



## International Journal of Natural Resources and Environment

Journal home page: <https://ijnre.univ-adrar.dz>

ISSN 2710-8724



I  
J  
N  
R  
E

### Etude du mécanisme diffusionnel du colorant Bleu Marine Bezaktiv SBL dans les pelures de grenade

Hakim Aguedal<sup>1\*</sup>, Abderrahmane Djafer<sup>2</sup>, Aouatef Driouch<sup>3</sup>, Mostafa Rahmouni<sup>1</sup>, Farhate Bensalah<sup>1,3</sup>,  
Abdelkader Iddou<sup>1</sup>, Djillali Réda Merouani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Ressources Naturelles Sahariennes, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Ahmed Draia – Adrar 01000, Algérie.

<sup>2</sup>Laboratoire Eau – Environnement, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef 02000, Algérie.

<sup>3</sup>Laboratoire de Valorisation des Matériaux, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Bp. 227, 27000 Mostaganem, Algérie.

\* Corresponding author: [hakim.aguedal@gmail.com](mailto:hakim.aguedal@gmail.com) (H. Aguedal)

**Article details:** Received: 06 April 2021, Revised: 31 Mai 2021, Accepted: 07 June 2021

#### Résumé:

Ce travail est porté sur l'évaluation du potentiel d'adsorption des pelures de grenade (P-GR) pour l'élimination d'un colorant industriel largement employé dans l'industrie textile connue sous le nom commercial de Bleu Marine Bezaktiv SBL (BMB-SBL). L'effet du temps de contact sur le processus d'adsorption a été étudié. Afin de comprendre le mécanisme diffusionnel du colorant BMB-SBL à la surface du matériau P-GR. Les données expérimentales ont été modélisées par les modèles cinétiques de Pseudo 1<sup>er</sup> ordre, Pseudo 2<sup>ème</sup> ordre, Bangham et les modèle de diffusions intra-particulaire et extra-particulaire.

Les résultats ont montré qu'une quantité appréciable du colorant BMB-SBL a été éliminée au bout de 30 min, au-delà de 60 min l'équilibre est atteint. La cinétique d'adsorption du Bleu Marine Bezaktiv SBL sur P-GR a bien été décrite par le modèle cinétique de pseudo-second ordre. Il ressort du mécanisme d'élimination étudié dans ce présent travail que la diffusion (intra et extra granulaire) n'est pas la seule étape dominante contrôlant le processus d'adsorption du colorant BMB-SBL. Cependant d'autres phénomènes de nature chimique tels que l'échange ou partage d'électrons peuvent intervenir.

**Mots clés :** Adsorption ; Colorant textile ; Pelures de grenade ; Mécanisme diffusionnel ; Cinétique.

#### Abstract:

This work is focused on the evaluation of the adsorption potential of pomegranate peels (P-GR) for the removal of an industrial dye widely used in the textile industry known under the trade name Bezaktiv Marine Blue SBL (BMB-SBL). The effect of contact time on the adsorption process was studied. In order to understand the diffusional mechanism of BMB-SBL dye molecules on the surface of P-GR material, the experimental data were modeled by Pseudo 1st order, Pseudo 2nd order, Bangham kinetic model and intra-particle and extra-particle diffusion models.

The results showed an appreciable amount of the BMB-SBL dye was removed after 30 min, beyond 60 min the equilibrium is reached. The adsorption kinetics of Bezaktiv Marine Blue SBL on P-GR was well described by the pseudo-second order kinetic model. It appears from the removal mechanism studied in this work that the diffusion (intra and extra granular) is not the only dominant step controlling the adsorption process of the BMB-SBL dye, however other chemical phenomena such as exchange or share electron can intervene.

**Keywords:** Adsorption; Textile dye; Pomegranate peel; Diffusional mechanism; Kinetics.

## 1. Introduction

L'industrie textile est l'un des plus gros pollueurs au monde par le rejet de déchets de teintures et de produits auxiliaires vers le milieu environnemental récepteur tels que les eaux souterraines et

les rivières [1]. Les colorants sont principalement utilisés pour teinter divers matériaux, tels que le textile, le cuir, le papier, les plastiques, les produits pétroliers ainsi que certains produits alimentaires [2]. Ils ont généralement une origine synthétique et une structure chimique complexe, ce qui les rend très stables à la lumière et à l'oxydation et très difficiles à biodégrader. Ils peuvent également être toxiques et causer des dommages pour certaines espèces aquatiques du fait de la présence de métaux, chlorures etc... dans ces effluents. Leurs aspects toxiques, mutagènes et cancérigènes mettant aussi en péril la santé publique [3]. Par conséquent, l'élimination des colorants des effluents est d'une grande importance pour l'environnement, d'une part et d'autre part leur élimination de manière économique présente un problème majeur pour l'industrie textile. De plus, l'augmentation de la demande en eau pour les usages industriels et publics nécessite la récupération des effluents et le traitement des eaux usées [4].

Depuis plusieurs décennies, divers procédés ont été développés pour le traitement des eaux usées, tels que : la coagulation, l'ozonisation, l'électrochimie, l'ultrafiltration, l'oxydation, la dégradation photochimique. Cependant, l'adsorption s'est avéré être le procédé le plus efficace et le plus fiable pour l'élimination des colorants. Les principaux avantages de ce procédé pour le contrôle de la pollution de l'eau sont un investissement moindre en termes de coût de, une conception simple, des opérations faciles, l'absence de génération de substances toxiques, et une récupération facile et sûre de l'adsorbant ainsi que de l'adsorbat [5]. Dans la technique d'adsorption, la préoccupation majeure est la sélection du matériau adsorbant. Au cours de ces dernières années, l'accent a été mis sur le développement des déchets en tant qu'adsorbants potentiels pour l'élimination de différents types de polluants. Des déchets tels que la sciure de bois, la biomasse des déchets agricoles, les boues des stations d'épuration...etc ont été utilisés [6].

La présente recherche porte sur l'applicabilité de la technique d'adsorption pour l'élimination d'un colorant industriel le Bleu Marine Bezaktiv SBL des milieux aqueux, en utilisant la pelure de grenade comme adsorbant non conventionnel. Une modélisation plus poussée a été envisagée afin de bien comprendre le mécanisme diffusionnel responsable de l'élimination du colorant.

## **2. Matériels et Méthodes**

### **2.1. Préparation du matériau**

Les pelures de grenade, un sous-produit de la transformation des aliments, ont été collectées et séchées à 80°C pendant 24 h. Ces pelures ont été broyées, puis tamisées à différentes granulométries. Le tamisa a subi un lavage à l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés et les résidus de sel. Le matériau obtenu a été séché à 80°C. Le matériau final obtenu est noté P-GR.

### **2.2. Choix du polluant**

Dans cette étude le colorant Bleu Marine Bezaktiv SBL (BMB-SBL) fourni par la SOITEX de Tlemcen a été pris comme modèle de polluant. Pour ce faire, une solution mère de 1 g/L a été préparée par dissolution. Les autres solutions d'essai ont été préparées en diluant la solution mère avec de l'eau distillée.

### 2.3. Etude d'adsorption du colorant BMB-SBL sur P-GR

Des essais d'adsorption de BMB-SBL ont été réalisées en mode batch. Les expériences par lots ont été réalisées à l'aide d'un ensemble de flacons de 250 mL contenant une quantité connue d'adsorbant (0,01 g) et un volume prédéfini (100 mL dans chaque flacon) de solution de colorant à une concentration initiale fixe (10 mg/L) avec un pH de solution constant. Les flacons ont ensuite été placés dans un agitateur à 200 rpm et à une température de 25°C. Les échantillons ont été analysés à des intervalles de temps spécifiques, et les solutions ont été filtrées à l'équilibre à l'aide d'un papier filtre de 0,45- $\mu$ m pour déterminer les concentrations à l'équilibre.

Les expériences d'adsorption en mode batch ont été réalisées en mélangeant une quantité bien précise du matériau P-GR avec 50 mL de solutions du colorants BMB-SBL, durant un temps suffisant pour atteindre l'équilibre d'adsorption. Le mélange est ensuite séparé par filtration et la concentration résiduelle a été déterminée en analysant le filtrat à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (JASCO 700) à une longueur d'onde spécifique  $\lambda_{max} = 608\text{nm}$ . Les différents résultats obtenus sont présentés sous forme de quantités adsorbées [7] :

$$Q_e(\text{mg} / \text{g}) = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m} \quad \text{Eq 01}$$

Avec :

$Q_e$  : quantité adsorbée du colorant par gramme du matériau (mg/g) ;  $C_0$  : concentration initiale du colorant (mg/L) ;  $C_e$  : concentration résiduelle du colorant (mg/L) ;  $V$  : volume de la solution utilisé (L) et  $m$  : masse du matériau utilisé (g).

L'effet du temps de contact a été évalué. Pour cela, la cinétique d'élimination du colorant BMB-SBL a été étudiée sur une période totale de 180 min, au cours de laquelle les échantillons sont successivement prélevés à différents intervalles de temps. Afin de bien comprendre le mécanisme par lequel le colorant BMB-SBL a été fixé sur la surface du matériau P-GR, différents modèles ont été utilisés pour la modélisation des résultats de la cinétique.

## 3. Résultats et Discussions

### 3.1. Effet du temps de contact

La Figure 01 indique clairement une augmentation rapide de la quantité d'adsorption avec l'augmentation du temps durant les premières 20 min, conduisant progressivement à l'équilibre à partir de 60 min d'agitation, et une quantité de 19,06 mg/g a été enregistrée. Bien qu'avec l'augmentation du temps de contact, le taux d'adsorption a diminué et un stade de saturation est atteint en raison de l'occupation des sites actifs par les molécules du colorant BMB-SBL. Ce déclin est peut-être dû à la diminution de la surface spécifique disponible à la surface du matériau P-GR et à l'augmentation de résistance entre les molécules du colorant BMB-SBL par le phénomène de diffusion [8].

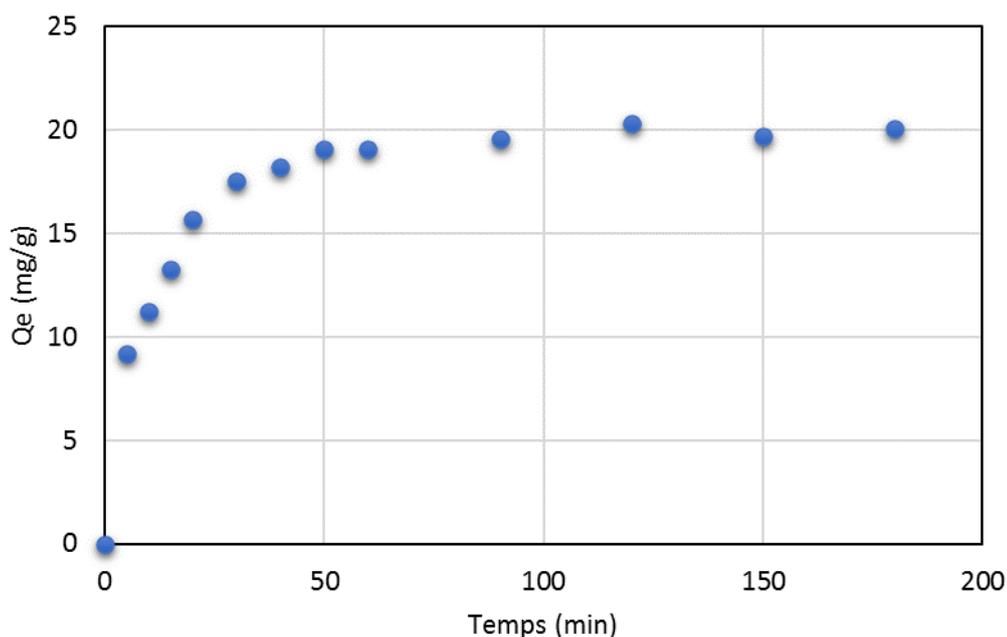


Fig. 1. Effet du temps de contact sur l'adsorption de BMB-SBL par P-GR.

### 3.2. Modélisation de la cinétique d'adsorption

Afin de comprendre le mécanisme d'adsorption des molécules du colorant BMB-SBL sur la surface du matériau P-GR, les résultats de la cinétique d'adsorption ont été modélisés au moyen de cinq modèles cinétiques (voir Tableau 1) : Pseudo 1<sup>er</sup> ordre, Pseudo 2<sup>ème</sup> ordre, Bangham et les modèle de diffusions intra-particulaire et extra-particulaire. Les résultats de calcul sont regroupés dans le Tableau 2.

Tableau 1. Liste des équations linéaires des modèles cinétique d'adsorption.

Modèle cinétique	Equation linéaire	Références
Pseudo premier ordre	$\ln (Q_e - Q_t) = \ln Q_e - k_{1p} t$	[9]
Pseudo second ordre	$t/Q_t = 1/ k_{2p} Q_t^2 + t/Q_e$	[10]
Bangham	$\ln (\ln [C_0/(C_0 - Q_t)]) = \ln (K_0 m/2,303 V) + \alpha \ln t$	[11]
Diffusion intra-particulaire	$Q_t = k_{int} t^{0.5} + I$	[12]
Diffusion extra-particulaire	$\ln [1 - F(t)^2] = - \frac{\pi^2 D}{r^2} t$ avec $F(t) = \frac{C_0 - C_t}{C_0 - C_e}$	[13]

Avec :

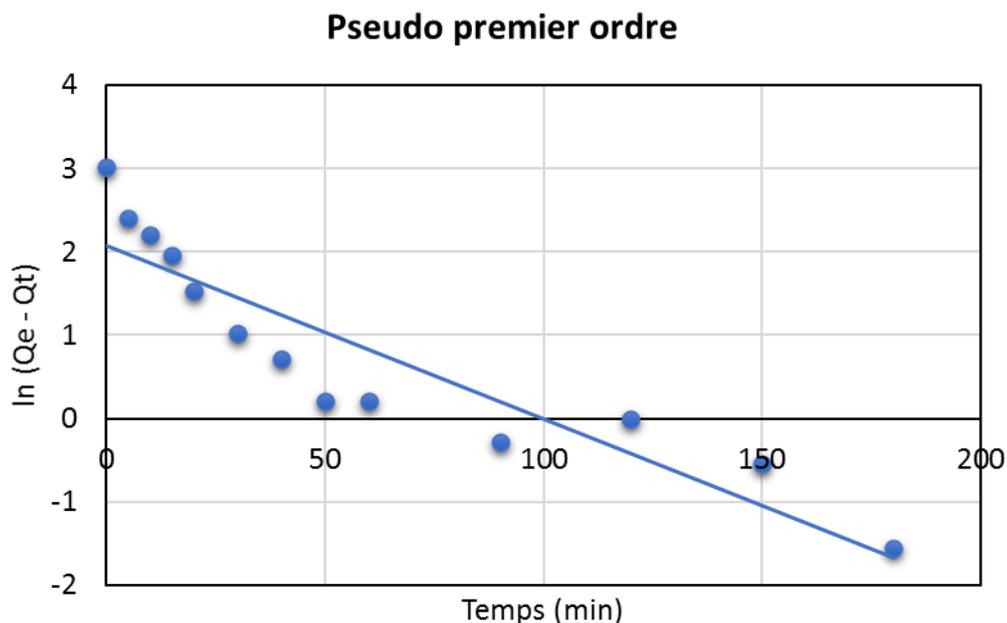
- $k_{1p}$  : Constante cinétique du pseudo premier ordre ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ),
- $k_{2p}$  : Constante cinétique de pseudo second ordre ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ),
- $K_{\text{int}}$  : Constante de la diffusion intra-particulaire ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ),
- $l$  : Intersection avec l'ordonnée à l'origine qui est proportionnelle à l'épaisseur de la couche limite ( $\text{mg.L}^{-1}$ ),
- $K_0$  : Constant de Bangham ( $\text{mL.g}^{-1}.\text{L}^{-1}$ )
- $\alpha$  : (<1)Constant de Bangham
- $r$  : Rayon de la particule en supposant une géométrie sphérique (m)
- $D$  : Coefficient de diffusion intra-particulaire ( $\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ ).

**Tableau 2.** Résultats de calcul des paramètres des modèles cinétique d'adsorption.

Modèle cinétique	Paramètres		
$Q_e^{\text{exp}}$ (mg/g)	20,30		
Pseudo premier ordre	$Q_e^{\text{cal}}$ (mg/g)	$k_{p1}$	$R^2$
	7,924	0,021	0,839
Pseudo second ordre	$Q_e^{\text{cal}}$ (mg/g)	$k_{p2}$	$R^2$
	20,704	0,0088	0,998
Bangham	$K_0$	$\alpha$	$R^2$
	0,359	0,258	0,872
Diffusion intra-particulaire	$k_{\text{int}_1}$	$l_1$	$R^2$
	3,215	0,845	0,984
	$k_{\text{int}_2}$	$l_2$	$R^2$
	0,226	17,265	0,757
Diffusion extra-particulaire	$D_1$		$R^2$
	$6,80 \cdot 10^{-5}$		0,994
	$D_2$		$R^2$
	$1,98 \cdot 10^{-5}$		0,860

### 3.2.1. Modèle de pseudo premier ordre

Le tracé  $\ln(Q_e - Q_t)$  en fonction de  $t$ , montre que le modèle de pseudo premier ordre est applicable seulement pour les 50 premières minutes (Fig. 2). Ho et McKay [14] rapportent que les cinétiques d'adsorption seraient bien représentées par le modèle de pseudo premier ordre uniquement quand il y aura une adsorption, confirmant de ce fait, qu'il n'est pas approprié d'utiliser ce modèle pour prédire le processus d'adsorption du colorant BMB-SBL pour toute la gamme du temps utilisée.

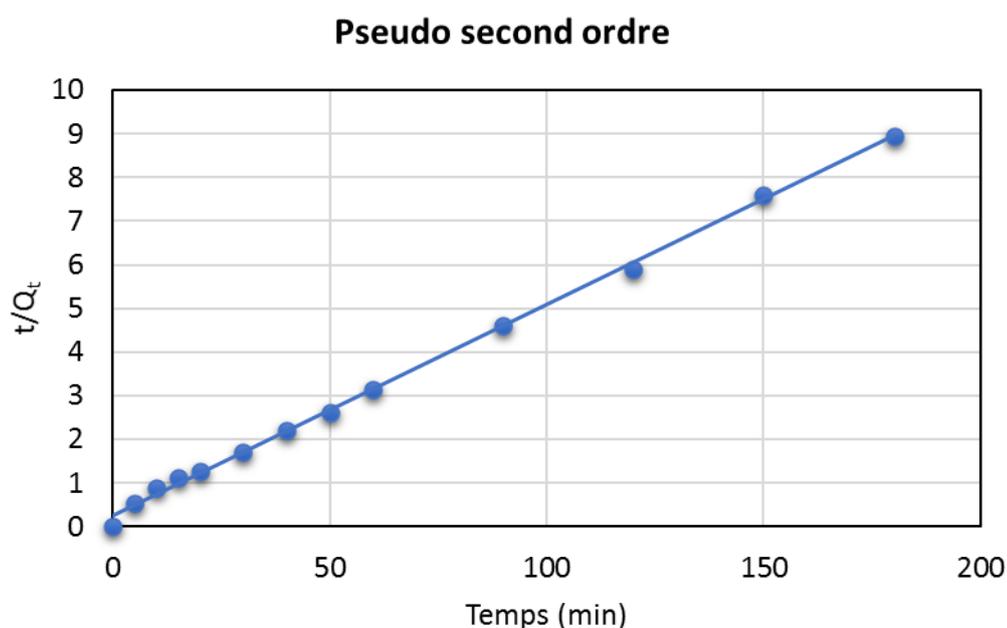


**Fig. 2.** Modèle cinétique pseudo premier ordre pour l'adsorption du BMB-SBL par P-GR

### 3.2.2. Modèle de pseudo second ordre

En traçant  $t/Q_t$  en fonction de  $t$ , on obtient des lignes bien droites (Fig. 3). Les constantes de vitesse  $k_{2p}$  et les capacités d'adsorption à l'équilibre calculées  $Q_e^{cal}$  sont présentées dans le Tableau 2.

D'après le Tableau 2, le coefficient de corrélation  $R^2$  obtenu par le modèle de pseudo second ordre est proche de l'unité (0,998). De plus, la valeur de la quantité adsorbée calculée  $Q_e^{cal}$  est proche de celle obtenue par les essais expérimentaux  $Q_e^{exp}$ . Cette bonne adéquation du modèle cinétique de pseudo second ordre laisse supposer que la chimisorption comme le mécanisme limitant la vitesse d'adsorption par partage ou échange d'électrons entre l'adsorbat et l'adsorbant [14].

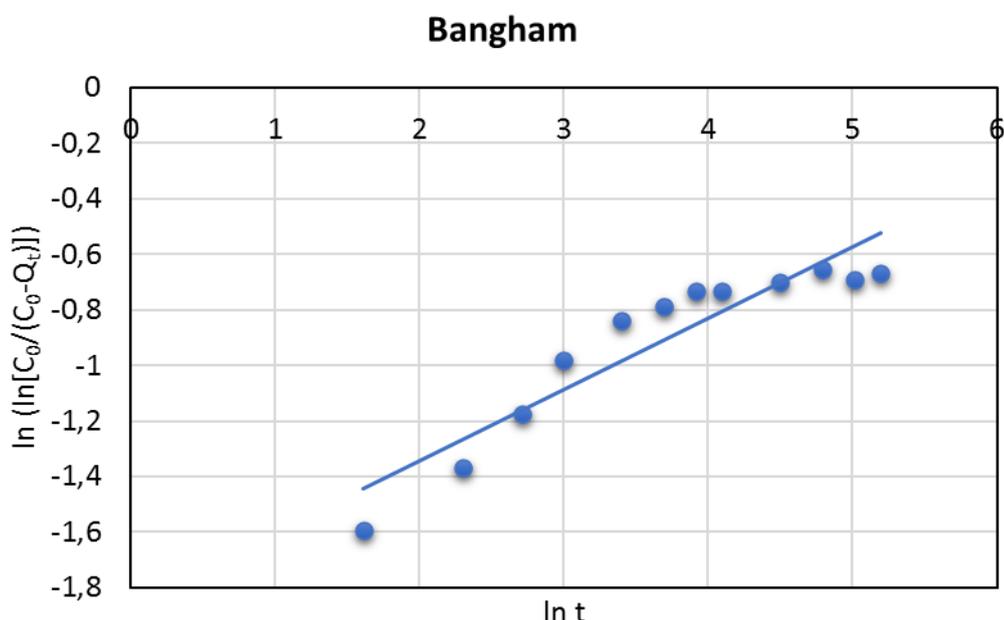


**Fig.3.** Modèle cinétique pseudo second ordre pour l'adsorption du BMB-SBL par P-GR.

### 3.2.3. Modèle de Bangham

En générale, trois étapes sont impliquées dans le processus d'adsorption : diffusion extra-granulaire, diffusion intra-granulaire et puis l'interaction de l'adsorbat avec les sites actifs de l'adsorbant [15]. Parmi ces étapes, la troisième est très rapide et n'est pas considérée comme une étape limitante, donc le processus global d'adsorption peut être contrôlé par les deux premières étapes.

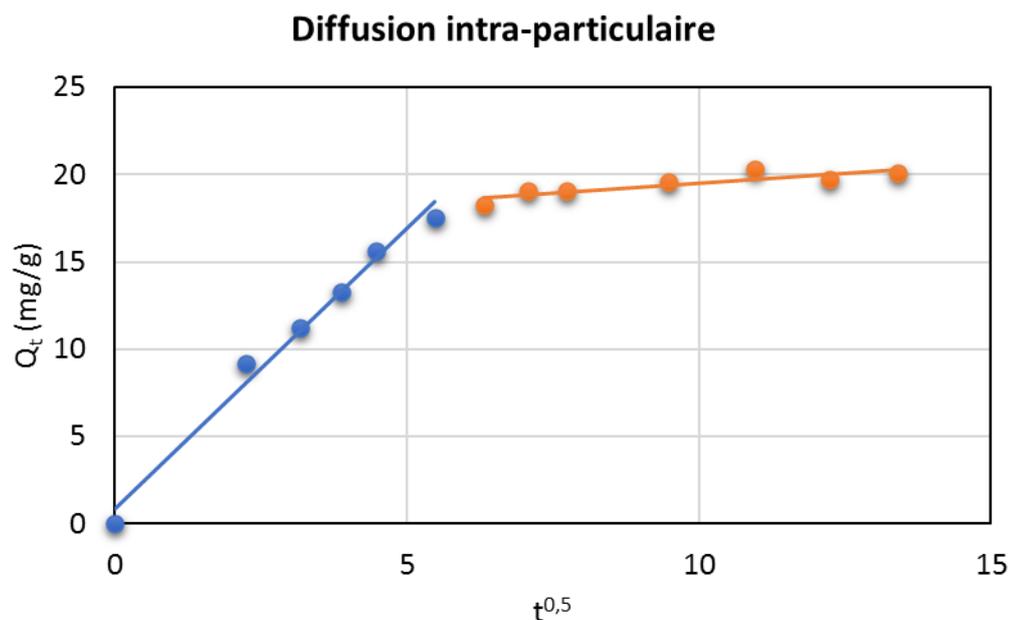
L'équation de Bangham est appliquée dans cette étude pour vérifier si la diffusion des pores est l'étape limitante ou non. Les paramètres du modèle de Bangham ainsi que le coefficient de corrélation sont répertoriés dans le Tableau 2. Les faibles coefficients de corrélation obtenu par le tracé de  $(\ln [C_0/(C_0-Q_t)])$  en fonction de  $\ln(t)$  indique que les données expérimentales ne sont pas bien ajustées par l'équation de Bangham (Fig. 4), ce qui suppose que la diffusion de BMB-SBL dans les pores du matériau P-GR n'est pas la seule étape contrôlant le processus d'adsorption [11].



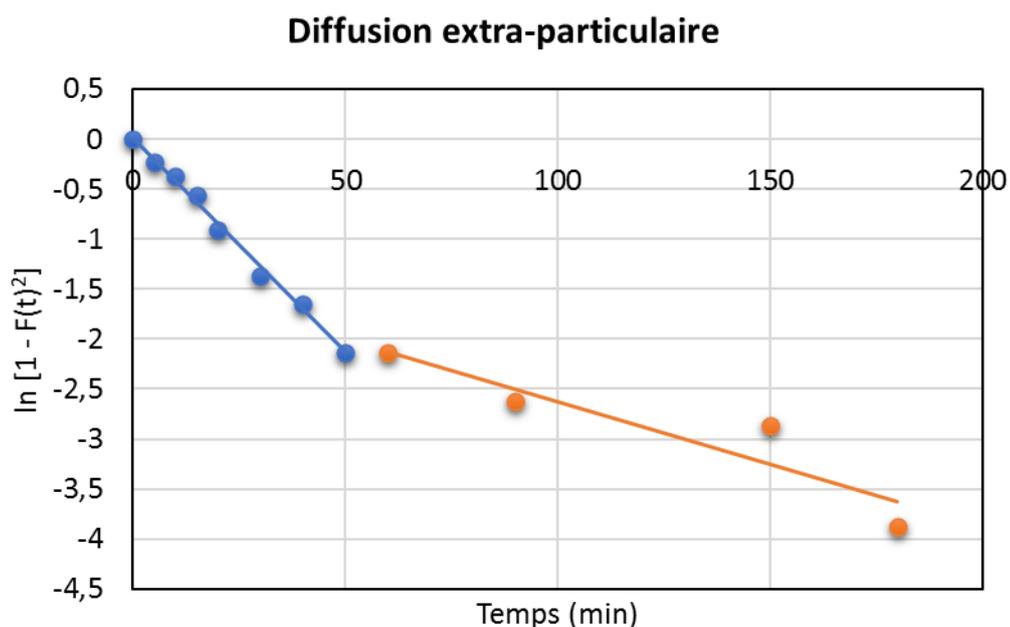
**Fig.4.** Modèle cinétique Bangham pour l'adsorption du BMB-SBL par P-GR.

### 3.2.4. Modèles de diffusion intra et extra particulaire

Afin de vérifier si la diffusion intra-particulaire et extra-particulaire est impliquées dans le mécanisme transitionnel du colorant BMB-SBL. Les tracés de  $Q_t$  en fonction de  $t^{0,5}$  et  $\ln [1-F(t)^2]$  en fonction de  $t$ , illustrés sur les Figures 5 et 6 respectivement pour la diffusion intra-particulaire et extra-particulaire. Les graphiques présentent une multi-linéarité composée chacune de deux régions linéaires différentes.



**Fig.5.** Modèle cinétique de diffusion intra-particulaire pour l'adsorption du BMB-SBL par P-GR.



**Fig.6.** Modèle cinétique de diffusion extra-particulaire pour l'adsorption du BMB-SBL par P-GR.

La partie linéaire initiale montre que l'adsorption du colorant BMB-SBL a bien suivi les deux modèles de diffusion durant les premières 60 min avec des coefficients de corrélation élevés ( $R^2 > 0,98$ ). Il s'agit de ce fait d'une adsorption superficielle ou d'une diffusion externe rapide. Cela est également traduit par l'épaisseur de la couche limite externe plus faible ( $l_1 = 0,845$ ) facilitant l'accessibilité des molécules du colorant BMB-SBL aux sites actifs du matériau P-GR. La seconde partie est l'étape d'une adsorption progressive contrôlée par la diffusion intra-particulaire [16].

Le ralentissement du taux d'adsorption est due à la fois à la résistance recentrée entre les molécules du colorant BMB-SBL et à l'épaisseur de la couche limite interne plus élevée ( $l_2 = 17,265$ ). On remarque aussi que les droites ne passent pas par l'origine ce qui signifie que la diffusion n'était pas la seule étape limitante. Ce constat a bien été confirmé précédemment par l'équation de Bangham. Le mécanisme diffusionnel est bien élucidé sur la Figure 7.

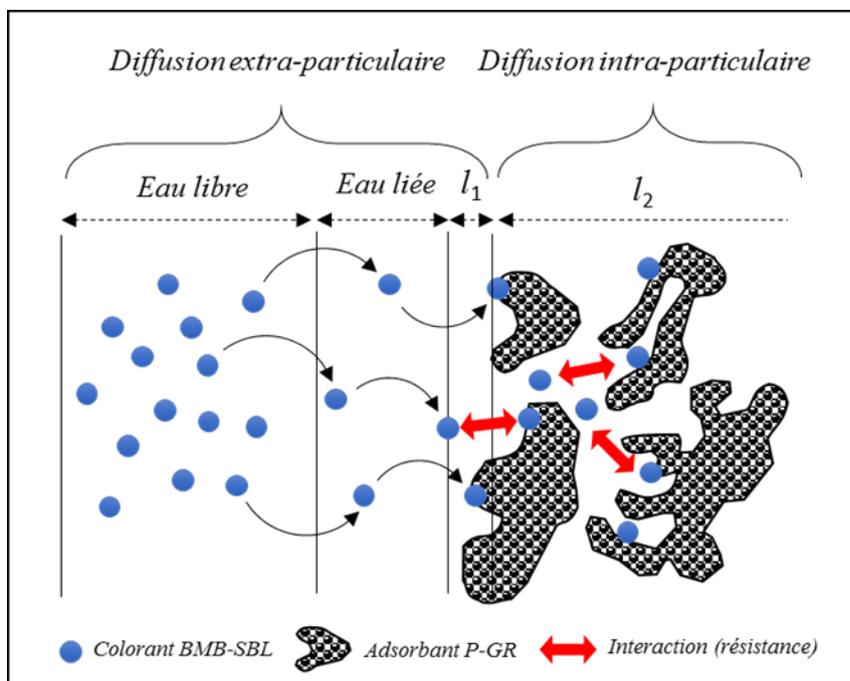


Fig.7. Mécanisme diffusionnel des molécules du colorant BMB-SBL.

#### 4. Conclusion

En raison de leur grande disponibilité et leur faible coût, les pelures de grenade, à leur état brut sans aucun traitement, se sont avérées très efficaces et ont un potentiel en tant qu'adsorbant pour l'élimination des colorants textiles des solutions aqueuses. Un taux d'adsorption raisonnable (40%) durant moins d'une heure a été obtenu. La modélisation des résultats expérimentaux de la cinétique d'adsorption révèle que le processus d'adsorption suit parfaitement le modèle de pseudo second ordre. Quant au mécanisme diffusionnel des molécules du colorant BMB-SBL on a constaté que la diffusion intra ou extra granulaire n'est pas la seule étape limitant la vitesse d'adsorption et que d'autres mécanismes de type chimique tels que l'échange ou le partage d'électrons peuvent intervenir dans le contrôle du taux d'élimination des molécules du colorant BMB-SBL par le matériau P-GR.

#### Remerciements

Les auteurs dédiés ce travail à feu le Professeur Ouali Mohand Saïd de l'Université d'Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, qu'il repose en paix.

## Références

- [1] **H. Kelewou, M. Merzouki, and A. Lhassani**, (2014), "Biosorption of textile dyes Basic Yellow 2 (BY2) and Basic Green 4 (BG4) by the live yeast *Saccharomyces cerevisiae*," *J. Mater. Environ. Sci.*, vol. 5, no. 2, pp. 633–640.
- [2] **H. Aguedal, A. Iddou, A. Aziz, A. Shishkin, J. Ločs, and T. Juhna**, (2019), "Effect of thermal regeneration of diatomite adsorbent on its efficacy for removal of dye from water," *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, vol. 16, no. 1, doi: 10.1007/s13762-018-1647-5.
- [3] **Y. Yang, G. Wang, B. Wang, Z. Li, X. Jia, Q. Zhou, Y. Zhao**, "Biosorption of Acid Black 172 and Congo Red from aqueous solution by nonviable *Penicillium* YW 01: Kinetic study, equilibrium isotherm and artificial neural network modeling," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 2, pp. 828–834, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2010.08.125.
- [4] **C. Djilani, R. Zaghdoudib, F. Djazia, B. Bouchekima, A. Lallam, A. Modarressi, M. Rogalsk**, (2015), "Adsorption of dyes on activated carbon prepared from apricot stones and commercial activated carbon," *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, vol. 53, pp. 112–121, doi: 10.1016/j.jtice.2015.02.025.
- [5] **M. El Haddad, A. Regti, R. Slimani, and S. Lazar**, (2014), "Assessment of the biosorption kinetic and thermodynamic for the removal of safranin dye from aqueous solutions using calcined mussel shells," *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, no. 2, pp. 717–724, doi: 10.1016/j.jiec.2013.05.038.
- [6] **M. E. Russo, F. Di Natale, V. Prigione, V. Tigrini, A. Marzocchella, and G. C. Varese**, (2010), "Adsorption of acid dyes on fungal biomass : Equilibrium and kinetics characterization," *Chem. Eng. J.*, vol. 162, no. 2, pp. 537–545, doi: 10.1016/j.cej.2010.05.058.
- [7] **A. Djafer, S. Kouadri Moustefai, A. Iddou, and B. Si Ali**, (2014), "Study of bimaicid dye removal from aqueous solution: a comparative study between adsorption on pozzolana, bentonite, and biosorption on immobilized anaerobic sulfate-reducer cells," *Desalin. Water Treat.*, vol. 52, no. 40–42, pp. 7723–7732, doi: 10.1080/19443994.2013.833866.
- [8] **M. E. Fernandez, G. V. Nunell, P. R. Bonelli, and A. L. Cukierman**, (2014), "Activated carbon developed from orange peels: Batch and dynamic competitive adsorption of basic dyes," *Ind. Crops Prod.*, vol. 62, pp. 437–445, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.09.015.
- [9] **S. Lagergren**, (1898), "Zur theorie der sogenannten adsorption geloster stoffe," *K. Sven. Vetenskapsakademiens. Handl.*, vol. 24, pp. 1–39.
- [10] **Y. S. Ho and G. McKay**, (1999), "Pseudo-second order model for sorption processes," *Process Biochem.*, vol. 34, no. 5, pp. 451–465, doi: 10.1016/S0032-9592(98)00112-5.
- [11] **Z. Belala, M. Jeguirim, M. Belhachemi, F. Addoun, and G. Trouvé**, (2011) "Biosorption of basic dye from aqueous solutions by Date Stones and Palm-Trees Waste : Kinetic , equilibrium and thermodynamic studies," *Desalination*, vol. 271, no. 1–3, pp. 80–87, doi: 10.1016/j.desal.2010.12.009.
- [12] **W. J. Weber and J. C. Morris**, (1963), "Kinetics of Adsorption on Carbon from Solution," *J. Sanit. Eng. Div.*, vol. 89, pp. 31–60.

- [13] **M. Al-Ghouti, M. A. M. Khraisheh, M. N. M. Ahmad, and S. Allen**, (2005), "Thermodynamic behaviour and the effect of temperature on the removal of dyes from aqueous solution using modified diatomite: A kinetic study," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 287, no. 1, pp. 6–13, doi: 10.1016/j.jcis.2005.02.002.
- [14] **Y. Ho and G. McKay**, (1999), "Pseudo-second order model for sorption processes," *Process Biochem.*, vol. 34, no. 5, pp. 451–465, Jul, doi: 10.1016/S0032-9592(98)00112-5.
- [15] **M. Doğan, Y. Özdemir, and M. Alkan**, (2007) "Adsorption kinetics and mechanism of cationic methyl violet and methylene blue dyes onto sepiolite," *Dye. Pigment.*, vol. 75, no. 3, pp. 701–713, doi: 10.1016/j.dyepig.2006.07.023.
- [16] **A. E. Ofomaja**, (2007), "Kinetics and mechanism of methylene blue sorption onto palm kernel fibre," *Process Biochem.*, vol. 42, no. 1, pp. 16–24, doi: 10.1016/j.procbio.2006.07.005.