

589 - RENDIMENTO DE BIO-HIDROGÊNIO A PARTIR DA FERMENTAÇÃO ESCURA DO BAGAÇO DE MALTE: OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO POR EXPLOSÃO A VAPOR

Guilherme Luiz Izoton Kanheski⁽¹⁾

Engenheiro Civil (IESB), especialista em Engenharia de Saneamento Básico (INBEC) e mestrando em Saneamento Ambiental no Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (POSDEHA - UFC).

Débora Danna Soares da Silva⁽²⁾

Engenheira Ambiental (Pitágoras), mestra em Gestão e Tecnologia Ambiental (IFCE) e doutoranda em Saneamento Ambiental no Programa de Pós-graduação do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (POSDEHA - UFC).

Mayara Mara Rocha de Oliveira⁽³⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista (IFCE), mestra em Energias Renováveis (IFCE) e doutoranda em Saneamento Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (POSDEHA-UFC)

Amanda de Sousa e Silva⁽⁴⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista (IFCE), mestra e doutora em Saneamento Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (POSDEHA-UFC). Pós-doutoranda CNPq.

André Bezerra dos Santos^(5,*)

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará. Doutor em Environmental Sciences pela Wageningen University - Holanda. Professor Titular do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Endereço^(*): Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Rua Prof. Armando Farias, 713, Pici, Fortaleza, Ceará. CEP: 60.440-900. E-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

A busca por alternativas energéticas sustentáveis tem impulsionado o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos, como o bagaço de malte (*Brewers' Spent Grain* – BSG), em processos biotecnológicos. A fermentação escura surge como uma rota promissora para a produção de bio-hidrogênio, especialmente quando associada a pré-tratamentos que aumentam a biodisponibilidade do substrato. Nesse contexto, o presente estudo avaliou o rendimento de bio-hidrogênio via fermentação escura utilizando BSG previamente submetido a pré-tratamento por explosão a vapor associado a diferentes severidades (10, 15 e 20 bar). Os experimentos foram conduzidos em regime batelada, utilizando reatores com 200 mL de volume reacional, preenchidos com BSG hidrolisado, meio basal, inóculo e aditivos para otimização do processo fermentativo. Os ensaios foram executados sob agitação e temperatura controladas, durante 72 horas. A produção de biogás foi monitorada automaticamente por medidor de vazão por deslocamento de líquido, e a composição do biogás analisada por cromatografia gasosa. Foi avaliado, principalmente, o rendimento de bio-hidrogênio (mLH₂/gDQO) para as diferentes severidades e mediante o aumento da concentração orgânica nas condições. A explosão a vapor demonstrou-se eficiente na solubilização da matéria orgânica do BSG, promovendo maior biodisponibilidade do substrato. Entre as condições testadas, o pré-tratamento a 10 bar apresentou os melhores resultados, com rendimento de bio-hidrogênio aproximadamente 24% superior aos obtidos em 15 bar e até 42% superiores aos de 20 bar. Severidades mais elevadas, apesar de aumentarem a solubilização, podem induzir efeitos que comprometem a atividade microbiana, reduzindo a eficiência do bioprocessos. Além disso, mesmo com o aumento da concentração orgânica na condição de 10 bar, a redução no rendimento foi de apenas 9%, indicando boa resiliência do sistema frente a cargas mais elevadas. A cinética do processo foi semelhante entre as condições, com fase de latência de cerca de 8 horas, estabilização da produção em 48 horas e teor médio de bio-hidrogênio em torno de 55% v/v. Dessa forma, a combinação do BSG com o pré-tratamento por explosão a vapor mostrou-se uma estratégia promissora para a produção de bio-hidrogênio, com potencial de aplicação em escala ampliada, contribuindo para a valorização de resíduos, a geração de energia limpa e o avanço da economia circular. Estudos futuros devem explorar diferentes estratégias operacionais, aplicação de novos pré-tratamentos e operação contínua para ampliar o desempenho e a aplicabilidade do processo.

PALAVRAS-CHAVE: Bagaço de malte, Bio-hidrogênio, Explosão a vapor, Fermentação escura.

INTRODUÇÃO

A energia desempenha um papel vital na vida cotidiana, sendo um insumo importante para o desenvolvimento socioeconômico de qualquer nação, e cuja procura aumenta a um ritmo exponencial devido ao crescimento da população mundial, gerando desafios globais significativos (LU *et al.*, 2024). Para enfrentar esses desafios, os países têm desenvolvido novas políticas voltadas à economia circular, visando a busca por alternativas que combinem a maximização do uso da biomassa com a redução da dependência de combustíveis fósseis.

Apesar do notável crescimento das energias renováveis nos últimos anos, o uso de combustíveis fósseis, continua a crescer significativamente, o que implica elevadas emissões de gases com efeito de estufa (GEE) (MEENA; PATANE, 2025). A produção de bioenergia a partir de biomassa, mesmo sendo a grande tendência de crescimento econômico previsto pela sustentabilidade, ainda é um desafio por não ser economicamente competitivo com os combustíveis fósseis, que ainda possuem valores baixos de comercialização. Nesse contexto, as biorrefinarias ocupam um papel fundamental ao converter subprodutos em bioprodutos de alto valor agregado (DOS SANTOS *et al.*, 2023).

O resíduo de malte de cervejaria, também conhecido como bagaço de malte (*Brewers' Spent Grain* - BSG), destaca-se pelo seu elevado potencial para a produção de compostos de valor agregado, devido à sua riqueza em proteínas, fibras, celulose, arabinosilanas e lignina (LI *et al.*, 2021). Além de ser abundante, de baixo custo e fácil manejo, o BSG representa uma fonte promissora tanto do ponto de vista ecológico quanto econômico.

Contudo, a biomassa lignocelulósica, como o bagaço de malte, possui uma estrutura recalcitrante, dificultando o acesso das enzimas e microrganismos aos polissacarídeos, devido à complexa matriz de lignocelulose, formada principalmente por uma estrutura espessa de hemicelulose e lignina que envolve as moléculas de celulose (SARAVANAN *et al.*, 2022). Para superar essa barreira, são necessários processos de pré-tratamento, como o uso de ácidos, álcalis, CO₂ supercrítico ou explosão a vapor, com o objetivo de melhorar a acessibilidade dos açúcares e evitar a formação de compostos inibidores (SUNAR *et al.*, 2024).

A explosão à vapor é um método eficiente, econômico e sustentável de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica. Nesse processo, a biomassa é exposta a vapor saturado sob alta pressão e, em seguida, sofre uma descompressão explosiva, quebrando a matriz lignocelulósica, redistribuindo ou removendo parte da lignina e melhorando a acessibilidade à celulose. Esse método é versátil, aplicável a diversos tipos de biomassa, e possibilita alta recuperação de açúcares e digestibilidade enzimática. Comparado a outros pré-tratamentos, consome menos energia e reduz custos ambientais associados a processos químicos (HOANG *et al.*, 2023).

Estudos têm explorado o uso do BSG para a produção de biocombustíveis, como etanol, butanol, metano e hidrogênio, além de outros compostos de valor agregado, como ácidos graxos voláteis (MITRI *et al.*, 2022). O hidrogênio, por ser renovável e limpo, apresenta um elevado conteúdo energético e emissões nulas de gases de efeito estufa. Atualmente, a maior parte do hidrogênio é derivada de fontes fósseis, como gás natural e carvão, que geram poluição e insegurança energética (SAHRIN *et al.*, 2022). A produção biológica de hidrogênio, especialmente por fermentação escura, surge como uma alternativa sustentável, oferecendo altas taxas de produção e sendo compatível com digestão anaeróbia, além de permitir o uso de resíduos orgânicos como matéria-prima (PÉREZ-BARRAGÁN *et al.*, 2024).

OBJETIVOS

Avaliar o rendimento de bio-hidrogênio por meio do processo de fermentação escura utilizando o BSG (bagaço de malte) submetido ao pré-tratamento de explosão à vapor.

- Comparar a produção de bio-hidrogênio entre os diferentes graus de severidade do pré-tratamento de explosão à vapor;
- Analisar o efeito de aumento de concentração orgânica no bioprocessos;
- Determinar a configuração ótima de grau de severidade da explosão à vapor e concentração orgânica para a produção de bio-hidrogênio.

METODOLOGIA UTILIZADA

O bagaço de malte (*Brewer's Spent Grain* – BSG) *in natura* foi coletado em uma cervejaria localizada em Pacatuba, Ceará, Brasil. O substrato foi então armazenado a -20 °C e, posteriormente, descongelado de forma gradual até 4 °C antes de sua utilização, com o objetivo de preservar suas características físico-químicas (HOLLIGER *et al.*, 2016). Em seguida, o BSG foi seco em estufa a 60 °C por 48 horas para remover o excesso de umidade resultante do congelamento. Após a secagem, o material foi triturado em um liquidificador industrial por 3 minutos, a fim de

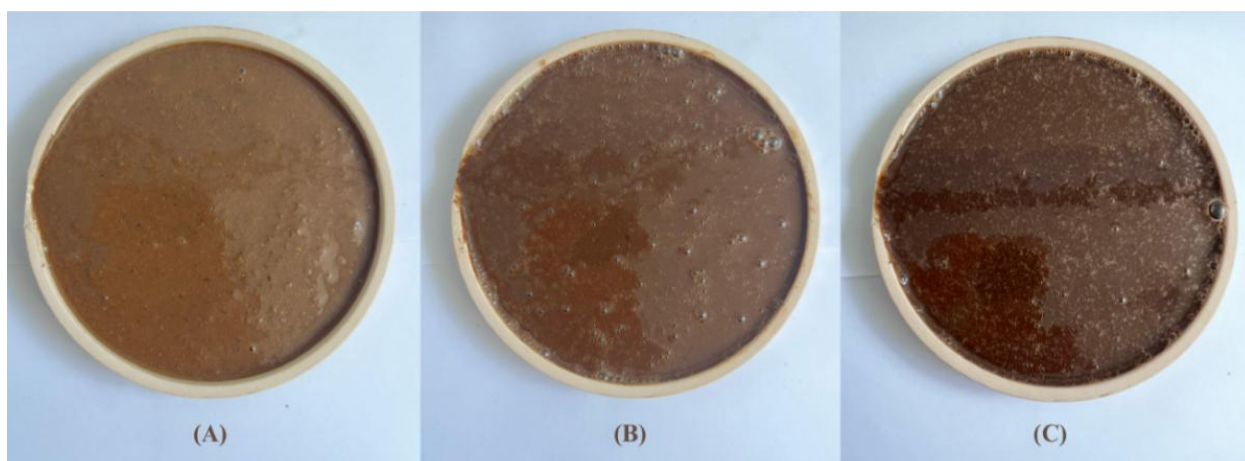
desmembrar as partículas mais grosseiras, e peneirado em malha de 2 mm para padronização dos elementos. A Figura 1 ilustra o bagaço de malte *in natura* após esses processos.



Figura 1: Bagaço de malte *in natura* após trituração e peneiramento.

O pré-tratamento por explosão a vapor foi conduzido em uma planta piloto da Embrapa Agroindústria Tropical, localizada em Fortaleza, Ceará. O sistema é constituído por uma caldeira geradora de vapor, um reator pressurizado com capacidade de 5 L, um compressor de ar e um ciclone destinado à recepção do material. O reator, previamente aquecido, recebeu 500 g de bagaço de malte (BSG) por batelada. A caldeira forneceu vapor para aquecer o reator até a temperatura estabelecida, variando entre 185 e 214 °C. A explosão foi realizada por meio da abertura e fechamento da válvula de pressurização, ocasionando uma descompressão instantânea.

Esse procedimento foi realizado sob pressões de 10, 15 e 20 bar, resultando em três diferentes graus de severidade do BSG hidrolisado, correspondentes a essas pressões: BSG 10 bar, BSG 15 bar e BSG 20 bar. Os substratos hidrolisados obtidos, ou seja, submetidos ao pré-tratamento, foram armazenados a 4 °C até serem utilizados no experimento. Para o emprego das concentrações orgânicas de substrato desejadas no experimento, foram realizadas análises de demanda química de oxigênio (DQO) de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017). Os diferentes aspectos do substrato após o pré-tratamento por explosão a vapor estão apresentados na Figura 2.



**Figura 2: Bagaço de malte após pré-tratamento por explosão a vapor em diferentes severidades.
(A) BSG 10 bar; (B) BSG 15 bar; (C) BSG 20 bar.**

O lodo utilizado como inóculo foi coletado em uma estação de tratamento anaeróbio de águas residuárias da cervejaria, Pacatuba, Ceará, Brasil. O inóculo foi armazenado a 4 °C, e a quantidade necessária foi retirada com 24 horas de antecedência à montagem de cada experimento, para promover sua ambientação térmica. A Figura 3 apresenta o lodo utilizado nos estudos.



Figura 3: Inóculo de cervejaria utilizado no experimento.

Quanto ao procedimento experimental, o estudo foi realizado em reatores (frascos de borossilicato) de 250 mL em triplicata, operando em regime de batelada. O volume reacional foi preenchido com BSG hidrolisado, meio basal (1% v/v), inóculo, clorofórmio (0,05% v/v) para inibição seletiva das arqueias metanogênicas e bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3) (0,32 g/L) visando melhor desempenho do processo (SANTANA JUNIOR; DUDA; OLIVEIRA, 2019). A composição do meio basal se deu por K_2HPO_4 (0,125 g/L), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,015 g/L), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,005 g/L) e $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($1,25 \times 10^{-4}$ g/L) (MENEZES; SILVA, 2019).

Para a montagem do experimento, a relação substrato/inóculo (S/I) foi fixada em 5 para todas as condições experimentais, visando a padronização desse fator em virtude da variação do parâmetro objeto de estudo (aumento da concentração orgânica para as diferentes severidades de pré-tratamento). Após a inserção de todo o conteúdo nos reatores, o pH da mistura foi ajustado para 7 com solução de NaOH a 40%. Os reatores foram selados com rolhas de borracha butílica e purgados com nitrogênio (N_2) durante um minuto, com o objetivo de estabelecer um ambiente anaeróbio. Em seguida, os reatores foram colocados em uma incubadora tipo *shaker*, sob agitação orbital de 150 rpm, a 37 °C, por 72 horas. Para a conexão com os frascos de quantificação de biogás, foram utilizadas mangueiras de silicone com agulhas (1,20 x 40 mm) acopladas nas extremidades, inseridas nas borrachas butílicas dos reatores. A Figura 4 apresenta a disposição dos reatores conforme o procedimento descrito.



Figura 4: Reatores dispostos em incubadora e conectados ao quantificador de biogás.

A quantificação da produção volumétrica de biogás foi realizada de forma automatizada, utilizando um medidor de vazão de gás por deslocamento de líquido (*Gas Flow Meter Module e Datalogger Arduino – Anaero Technology Ltd, Reino Unido*). O equipamento é constituído por um bloco único de acrílico, contendo células de 200 mL e recipientes

basculantes do mesmo material, com capacidade aproximada de 7 mL de gás. Ao atingir o volume máximo de armazenamento, ocorre o tombamento do recipiente basculante, liberando o gás para a atmosfera e reiniciando o processo de acumulação. Um barômetro integrado ao registrador *Arduino* monitora continuamente a pressão atmosférica, permitindo a correção dos dados para as condições normais de temperatura e pressão (CNTP). Todas as células contêm o mesmo nível de água destilada, que assegura pressão hidrostática igual em todas as células. Essa configuração de equipamentos permite a obtenção dos dados de produção volumétrica de biogás por meio de planilhas de dados geradas no computador.

Em cada condição experimental foram retiradas amostras gasosas periódicas de volume de 1 mL para realização da composição do biogás, analisada em cromatógrafo gasoso com detecção por descarga por ionização de barreira dielétrica (GC-BID, *gas chromatography-barrier ionization discharge*) (GC BID-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Japão), equipada com uma coluna GS GASPRO (60 m x 0,32 mm) (Agilent Technologies Inc., EUA), a fim de obter os percentuais dos gases presentes. Assim, as produções volumétricas de bio-hidrogênio foram determinadas por meio da multiplicação do volume de biogás e do percentual de bio-hidrogênio presente em cada reator. A Figura 5 sintetiza esquematicamente o procedimento metodológico descrito até a determinação dos dados de produção volumétrica de bio-hidrogênio.

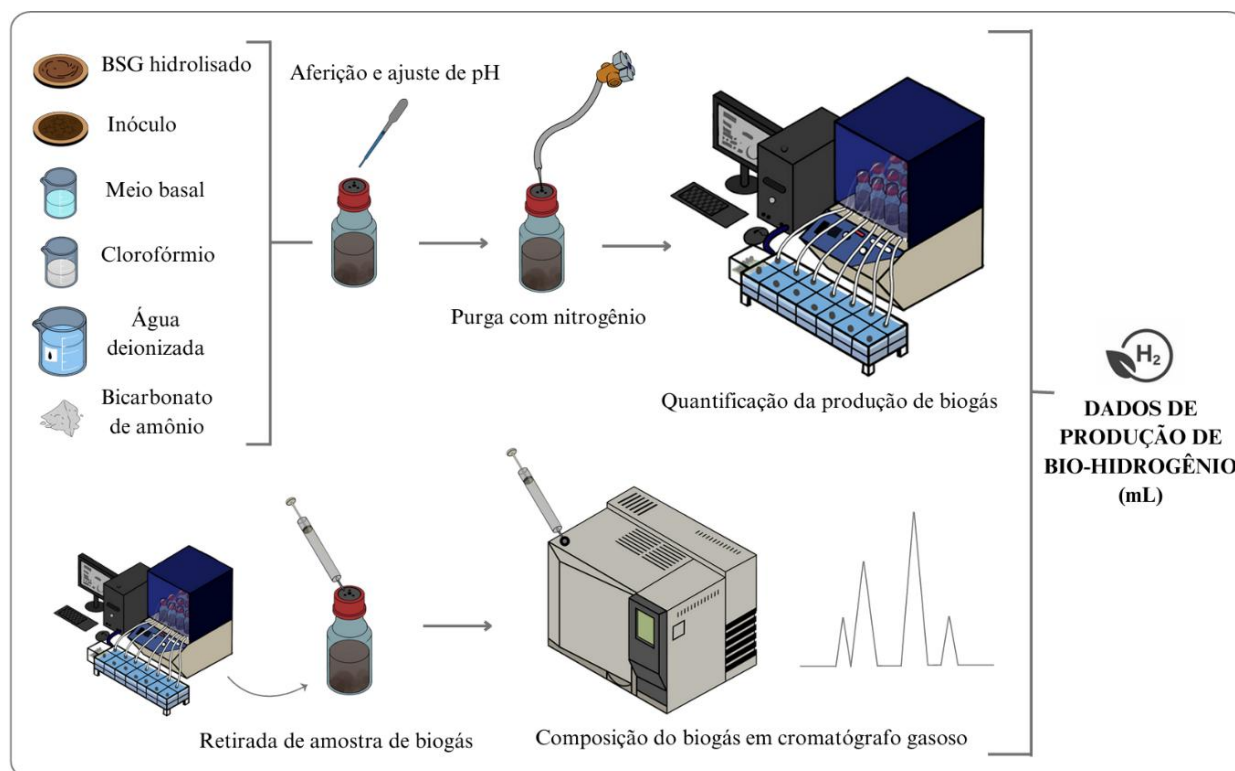


Figura 5: Esquema metodológico até a obtenção dos dados de produção de bio-hidrogênio.

Em relação ao objeto de estudo – aumento da concentração orgânica nas diferentes severidades de pré-tratamento – tem-se que a aplicação de uma dosagem elevada pode sobrecarregar os microrganismos e comprometer o processo, provocando efeitos que comprometem o processo de fermentação escura e inibem a produção de bio-hidrogênio devido a desequilíbrios metabólicos. Por outro lado, concentrações orgânicas muito baixas podem limitar a produção máxima de bio-hidrogênio, reduzindo o aproveitamento global do processo (LI *et al.*, 2024). Portanto, visando a avaliação do objeto de estudo e seguindo o procedimento metodológico descrito, o estudo foi conduzido para cada severidade de pré-tratamento por explosão a vapor com concentrações orgânicas de 5 gDQO/L e 10 gDQO/L, conforme as seguintes nomenclaturas dos reatores:

- RE-10bar₅ (BSG 10 bar com 5 gDQO/L);
- RE-10bar₁₀ (BSG 10 bar com 10 gDQO/L);
- RE-15bar₅ (BSG 15 bar com 5 gDQO/L);
- RE-15bar₁₀ (BSG 15 bar com 10 gDQO/L);
- RE-20bar₅ (BSG 20 bar com 5 gDQO/L);
- RE-20bar₁₀ (BSG 20 bar com 10 gDQO/L).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É apresentado na Tabela 1 o rendimento de hidrogênio acumulado, em mLH_2/gDQO , nos reatores com bagaço de malte (*Brewers' Spent Grain* – BSG) hidrolisado pré-tratado por explosão à vapor em diferentes severidades (10, 15 e 20 bar) e diferentes concentrações orgânicas (5 gDQO/L e 10 gDQO/L) no período de 72 horas.

Tabela 1: Rendimentos de bio-hidrogênio para diferentes severidades e concentrações orgânicas de BSG pré-tratado por explosão a vapor.

Reator	Rendimento de bio-hidrogênio (mLH_2/gDQO)
RE-10bar ₅	142±6
RE-10bar ₁₀	129±7
RE-15bar ₅	109±2
RE-15bar ₁₀	97±1
RE-20bar ₅	82±4
RE-20bar ₁₀	83±6

Os maiores rendimentos cumulativos de bio-hidrogênio foram observados em frações líquidas do hidrolisado submetidas à menor severidade de pré-tratamento (RE-10bar₅ - 142 mLH_2/gDQO e RE-10bar₁₀ - 129 mLH_2/gDQO). Esse pré-tratamento com menor severidade (RE-10bar) resultou em rendimentos cerca de 24% superiores aos obtidos para as respectivas concentrações orgânicas no RE-15bar e até 42% maiores em relação aos valores alcançados com o pré-tratamento em RE-20bar. Quanto ao aumento da concentração orgânica de BSG nos reatores (de 5 gDQO/L para 10 gDQO/L), em cada grau de severidade, os dados obtidos indicaram que o rendimento acumulado de bio-hidrogênio foi levemente menor com o aumento da carga orgânica, com exceção do RE-20bar, que apresentou valores praticamente iguais para ambas as condições (82 e 83 mLH_2/gDQO).

É demonstrado na Figura 6 as curvas de rendimentos cumulativos dos diferentes reatores estudados.

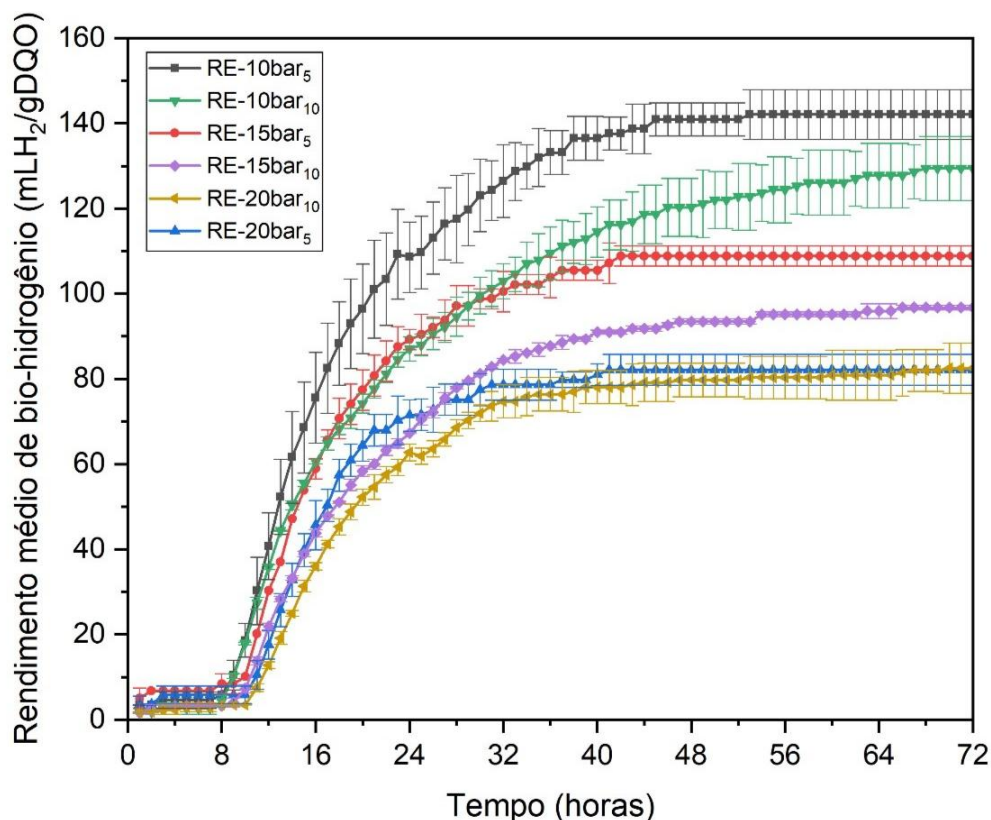


Figura 6: Curvas de rendimento cumulativo de bio-hidrogênio com BSG pré-tratado por explosão a vapor em diferentes graus de severidade e concentrações orgânicas.

As curvas na Figura 6 evidenciam que o pré-tratamento em RE-10bar proporcionou o maior rendimento acumulado de bio-hidrogênio, confirmando que a menor severidade do pré-tratamento favoreceu a produção. Observa-se também que a utilização do hidrolisado de BSG resultou em uma fase de latência curta, com início da produção de bio-hidrogênio por volta de 8 horas após a inoculação, favorecendo o início da atividade microbiana, que é um comportamento desejável em sistemas fermentativos, visto que contribui para ciclos mais curtos e aumento da produtividade. Além disso, os diferentes reatores apresentaram perfis de produção de hidrogênio semelhantes ao longo do tempo, com variações na magnitude dos rendimentos, mas mantendo a tendência de estabilização entre 48 e 72 horas.

Diante dos resultados apresentados, em termos de rendimento bruto, percebe-se que as melhores condições para a produção de bio-hidrogênio foram alcançadas com a menor severidade (RE-10bar) e uma concentração orgânica de 5 gDQO/L, pois essa combinação propiciou o maior rendimento acumulado. Embora o RE-20bar tenha mostrado a melhor estabilidade de rendimento com o aumento da concentração orgânica, sua produção inicial foi significativamente mais baixa em comparação com os outros reatores, o que torna essa configuração menos eficiente. Quanto à composição do biogás, o teor de bio-hidrogênio na fase gasosa permaneceu em média 55% v/v em todos os reatores estudados e a parcela restante foi composta de gás carbônico (CO₂).

Pode-se observar que o pré-tratamento de explosão a vapor facilitou a solubilização da matéria orgânica complexa do BSG, favorecendo uma produção expressiva de bio-hidrogênio. Em geral, o BSG possui uma estrutura complexa, característica da biomassa lignocelulósica, sendo composto principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, o que torna sua conversão um desafio significativo. Por isso, a aplicação de pré-tratamentos é fundamental, pois induz rápidas alterações na estrutura da parede celular da biomassa, liberando uma fração solúvel rica em açúcares derivados da celulose e hemicelulose (HOANG *et al.*, 2023).

Quando o grau de severidade do pré-tratamento é aumentado, há um aumento significativo na produção de açúcares monoméricos, favorecendo a bioconversão da matéria orgânica em bio-hidrogênio (RUIZ *et al.*, 2021). Contudo, durante o pré-tratamento pode ocorrer liberação de compostos inibitórios, como furfural, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), compostos fenólicos e ácidos fortes, os quais podem interferir na atividade enzimática de bactérias, prejudicando seu metabolismo (DUWE; TIPPKÖTTER; ULBER, 2019). Portanto, a menor produção de bio-hidrogênio observada na condição com substrato tratado com maior grau de severidade (RE-20bar) pode estar ligada à presença de maiores concentrações de compostos inibitórios.

Para o melhor pré-tratamento (RE-10bar), os resultados obtidos mostram que, com o aumento da concentração orgânica, houve uma redução de cerca de 9% do rendimento de bio-hidrogênio. Esses resultados sugerem que a sobrecarga orgânica em maior escala poderia afetar negativamente a eficiência de produção de bio-hidrogênio, possivelmente devido a fatores como inibição microbiana ou acúmulo de subprodutos (ácidos e álcoois, por exemplo) (LIN *et al.*, 2015; YUN e CHO, 2016). Apesar disso, essa redução não se mostra tão expressiva, ou seja, também pode ser interpretada de forma positiva, pois indica que o processo permanece eficiente mesmo com o aumento da concentração orgânica. Isso permitiria adicionar mais resíduos ao reator sem comprometer significativamente a produção de bio-hidrogênio, ampliando o potencial de tratamento de resíduos e aumentando a sustentabilidade do processo.

Quanto à composição do biogás, embora as severidades de pré-tratamento possam influenciar a quantidade total de biogás produzido, a concentração de bio-hidrogênio pôde se manter relativamente constante, como observado neste estudo. Isso ocorre quando as condições operacionais (como temperatura, pH e tempo de residência) são semelhantes entre os reatores (DÍAZ *et al.*, 2021).

Poucos estudos abordam o uso de BSG como substrato para a produção de bio-hidrogênio, destacando-se os trabalhos de Soares, Mayer e Mazutti (2024), Sganzerla *et al.* (2023) e Sarkar *et al.* (2021). Soares, Mayer e Mazutti (2024) investigaram o pré-tratamento ácido do BSG para maximizar a produção de bio-hidrogênio, obtendo a maior produção cumulativa (4.160 mL/L) em temperatura inferior a 35 °C, pH inicial 7,5 e razão inóculo de 30%. Sganzerla *et al.* (2023) avaliaram a co-fermentação anaeróbia do BSG (*in natura* e misturado com efluente de cervejaria) para a produção de hidrogênio e obtiveram rendimento acumulado de 25 mLH₂/gSV, quando o reator foi operado apenas com o efluente de cervejaria, em condições termofílicas (55 °C) e pH em torno de 5. Já Sarkar *et al.* (2021) avaliaram o efeito do pH inicial (4–10) na conversão acidogênica de BSG não tratado, com lodo anaeróbio (pré-tratado e não tratado) como inóculo, a 35 °C. Os autores observaram maiores produções de bio-hidrogênio de 1.712 mL/L (pH 9, inóculo pré-tratado) e 1.580 mL/L (pH 10, inóculo não tratado).

Considerando esses resultados, observa-se o bom desempenho do processo desenvolvido neste estudo, no qual a maior produção de bio-hidrogênio alcançada foi de 710 mLH₂/L (em termos de litro de volume de trabalho), enquanto Poladyan *et al.* (2018), por exemplo, obtiveram apenas 92 mLH₂/L. Essa diferença entre os estudos pode ser explicada pelo uso de diferentes tipos de inóculo, já que os autores mencionados utilizaram cultura pura de *Escherichia coli*, além das variações nas condições operacionais, como temperatura e pH. A escolha de diferentes fontes de inóculo (cultura pura ou mista) resulta na presença de comunidades microbianas distintas, que reagem de maneiras variadas conforme as condições ambientais. Adicionalmente, neste estudo foi utilizado BSG pré-tratado por explosão a vapor, enquanto Poladyan *et al.* (2018) utilizaram hidrolisado pré-tratado por hidrólise ácida, o que pode impactar diretamente na degradação do substrato, influenciada pelos efeitos dos diferentes pré-tratamentos aplicados.

Embora poucos estudos tenham utilizado BSG para produção biológica de hidrogênio, vários trabalhos foram desenvolvidos utilizando outras fontes de biomassa lignocelulósica para produção de bio-hidrogênio, como os de Tandon *et al.* (2018), Silva *et al.* (2018), Lopez-Hidalgo, Sánchez e De León-Rodríguez (2017) e outros. Apesar das diferenças nas condições ótimas de operação em cada caso, os resultados obtidos neste estudo indicam que o BSG apresenta um potencial promissor para a produção de bio-hidrogênio, com desempenho comparável — e em alguns aspectos superior — ao dos substratos utilizados nos estudos mencionados.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O estudo demonstrou que a explosão a vapor é eficaz na solubilização da matéria orgânica complexa do bagaço de malte (*Brewers' Spent Grain* – BSG), promovendo alterações estruturais que favorecem a produção de bio-hidrogênio. Sob a condição mais moderada de pré-tratamento (10 bar), houve uma melhor relação entre disponibilidade de substrato e efeitos prejudiciais à fermentação escura (como formação de compostos inibitórios), otimizando a bioconversão. Os reatores RE-10bar apresentaram rendimentos cerca de 24% maiores que obtidos para RE-15bar e 36-42% superiores aos alcançados com o pré-tratamento em RE-20bar.

A severidade do pré-tratamento mostrou-se um fator crítico para o equilíbrio entre a liberação de açúcares fermentáveis e a formação de compostos inibitórios, que podem comprometer a atividade microbiana. Isso destaca a importância de otimizar as condições de pré-tratamento a fim de obter a solubilização da matéria orgânica atrelada a uma minimização da formação de inibidores.

Na melhor condição (RE-10bar), houve redução de aproximadamente 9% no rendimento de bio-hidrogênio com o aumento da concentração orgânica, o que indica uma possível limitação do processo mediante taxas elevadas, possivelmente associada à inibição microbiana, acúmulo de subprodutos ou alterações no equilíbrio metabólico. No entanto, essa redução relativamente baixa também demonstra uma boa tolerância do sistema ao incremento de matéria orgânica de BSG, o que pode ser vantajoso em contextos de escalonamento e tratamento de maiores volumes do resíduo. Isso sugere viabilidade para aplicações em escala maior, embora estudos adicionais sejam necessários para definir os limites ideais de operação. A composição do biogás se manteve estável, com média de 55% de hidrogênio, refletindo a constância das condições operacionais.

A utilização do bagaço de malte (BSG), um subproduto abundante da indústria cervejeira, aliado ao pré-tratamento por explosão a vapor, configura-se como uma abordagem promissora para a produção sustentável de bio-hidrogênio. Esse processo permite a conversão de um resíduo lignocelulósico em energia renovável de forma eficiente, contribuindo não apenas para a valorização de resíduos, mas também para a redução de emissões de gases de efeito estufa, mitigação de passivos ambientais e avanço na circularidade da cadeia produtiva. Dessa forma, a aplicação dessa tecnologia se alinha a estratégias globais voltadas à transição energética e à consolidação de uma economia de baixo carbono.

Outras condições experimentais podem ser estudadas para otimizar ainda mais o desempenho e a sustentabilidade desse processo, por exemplo: a avaliação de diferentes relações substrato/inóculo (S/I), o efeito de outras severidades de BSG hidrolisado por explosão a vapor, o emprego de aditivos (como materiais condutores a base de carbono e ferro), o estudo em condições contínuas ou semi-contínuas e a aplicação de diferentes pré-tratamentos ao BSG para contrastar com a explosão a vapor (como o termo-alcalino e a hidrólise ácida).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais—FAPEMIG, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico—

FUNCAP, e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto–INCT ETEs Sustentáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23. ed. Washington DC: American Public Health Association. 2017.

DÍAZ, L. F.; DÍAZ-CURBELO, A.; MATUTE, K. I.; FDZ-POLANCO, M. PÉREZ-ELVIRA, S. I. Influence of operational conditions on the biogas production and hydrogen concentration in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 135, 110179. 2021.

DOS SANTOS, A. L. M.; SILVA, A. S.; MORAIS, N. W. S.; DOS SANTOS, A. B. Brewery Spent Grain as sustainable source for value-added bioproducts: Opportunities and new insights in the integrated lignocellulosic biorefinery concept. *Industrial Crops and Products*, v. 206, p. 117685, 2023.

DUWE, A.; TIPPKÖTTER, N.; ULBER, R. Lignocellulose-biorefinery: ethanol-focused. *Biorefineries*, v. 1, p. 177-215. 2019.

LOPEZ-HIDALGO, A. M.; SÁNCHEZ, A.; DE LEÓN-RODRÍGUEZ, A. Simultaneous production of bioethanol and biohydrogen by *Escherichia coli* WDHL using wheat straw hydrolysate as substrate. *Fuel*, v. 188, p. 19-27. 2017.

HOANG, A. T.; NGUYEN X. P.; DUONG, X. Q.; AĞBULUT, Ü.; LEN, C.; NGUYEN, P. Q. P.; KCHAOU, M.; CHEN, W. Steam explosion as sustainable biomass pre-treatment technique for biofuel production: Characteristics and challenges. *Bioresource Technology*, v. 385, 129398. 2023.

LI, W.; YANG, H.; CALDEA, T. E.; ZHAO, H. Modification of structural and functional characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. *LWT*, v. 139, 110582. 2021.

LU, S.; LI, J.; ZHANG, W.; XIAO, F. Towards sustainable development in resource-based cities: Assessing the effects of extraregional technology and investment on the low-carbon transition. *Journal of Environmental Management*, v. 364, p. 121388, 2024.

LIN, R.; CHENG, J.; DING, L.; SONG, W.; ZHOU, J.; CEN, K. Inhibitory effects of furan derivatives and phenolic compounds on dark hydrogen fermentation. *Bioresource Technology*, v. 196, p. 250-255. 2015.

MENEZES, C. A. DE; SILVA, E. L. Hydrogen production from sugarcane juice in expanded granular sludge bed reactors under mesophilic conditions: The role of homoacetogenesis and lactic acid production. *Industrial Crops and Products*, v. 138, 111586. 2019.

MEENA, P. K.; PATANE, P. M. Biohydrogen: Advancing a sustainable transition from fossil fuels to renewable energy. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 100, p. 955-970, 2025.

MITRI, S.; SALAMED, S. J.; KHELFA, A.; LEONARD, E.; MAROUN, R. G.; LOUKA, N.; KOUBAA, M. Valorization of Brewers' Spent Grains: Pretreatments and Fermentation, a Review. *Fermentation*, v. 8, p. 50, 2022.

PÉREZ-BARRAGÁN, J.; MARTÍNEZ-FRAILE, C.; MUÑOZ, R.; QUIJANO, G.; MAYA-YESCAS, R.; LEÓN-BECERRIL, E.; CASTRO-MUÑOZ, R.; GARCÍA-DEPRAECT, O. Brewery spent grain valorization through fermentation: Targeting biohydrogen, carboxylic acids and methane production. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 191, p. 206-217, 2024.

POLADYAN, A.; TRCHOUNIAN, K.; VASSILIAN, A.; TRCHOUNIAN A. Hydrogen production by *Escherichia coli* using brewery waste: optimal pretreatment of waste and role of different hydrogenases. *Renewable Energy*, v. 115, p. 931-936. 2018.

RUIZ, H. A.; GALBE, M.; GARROTE, G.; RAMIREZ-GUTIERREZ, D.M.; XIMENES, E.; SUN, S.; LACHOS-PEREZ, D.; RODRÍGUEZ-JASSO, R.M.; SUN, R.; YANG, BIN.; LADISH, M.R. Severity factor kinetic model as a strategic parameter of hydrothermal processing (steam explosion and liquid hot water) for biomass fractionation under biorefinery concept. *Bioresource Technology*. v. 342, 125961. 2021.

SAHRIN, N. T.; KHOO, K. S.; LIM, J. W.; SHAMSUDDIN, R.; ARDO, F. M.; RAWINDRAN, H.; HASSAN, M.; KIATKITTIPONG, W.; ABDELFAATTAH, E. A.; OH, W. D.; CHEN, C. K. Current perspectives, future challenges and key technologies of biohydrogen production for building a carbon-neutral future: A review. *Bioresource Technology*, v. 364, p. 128088, 2022.

SGANZERLA, W. G.; SILLERO, L.; FORSTER-CARNEIRO, T.; SOLERA, R.; PEREZ, M. Determination of anaerobic co-fermentation of brewery wastewater and brewer's spent grains for bio-hydrogen production. *BioEnergy Research*, v. 16, n. 2, p. 1073-1083. 2023.

SANTANA JUNIOR, A. E.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. DE. Improving the energy balance of ethanol industry with methane production from vinasse and molasses in two-stage anaerobic reactors. *Journal of Cleaner Production*, v. 238, 117577. 2019.

SARAVANAN, A., KUMAR, P. S., JEEVANANTHAM, S., KARISHMA, S., & VO, D. V. N. Recent advances and sustainable development of biofuels production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 344, p. 126203, 2022.

SARKAR, O.; ROVA, U.; CHRISTAKOPOULOS, P.; MATSAKAS, L. Bioresource Technology Influence of initial uncontrolled pH on acidogenic fermentation of brewery spent grains to biohydrogen and volatile fatty acids production: optimization and scale-up. *Bioresource Technology*, v. 319, 124233. 2021.

SILVA, J. S.; MENDES, J. S.; CORREIA, J. A. C.; ROCHA, M. V. P.; MICOLI L. Cashew apple bagasse as new feedstock for the hydrogen production using dark fermentation process. *Journal of Biotechnology*, v. 286, p. 71-78. 2018.

SOARES, J. F.; MAYER, F. D.; MAZUTTI, M. A. Hydrogen production from Brewer's spent grain hydrolysate by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 52, p. 352-363. 2024.

SUNAR, S. L.; ORUGANTI, R. K.; BHATTACHARYYA, D.; SHEE, D.; PANDA, T. K. Deep eutectic solvent pretreatment of sugarcane bagasse for efficient lignin recovery and enhanced enzymatic hydrolysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 139, p. 539-553, 2024.

TANDON, M.; THAKUR, V.; TIWARI, K. L.; JADHAV, S. K. Enterobacter ludwigii strain IF2SW-B4 isolated for bio-hydrogen production from rice bran and de-oiled rice bran. *Environmental Technology & Innovation*, v. 10, p. 345-354. 2018.

YUN, J.; CHO, K.-S. Effects of organic loading rate on hydrogen and volatile fatty acid production and microbial community during acidogenic hydrogenesis in a continuous stirred tank reactor using molasses wastewater. *Journal of applied microbiology*, v. 121, n. 6, p. 1627-1636. 2016.