An C-j, Wei J. Combined effects of DOM extracted from site soil/compost and biosurfactant on the sorption and desorption of PAHs in a soil–water system. *Journal of Hazardous Materials* 2011; 190(1–3): 883-90.
14. Conte P, Agretto A, Spaccini R, Piccolo A. Soil remediation: humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. *Environmental Pollution* 2005 ;135(3): 515-22.
15. Tejada-Agredano M-C, Mayer P, Ortega-Calvo J-J. The effect of humic acids on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons depends on the exposure regime. *Environmental Pollution* 2014 ;184(0): 435-42.
16. Plaza C, Xing B, Fernández JM, Senesi N, Polo A. Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environmental Pollution* 2009; 157(1): 257-63.

17. Lu M, Yuan D, Li Q, Ouyang T. Application of Response Surface Methodology to Analyze the Effects of Soil/Liquid Ratio, pH, and Incubation Time on the Bioaccessibility of PAHs from Soil in In Vitro Method. *Water Air Soil Pollut* 2009; 200(1-4): 387-97.
18. Golshan M, Nasser S, Farzadkia M, Esrafil A, Rezaei Kalantary R, Karimi Takanlu L. Performance assessment of rhamnolipid MR01 biosurfactant and Triton X-100 chemical surfactant in removal of phenanthrene from soil. *Iran J Health & Environ* 2014; 7: 143-56.
19. Zhou W, Yang J, Lou L, Zhu L. Solubilization properties of polycyclic aromatic hydrocarbons by saponin, a plant-derived biosurfactant. *Environmental Pollution* 2011; 159(5): 1198-204.
20. Sales PS, de Rossi RH, Fernández MA. Different behaviours in the solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in water induced by mixed surfactant solutions. *Chemosphere* 2011 ; 84(11): 1700-7.
21. Zhu L, Zhou W. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons to solid-sorbed nonionic surfactants. *Environmental Pollution* 2008 ; 152(1): 130-7.
22. Mouton J, Mercier G, Blais J-F. Amphoteric Surfactants for PAH and Lead Polluted-Soil Treatment Using Flotation. *Water, Air, and Soil Pollution* 2009 ; 197(1-4): 381-93.
23. Portet-Koltalo F, Ammami MT, Benamar A, Wang H, Le Derf F, Duclairoir-Poc C. Investigation of the release of PAHs from artificially contaminated sediments using cyclolipopeptidic biosurfactants. *Journal of Hazardous Materials* 2013; 261(0): 593-601.
24. Laha S, Tansel B, Ussawarujikulchai A. Surfactant-soil interactions during surfactant-amended remediation of contaminated soils by hydrophobic organic compounds: A review. *Journal of Environmental Management* 2009; 90(1): 95-100.
25. An C-j, Huang G-h, Wei J, Yu H. Effect of short-chain organic acids on the enhanced desorption of phenanthrene by rhamnolipid biosurfactant in soil-water environment. *Water Research* 2011; 45(17): 5501-10.
26. Sun Y, Ji L, Wang W, Wang X, Wu J, Li H. Simultaneous Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Copper from Soils using Ethyl Lactate-Amended EDDS Solution. *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL QUALITY* 2009 (0047-2425): 1591-7.
27. REZAEI KALANTARY R, BADKOUBI A, MOHSENI-BANDPI A, ESRAFILI A, JORFI S, DEGHANIFARD E. Modification of PAHs Biodegradation with Humic Compounds. *Soil and Sediment Contamination*. 2013; 22( 2): 185-98.
28. Lima TS, Procópio L, Brandão F, Carvalho AX, Tótoia M, Borges A. Simultaneous phenanthrene and cadmium removal from contaminated soil by a ligand/biosurfactant solution. *Biodegradation*. 2011 ; 22(5): 1007-15.