



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO BIOFERTILIZANTE GERADO NO PROCESSO DE CODIGESTÃO ANAERÓBIA DE RESÍDUOS DE SUÍNO E BOVINO EM CULTIVO DE MILHO

Raquel Dalla Costa da Rocha¹

Antonio Marcos Tubiana da Costa¹

Vanderlei Aparecido de Lima²

RESUMO

Para o aumento contínuo da produção de alimentos com o intuito de suprir a demanda crescente da população, se tornam necessárias ações para minimizar os efeitos provocados pelos dejetos quando lançados no ambiente. Estudou-se o processo de codigestão anaeróbia de dejetos bovinos e suínos como alternativa para tratamento destes resíduos. Além disso, investigou-se a eficiência do biofertilizante produzido em cultura de milho. Fez-se o processo de codigestão anaeróbia com a mistura de resíduos de suíno e bovino (3:1) e fração de sólidos de 8,9%. O biofertilizante produzido foi aplicado em cultivo de milho e avaliado conforme o crescimento e desenvolvimento da planta por teste de *Tukey*. Observou-se a redução da matéria orgânica e a estabilização do processo em 20 dias de tratamento. De acordo com a avaliação do potencial de fertilização, nos cultivos com os biofertilizantes produzidos, os resultados foram similares à adubação comercial, considerando como parâmetros a altura da planta e o diâmetro do colmo. O fertilizante produzido no estudo possui estabilidade biológica e matéria orgânica que pode ajudar a retenção dos nutrientes no solo, podendo ser considerado uma boa fonte de nutriente para a cultura do milho.

Palavras-chave: Degradação Orgânica; Adubação; Gramíneas; Altura da Planta; Diâmetro de Colmo.

ABSTRACT

Assessment of the Fertilizer Potential Generated in Anaerobic Co-digestion Process from Swine and Cattle Residues in Maize Crop. For continued increases in food production in order to growing demand of the population becomes necessary actions to minimize the effects caused by wastes when released into the environment. It was studied anaerobic co-digestion process of cattle and swine manures, as an alternative treatment of these wastes and to investigate the efficiency of biofertilizer produced in a maize crop. There was a process of anaerobic co-digestion with the mixture of swine and cattle residues (3:1) and solid fraction of 8.9%. The produced biofertilizer was applied in cultivation of maize and evaluated according to the growth and development of the plant

¹ PPG em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco, PR, Brasil. E-mail para correspondência: raqueldcr@utfpr.edu.br

² Depto. de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco, PR, Brasil.

by *Tukey's* test. There was reduction of organic matter and stabilization of the process 20 days of treatment. According to the evaluation of the fertilization potential, in crops with biofertilizers, the results were similar to commercial fertilizer considering as parameters plant height and diameter of the stem. The produced fertilizer in the study has biological stability, organic matter that can help to hold nutrients in soil, therefore, may be considered a good source of nutrient for maize crop.

Key-words: Organic Degradation; Fertilization; Grass; Plant Height; Stem Diameter.

INTRODUÇÃO

Atualmente, a agricultura vem avançando em tecnologias com o intuito de aumentar a produção devido à crescente demanda populacional, e essas técnicas vêm ultrapassando limites naturais e degradando o ambiente (Marques, 2001; McGlone, 2013; Abouelenien *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014).

O aproveitamento de resíduos orgânicos em cultivos agrícolas baseia-se nas características físico-químicas similares com o solo, principalmente os teores orgânicos e nutricionais (Abreu Júnior *et al.*, 2005), como é o caso de biofertilizantes produzidos pelo processo de codigestão anaeróbia. Esse processo consiste no tratamento anaeróbio de dois ou mais tipos de resíduos, como misturas de dejetos de bovino, restos de alimentos e lodo (Marañón *et al.*, 2012), resíduos de suínos, de aves e de indústria de vegetais (Molinuevos-Salces *et al.*, 2013), silagem de milho com mistura de resíduo bovino e suíno (Tomazetto *et al.*, 2014), de peixe e biodiesel (Alvarez *et al.*, 2010), originando biogás e biofertilizante (Wang *et al.*, 2012), sendo este último uma mistura complexa de nutrientes essenciais às plantas, podendo atuar como fertilizante para a agricultura (Garfi *et al.*, 2011; Albuquerque *et al.*, 2012).

De acordo com Maghanaki *et al.* (2013), o biofertilizante ideal não deve apresentar odor e ser poluente. Se comparado com o fertilizante sintético, apresenta algumas vantagens, como o favorecimento da multiplicação de microrganismos benéficos, além de proporcionar maior porosidade do solo, permitindo maior aeração em camadas mais profundas e propiciando um maior desenvolvimento das plantas (Izumi *et al.*, 2010).

Frente à problemática ambiental do aumento da produção agrícola, juntamente com a utilização de fertilizantes químicos que vem reduzindo pH pelo uso excessivo e contaminando o meio aquático (Guo *et al.*, 2010; Hukari *et al.*, 2016), apresenta-se, neste trabalho, a avaliação da aplicação do biofertilizante gerado na codigestão anaeróbia de resíduos de suíno e bovino em cultivo de gramínea.

A aplicação desses biofertilizantes vem mostrando bons resultados em formulações testadas, podendo ser formas alternativas de adubação em cultivos (Inoue *et al.*, 2011), sendo essa estratégia indicada principalmente para a sustentabilidade de pequenas propriedades, em que,

mesmo não possuindo recursos tecnológicos, pode aproveitar-se de subprodutos da agropecuária que muitas vezes são descartados (Araújo *et al.*, 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta dos resíduos de suíno e bovino.

Os dejetos suínos e bovinos foram coletados em uma propriedade rural localizada no Município de Santa Isabel do Oeste – Sudoeste do Paraná. A propriedade possui suínos (20 animais) confinados em baias de alvenaria e bovinos (40 animais) em regime semi-intensivo (pastagem e piquetes com silagem e ração). Os efluentes das atividades (mistura de urina, fezes e água de lavagem) escoam separadamente por canaletas de alvenaria e tubulações de policloreto de polivinila (PVC) até uma esterqueira descoberta. As amostras de dejetos foram coletadas separadamente em embalagens de polietileno e mantidas refrigeradas (4°C).

Estudo Cinético do Processo de Codigestão

Os experimentos foram realizados em reatores (Biodigestor 1 e 2) com capacidade de 20 litros e saída para gasômetros. O processo foi operado em regime de batelada, no verão, à temperatura ambiente e sem agitação por um período de 25 dias. Foram utilizados 10 Litros de substrato com a proporção de mistura de dejetos 3:1 (suíno:bovino) e fração de sólidos em torno de 8,3% como biomassa inicial. Alíquotas foram retiradas em períodos pré-determinados para avaliação da evolução do processo. Os resultados durante o período de codigestão foram submetidos aos testes *T-student* ($p < 0,05$).

Caracterização Físico-química da Biomassa e Avaliação dos Parâmetros no Processo de Codigestão

A caracterização da biomassa e o processo foram avaliados por meio de análises de parâmetros físico-químicos do biofertilizante, conforme metodologias propostas por *American Health Association Methods* (2005) para potencial hidrogeniônico (pH), razão acidez volátil e alcalinidade total (AV/AL), razão sólidos voláteis e totais (SV/ST), redução de sólidos totais (RST), redução da demanda química de oxigênio (RDQO) e nitrogênio total (NT).

As temperaturas dos reatores foram aferidas nos períodos pré-determinados das retiradas das amostras por meio de termômetro digital infravermelho (Modelo: Benetech GM300), e o volume de biogás produzido foi determinado pelo deslocamento do gás nos gasômetros.

Avaliação do Biofertilizante

Para avaliar a eficiência do biofertilizante produzido no processo, foram utilizados quatro canteiros experimentais com plantio de milho híbrido (AS 1575). Após a emergência e o crescimento destas plantas, foi realizado o raleio, deixando dez plantas em cada canteiro com espaçamento entre fileiras de 75 cm e entre plantas de 15 cm.

No estágio V4 das plantas (quatro folhas fora do cartucho), foram aplicadas as primeiras doses de fertilizantes: canteiro 1 - ureia comercial (concentração: 40 kg de nitrogênio por hectare (kg N.ha^{-1}), canteiro 2 – biofertilizante (concentração: 40 kg N.ha^{-1}), canteiro 3 – biofertilizante (concentração: 20 kg N.ha^{-1}), e canteiro 4 - testemunha (planta controle) sem fertilização, sendo a fertilização reaplicada em intervalos de 7 dias por um período de 21 dias.

Como parâmetros, foram avaliados o crescimento da planta (da superfície do solo à inserção da última folha) e o diâmetro do colmo (determinado no primeiro entrenó acima do colo da planta), os quais foram submetidos ao teste de *Tukey* a 5% de probabilidade para comparação do desenvolvimento das plantas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização da Biomassa Inicial e Avaliação do Processo de Codigestão Anaeróbia

A caracterização dos parâmetros físico-químicos (Tabela 1) da biomassa inicial (mistura de resíduo bovino e suíno) estudada revelou elevado potencial poluidor. O descarte desses resíduos, sem tratamento prévio, causaria danos ao ecossistema devido principalmente à alta carga orgânica. O comportamento cinético dos parâmetros durante o processo de codigestão anaeróbia nos biodigestores pode ser observado na figura 1.

Ao longo dos experimentos, os resultados nos dois reatores foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,15$) para os parâmetros temperatura, pH, AV/AL, RST e SV/ST, além da produção de Biogás no processo. Apenas o parâmetro RDQO não apresentou diferença significativa ($p < 0,02$) ao longo da codigestão anaeróbia, possivelmente devido ao comportamento biológico no sistema, pois observou-se que, no reator 2, com o decorrer do processo, apresentou uma acidificação maior resultando em uma redução significativa neste parâmetro.

Tabela 1. Caracterização físico-química da biomassa inicial: mistura de dejetos 3:1 (suíno:bovino)

Parâmetros	Média
pH	6,30 ± 0,01
AV/AL	1,97 ± 0,01
SV/ST	0,83 ± 0,01
ST (%)	8,28 ± 0,05
DQO (g O ₂ .L ⁻¹)	24,31 ± 0,81
NT (g.kg ⁻¹)	3,20 ± 0,01

O pH operacional afeta diretamente o processo de codigestão anaeróbia e a formação dos produtos, sendo a faixa de pH ideal de 6,8 a 7,4 (Fang e Liu, 2002). A biomassa inicial apresentou pH abaixo desta faixa (pH 6,3). No entanto, em estudos de Jiang *et al.* (2013), foram observados pH acima de 6,0, havendo uma alta atividade bacteriana na etapa hidrolítica, que apresentou uma redução da carga orgânica.

A relação AV/AL apresenta a estabilidade na biodigestão anaeróbia. Conforme Metcalf e Eddy (1991), valores abaixo de 0,5 favorecem o processo, reduzindo, assim, o risco de acidificação do meio. Isso ocorre porque um valor menor nessa razão indica a presença de íons H⁺ (ácido) e íons OH⁻ (base) muito próxima, conferindo características menos ácidas evidenciadas pelo aumento do pH e nas reduções de DQO e ST. Isso não foi observado no início do processo estudado (1,97), em que há uma tendência ácida na caracterização da mistura dos resíduos de bovino e suíno, possivelmente relacionado ao processo de acidificação na canaleta e na tubulação de coleta.

Os parâmetros de pH (5,46 a 6,31) e de AV/AL (1,00 a 2,31) ao longo do processo não se mantiveram nas faixas ótimas para o processo anaeróbio, sendo o pH 6,6 a 7,6 e 9, AV/AL 0,1 a 0,5 (Metcalf e Eddy, 1991). Porém, segundo Martín-González *et al.* (2013), há diversos valores - limite para estes parâmetros que são propostos para cada biomassa diferente utilizada em um processo de digestão.

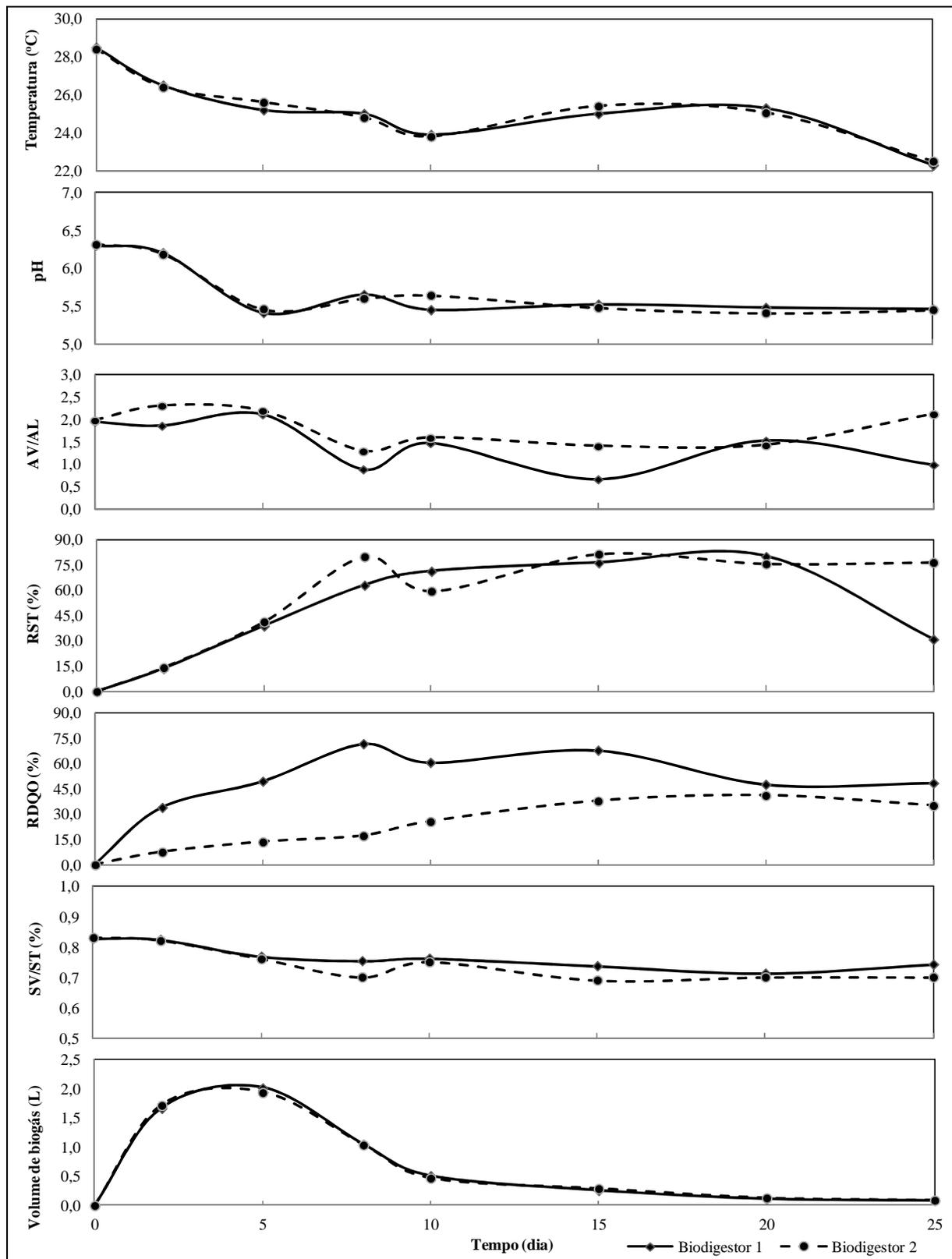


Figura 1. Comportamento médio dos parâmetros durante o processo de codigestão anaeróbia nos biodigestores.

A biomassa foi caracterizada por valores elevados de DQO ($24,31 \text{ gO}_2 \text{ L}^{-1}$) e SV/ST (0,83), o que indica a presença de quantidades significativas de matéria orgânica biodegradável,

sendo essa matéria orgânica reduzida ao longo do tratamento (RDQO: 41,68% e RST: 53,50%). A relação SV/ST (0,83) que mostra a predominância de carga orgânica na biomassa, mesmo após o processo de codigestão anaeróbia (0,69), também apresentou redução de sólidos suspensos voláteis no período de tratamento, podendo ser utilizado como fertilizante conforme valor estabelecido pela legislação ($< 0,7$) (Brasil, 2006).

A temperatura é um fator importante para o processo de biodigestão anaeróbia, e, durante o processo de codigestão anaeróbia, a média da temperatura nos biodigestores foi de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Passos *et al.* (2013) citam que variações bruscas na temperatura afetariam o desenvolvimento das bactérias no processo. Conforme estudos cinéticos de produção de biogás de Deng *et al.* (2014), o processo de digestão anaeróbia de resíduos de suínos é mais sensível às variações de temperatura na faixa de 15 a 20°C do que em faixas mais elevadas, em que a produção de biogás para estes processos no intervalo de temperatura de 25 a 35°C foi constante.

O NT ($3,2 \text{ g kg}^{-1}$) se manteve na faixa para digestão anaeróbia ($1,2$ a $9,1 \text{ g kg}^{-1}$) conforme o estudo de Möller e Müller (2012), pois é essencial para a nutrição dos microrganismos no processo, tanto quanto para o crescimento de plantas (Leite *et al.*, 2003). Pelos resultados observados, houve uma redução (28,75%) deste parâmetro ao longo do processo de codigestão anaeróbia. A média do NT após tratamento foi de $2,28 \text{ g kg}^{-1}$, valor dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira (Brasil, 2006) para lodo de esgoto ou produto derivado digerido anaerobicamente (até 20%) para uso na aplicação em solos de cultivos.

O biogás foi produzido no decorrer do processo, sendo nos primeiros cinco dias sua maior produção. A média de produção total de biogás foi de $0,568 \text{ L kg}^{-1}$ de biomassa e, com a estabilização do processo (DQO e ST constantes), houve uma redução no volume do biogás.

Avaliação do Biofertilizante no Cultivo de Gramínea

Os biofertilizantes produzidos nos biodigestores foram homogeneizados para os testes em cultivo de gramínea (milho). Após o período de 21 dias da aplicação dos fertilizantes, observou-se um bom desenvolvimento das plantas se comparado com a testemunha, que apresentou baixo crescimento. Esse desenvolvimento das plantas pode ser comprovado pelas medidas de altura e diâmetro de colmo nas plantas (Tabela 2) por meio da comparação pelo teste de Tukey. As médias das alturas das plantas não se diferenciaram significativamente entre os canteiros com aplicação de fertilizantes (ureia, biofertilizante 20 e 40 kg N.ha^{-1}), somente em comparação à testemunha, que apresentou valores menores neste parâmetro.

Na análise dos colmos do milho, verificou-se que não houve diferença estatística entre as médias nas plantas dos canteiros fertilizados com ureia e biofertilizante 40 kg N.ha⁻¹, indicando que apresentaram efeitos nutricionais semelhantes para desenvolvimento da cultivar de milho. A mesma semelhança pode ser observada entre os canteiros adubados com o biofertilizante produzido em quantidades distintas. Porém, a testemunha foi estatisticamente diferente de todas as plantas fertilizadas conforme o teste de *Tukey*.

Tabela 2. Teste de *Tukey* para medidas de altura e diâmetro de colmo em cultivar de milho submetidas a diferentes tipos de fertilizantes.

Variável	Tempo (dias)	Canteiro 1 ureia (40 kg N.ha ⁻¹)	Canteiro 2 Biofertilizante (40 kg N.ha ⁻¹)	Canteiro 3 Biofertilizante (20 kg N.ha ⁻¹)	Canteiro 4 (testemunha)
Altura (cm)	0	14,3±1,55 ^a	15,0±1,44 ^a	14,0±1,61 ^a	10,8±2,03 ^b
	7	24,0±3,71 ^a	24,0±3,38 ^a	23,0±3,42 ^a	15,0±2,24 ^b
	14	33,5±3,41 ^a	32,0±3,29 ^a	30,5±4,52 ^a	18,0±3,03 ^b
	21	40,5±4,24 ^a	39,0±3,59 ^a	37,5±5,27 ^a	18,5±3,91 ^b
Colmo (mm)	0	5,7±1,33 ^a	5,6±1,29 ^{ab}	5,0±0,99 ^b	3,7±0,34 ^c
	7	11,1±2,44 ^a	9,8±1,58 ^{ab}	8,9±1,82 ^b	4,2±1,53 ^c
	14	13,0±3,11 ^a	12,1±1,66 ^{ab}	11,4±2,50 ^b	5,9±0,91 ^c
	21	15,3±2,53 ^a	13,0±1,85 ^{ab}	13,6±2,32 ^b	6,2±2,01 ^c

O crescimento das plantas nos canteiros com biofertilizantes foi similar à adubação comercial (ureia) para o crescimento das plantas considerando a altura e o diâmetro do colmo. Dessa forma, o biofertilizante produzido pode ser considerado uma excelente fonte de nutrientes para a cultura do milho, como em estudos realizados com esterco bovino (Lima *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2014) e suínos (Freitas *et al.*, 2004; Castoldi *et al.*, 2011).

CONCLUSÕES

Conhecendo a problemática que envolve o lançamento indevido de resíduos agropecuários diretamente ao solo, pode-se dizer que o processo de codigestão anaeróbia é uma excelente forma de tratamento de biomassa orgânica, como os resíduos de suínos e bovinos.

O processo de codigestão neste estudo apresentou resultados satisfatórios de reduções na DQO (41,68%) e nos sólidos totais (53,50%) se comparado com a biomassa inicial, produzindo um biofertilizante estabilizado (SV/ST: 0,69). Isso traz inúmeros benefícios, como a redução da carga orgânica e dos odores característicos destes resíduos, além da sustentabilidade integrada nas propriedades.

No crescimento das plantas, o biofertilizante foi semelhante à adubação comercial, porém o seu uso tem um interesse ambiental, pois, como possui matéria orgânica parcialmente degradada, auxiliando na fixação dos nutrientes no solo, a liberação destes ocorre de forma gradativa, o que contribui para uma a fertilização natural do solo.

REFERÊNCIAS

- ABOUELENIEN, F. et al. 2014. Enhancement of methane production from co-digestion of chicken manure with agricultural wastes. **Bioresource Technology**, **159**:80–87.
- ABREU JÚNIOR, C. H. et al. 2005. Uso agrícola de resíduos orgânicos potencialmente poluentes: propriedades químicas do solo e produção vegetal. **Tópicos Especiais em Ciência do Solo**, **4**:391-470.
- ALBURQUERQUE, J. A. et al. 2012. Assessment of the fertilizer potential of digestate from farm and agroindustrial residues. **Biomass Bioenergy**, **40**:181–189.
- ÁLVAREZ, J. A.; OTERO, L.; LEMA, J. M. A. 2010. methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. **Bioresource Technology**, **101**:1153-1158.
- APHA, American Public Health Association. 2005. **Standard methods for the examinations for water and wastewater**. 21. ed. Washington, D.C: American Public Health Association, 1600p.
- ARAÚJO, E. N. et al. 2007. Produção do pimentão adubado com esterco bovino e biofertilizante. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, **11**(5):466-470.
- BRASIL. 2006. CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2011. **Resolução N. 375 de 29 de agosto de 2006**. Define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências.
- BRITO, C. F. B. et al. 2014. Desenvolvimento inicial do milho submetido a doses de esterco bovino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, **9**(3):244-250.
- CASTOLDI, G. et al. 2011. Sistemas de cultivo e uso de diferentes adubos na produção de silagem e grãos de Milho. **Acta Scientiarum. Agronomy**, **33**(1):139-146.
- DENG, L. et al. 2014. Kinetics of temperature effects and its significance to the heating strategy for anaerobic digestion of swine wastewater. **Applied Energy**, **134**:349-355.
- FANG H. H.; LIU H. 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource Technology**, **82**(1):87-93.
- FREITAS, W. S. et al. 2004. Efeito da aplicação de águas residuárias de suinocultura sobre a produção do milho para silagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, **8**(1):120-125.

- GARFI, M. et al. 2011. Agricultural reuse of the digestate from low-cost tubular digestates in rural Andean communities. **Waste Management**, **31**:2584–2589.
- GUO, J. H. et al. 2010. Significant acidification in major Chinese croplands. **Science**, **327**:1008–1010.
- HUKARI, S.; HERMANN, L.; NÄTTORP, A. 2016. From wastewater to fertilizers – technical overview and critical review of European legislation governing phosphorus recycling. **Science of the Total Environment**, **542**:1127-1135.
- INOUE, K. R. A. et al. 2011. Concentração de nutrientes em plantas de milho, adubadas com biofertilizantes, obtidos na digestão anaeróbia da manipueira. **Revista Engenharia na Agricultura**, **19**(3):236-243.
- IZUMI, K. et al. 2010. Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. **International Biodeterioration & Biodegradation**, **64**:601-608.
- JIANG, J. et al. 2013. Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, temperature, and organic loading rate. **Bioresource Technology**, **143**:525-530.
- LEITE, V. D. et al. 2003. Tratamento de resíduos sólidos de centrais de abastecimento e feiras livres em reator anaeróbio de batelada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, **7**(2):318-322.
- LIMA, J. G. A. et al. 2012. Crescimento inicial do milho fertirrigado com biofertilizante. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, **8**(1):39-44.
- MAGHANAKI, M. et al. 2013. Potential of biogas production in Iran. **Bioresource Technology**, **101**:1153-1158.
- MARAÑÓN, E. et al. 2012. Co-digestion of cattle manure with food waste and sludge to increase biogas production. **Waste Management**, **32**:1821-1825.
- MARQUES, M. 2011. Agricultura sustentável: pontos para reflexão. **Revista de Política Agrícola**, **10**(2):44-51.
- MARTÍN-GONZÁLEZ, L.; FONT, X.; VICENT, T. 2013. Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes. **Biochemical Engineering Journal**, **76**:1-5.
- McGLONE, J. J. 2013. The future of pork production in the world: towards sustainable, welfare-positive systems. **Animals**, **3**:401–415.
- METCALF, L.; EDDY, H. 1991. **Wastewater engineering treatment disposal reuse**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1334p.
- MOLINUEVO-SALCES, B. et al. 2013. Anaerobic co-digestion of livestock and vegetable processing wastes: fibre degradation and digestate stability. **Waste Management**, **33**:1332-1338.

MÖLLER, K.; MÜLLER, T. 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: a review. **Engineering in Life Sciences Journal**, **12**(3):242-257.

PASSOS F.; GARCÍA, G.; FERRER, I. 2013. Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass. **Bioresource Technology**, **138**:79-86.

TOMAZETTO, G. et al. 2014. Complete genome sequence of *Peptoniphilus* sp. Strain ING2-D1G isolated from a mesophilic lab-scale completely stirred tank reactor utilizing maize silage in co-digestion with pig and cattle manure for biomethanation. **Journal of Biotechnology**, **192**:59-61.

WANG, F. et al. 2012. The progress and prospects of rural biogas production in China. **Energy Policy**, **51**:58-63.

WANG, K. et al. 2014. Transformation of dissolved organic matters in swine, cow and chicken manures during composting. **Bioresource Technology**, **168**:222-228.