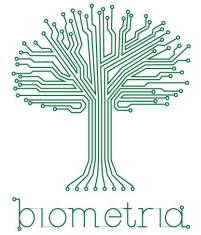




Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Biociências – Campus de Botucatu
Programa de Pós-graduação em Biometria



Biorremediação de efluentes por microalgas: uma análise matemática-estatística

Felipe Teles Barbosa

Botucatu
2021

Felipe Teles Barbosa

Biorremediação de efluentes por microalgas: uma análise matemática-estatística

Defesa de Doutorado apresentada ao Curso de Programa de Pós-graduação em Biometria da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Biometria.

Orientadora: Profa. Dra. Helenice de Oliveira Florentino Silva

Botucatu
2021

B238b Barbosa, Felipe Teles
 Biorremediação de efluentes por microalgas: uma análise
 matemática-estatística / Felipe Teles Barbosa. -- Botucatu, 2021
 112 p. : il., tabs.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
 Instituto de Biociências, Botucatu
 Orientadora: Helenice de Oliveira Florentino Silva

 1. Equações diferenciais estocásticas. 2. Algas. 3. Biorremediação.
 4. Otimização matemática. 5. Sistemas dinâmicos diferenciais. I.
 Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Agradecimentos

À Professora Doutora Helenice de Oliveira Florentino Silva, pelos valiosos momentos que não podem ser resumidos a apenas trocas de conhecimento. Obrigado por sua confiança em meu trabalho e por permitir que minhas ideias se tornem realidade no papel. Minha admiração por sua pessoa é imensurável!

Ao Professor Doutor Gustavo Henrique Ribeiro da Silva e à Doutora Anna Patrícya Florentino, por cederem gentilmente o conjunto de dados utilizado neste trabalho.

Aos meus pais, Adair e Kilza, e a minha avó, Onilda, por me motivarem a alcançar meus sonhos e não medirem esforços para tê-los realizados.

Aos meus queridos amigos de Pós-Graduação, em especial, Fátima (Szalona), Magali Teresópolis, Eduardo (Avaré), Lucas Ragiotto, Jacqueline Domingues, Gabriela Colovati, Elizabete (Bete), Juliana Gualberto, Juliana Freitas e Camila de Lima. Vou sempre lembrar de vocês com um sorriso no rosto!

Aos Professores Paulo Mancera e Luzia Trinca, por me fazerem apaixonar por sistemas dinâmicos e por modelagem estatística.

Aos meus alunos de Iniciação Científica, Tales e Gabriel, por me motivarem a ser um bom orientador e pesquisador, por me fazerem refletir sobre pontos que eu achava trivial e, claro, pelas boas risadas.

A minha querida amiga Marta Helena, que caminha junto a mim desde 2012 no mundo da pesquisa. Obrigado por me apresentar este universo tão peculiar e cheio de maravilhas e por despertar em mim toda a paixão que tenho por modelagem matemática!

A minha querida amiga Lívia Paschoalino, por ser meu porto seguro. Sua amizade é um presente para a vida inteira!

As minhas amigas/irmãs Beatriz Reami, Letícia Cotinguiba, Letícia Del Conte, Gabriela Caroline e Nádia Braga por estarem sempre comigo, mesmo que a uma distância continental.

Ich möchte meiner jetzigen Forschungsgruppe, Bernd, Tina, Dani, Christian und Julian, für ihr Verständnis und ihre Geduld mit mir während des Abschlusses meiner Doktorarbeit danken.

Ich möchte mich auch bei meinem Freund, Daniel Pranjković, für die Unterstützung seit der Pandemie, insbesondere für den Umzug nach Österreich und den Abschluss meiner Doktorarbeit, bedanken.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Information is the resolution of uncertainty.
Claude Shannon

Resumo

O descarte incorreto de resíduos promove e/ou intensifica diversos problemas ambientais, tais como a eutrofização e a contaminação de recursos hídricos. Para reduzir os impactos destes e outros problemas de cunho ambiental, a biorremediação de efluentes por microalgas é uma biotecnologia sustentável frequentemente empregada com a finalidade de auxiliar na remoção de nutrientes, na redução da carga orgânica de um efluente e na absorção de metais pesados. Com o intuito de obter informações sobre o bioprocessamento em análise, propõe-se aqui um modelo matemático, que consiste em um Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias Estocásticas, para descrever a dinâmica da biorremediação de efluentes domésticos por microalgas. Também foi formulado um modelo matemático para determinar a razão nitrogênio/fósforo inicial ótima para maximizar a remoção de fósforo associada à biorremediação do efluente. Além disto, foi proposto um procedimento para estimar os parâmetros do modelo desenvolvido utilizando um conjunto de dados referente à biorremediação de um efluente doméstico contaminado com fármacos, sob a ação da microalga *Chlorella sorokiniana* em modo de condução batelada. Análises matemática-estatísticas e simulações numéricas do modelo matemático proposto neste trabalho, implementado com os valores dos parâmetros estimados, evidenciaram o potencial das metodologias desenvolvidas nesta pesquisa para a descrição da biorremediação de efluentes domésticos contaminados com fármacos, auxiliando nas tomadas de decisão acerca do planejamento, da predição de cenários, da otimização e do controle do bioprocessamento.

Palavras-chave: Biorremediação; *Chlorella sorokiniana*; Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias Estocásticas; Estimativa de Parâmetros; Análise de Estabilidade.

Abstract

The improper discharge of residuals leads and/or intensifies several environmental problems, such as eutrophication and water sources contamination. To reduce the impacts of these and other environmental problems, bioremediation of effluents via microalgae is a sustainable biotechnology frequently employed to assist in the recovery of nutrients, the decreasing of organic load in water resources and the absorption of heavy metals. In order to provide insights with respect to this bioprocess, here it is proposed a mathematical model, consisted of a System of Stochastic Ordinary Differential Equations, that describes the dynamics of bioremediation of a domestic effluent via microalgae. It was also proposed a mathematical model to determine the optimal initial nitrogen/phosphorus ratio to maximize phosphorus removal associated with bioremediation of domestic wastewater. Moreover, it was proposed a procedure to estimate the parameters values of the proposed model from a data set concerning the bioremediation of domestic effluents contaminated with pharmaceuticals, mediated by *Chlorella sorokiniana* and carried out in batch mode. Mathematical-statistical analyses and numerical simulations of the proposed model, implemented with the estimated parameters values, highlighted the potential of the developed methodologies here to describe the bioremediation of domestic effluent contaminated with pharmaceuticals, assisting in the decision-making process in regards to planning, prediction of scenarios, optimization and control of the bioprocess.

Keywords: Bioremediation; *Chlorella sorokiniana*; System of Stochastic Ordinary Differential Equations; Parameter Estimation; Stability Analysis.

Lista de figuras

Figura 1 – Representação esquemática da atividade de uma célula algal: consumo de nutrientes, como N, P, CO ₂ , remoção de fármacos e geração de carboidratos, lipídios, oxigênio (O ₂) e hidrogênio (H ₂). Figura criada em BioRender.com.	7
Figura 2 – Correlograma das variáveis numéricas dos Grupos A e B.	54
Figura 3 – Diagramas de dispersão das variáveis O , P , N e X , medidas em triplicata, em relação ao tempo do bioprocessamento para os Grupos A e B.	60
Figura 4 – QMR ao longo de 100 iterações do Algoritmo 5.1.	71
Figura 5 – Distribuição dos resíduos brutos pelas observações de O , P , N e X .	72
Figura 6 – Dinâmica da variável O_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de oxigênio dissolvido medidas nos fotobiorreatores.	73
Figura 7 – Dinâmica da variável P_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações totais de fósforo medidas nos fotobiorreatores.	73
Figura 8 – Dinâmica da variável N_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações totais de nitrogênio medidas nos fotobiorreatores.	74
Figura 9 – Dinâmica da variável X_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de células algais medidas nos fotobiorreatores.	74
Figura 10 – Bandas de predição para a variável de estado O_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de oxigênio dissolvido medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).	76
Figura 11 – Bandas de predição para a variável de estado P_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de fósforo total medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).	76
Figura 12 – Bandas de predição para a variável de estado N_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de nitrogênio total medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).	77
Figura 13 – Bandas de predição para a variável de estado X_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de células algais medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).	77

Figura 14 – Representação geométrica da métrica proposta para avaliar a remoção de fósforo.	81
Figura 15 – Convergência do VNS: função objetivo por iterações para uma repetição no Cenário 5.	85

Lista de tabelas

Tabela 1 – Análise de estabilidade para abordagem I.	48
Tabela 2 – Análise de estabilidade (parcial) para abordagem II.	49
Tabela 3 – Análise de estabilidade (parcial) para abordagem III.	49
Tabela 4 – Medidas resumo das variáveis numéricas observadas nos Grupos A e B . . .	53
Tabela 5 – Medidas resumo do Modelo (4.8) ajustado aos Grupos A e B	56
Tabela 6 – Medidas resumo do Modelo (4.9) ajustado aos Grupos A e B	57
Tabela 7 – Medidas resumo do Modelo (4.12) ajustado aos Grupos A e B	58
Tabela 8 – Estatística ϕ para o teste de homocedasticidade de White	63
Tabela 9 – Valores iniciais para o vetor de parâmetros θ	69
Tabela 10 – Estimativa dos parâmetros do Modelo (3.17) para dois tratamentos.	70
Tabela 11 – Medidas resumo da análise da Área Sobre a Curva de Y_t	78
Tabela 12 – Diferentes cenários para a resolução do Modelo (6.3)	84
Tabela 13 – Medidas descritivas dos resultados de 100 repetições do VNS no Modelo (6.3) em seis diferentes cenários.	85

Lista de abreviaturas e siglas

a	Área específica de transferência de massa
bioH ₂	Biohidrogênio
Chla	Concentração de clorofila-a
CNTP	Condições Normais de Temperatura e Pressão
CO ₂	Concentração de dióxido de carbono
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
Dens	Densidade óptica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
[Fe]-[Fe]-hidrogenase	Enzima hidrogenase dependente de ferro
K_{iO}	Constante de inibição por oxigênio
k_L	Coefficiente de transferência de massa de um gás na película líquida estagnada entre a bolha de ar e o seio da solução
K_N	Constante de saturação relativa à concentração de nitrogênio
K_O	Constante de saturação relativa à concentração de oxigênio
K_P	Constante de saturação relativa à concentração de fósforo
N	Concentração de nitrogênio
$N(w, z)$	Distribuição Normal com média w e variância $z \geq 0$
NH ₃	Concentração de amônia
NH ₄ ⁺	Concentração de amônio
n_{O_2}	Taxa de transferência de oxigênio
NO ₂ ⁻	Concentração de nitrito
NO ₃ ⁻	Concentração de nitrato
NTK	Concentração de Nitrogênio Total Kjeldahl
O ₂	Concentração de gás oxigênio

O	Concentração de oxigênio dissolvido
pH	Potencial Hidrogeniônico
P	Concentração de fósforo
QMR	Quadrado Médio dos Resíduos
SQR	Soma de Quadrados dos Resíduos
SEDO	Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias
SEDOE	Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias Estocásticas
T	Tempo total de biorremediação
$U(a, b)$	Distribuição Uniforme entre valores reais a e b quaisquer
VAR	Modelos Vetoriais Autorregressivos
$Y_{X/N}$	Rendimento de consumo de nitrogênio por uma população de algas
$Y_{X/O}$	Rendimento de produção de oxigênio por uma população de algas
$Y_{X/P}$	Rendimento de consumo de fósforo por uma população de algas

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
2	FUNDAMENTOS DE BIORREMEDIAÇÃO E PRODUÇÃO DE BIOHIDROGÊNIO	3
2.1	Princípios de Biorremediação	3
2.2	Produção de Biohidrogênio por Microalgas	7
3	MODELAGEM MATEMÁTICA	10
3.1	Biorremediação	10
3.2	Propriedades qualitativas do modelo proposto	17
3.2.1	Não-negatividade das soluções do modelo adimensionalizado	17
3.2.2	Propriedades estatísticas do modelo proposto	23
3.2.2.1	Esperança	23
3.2.2.2	Matriz de Variâncias e Covariâncias	25
3.2.2.3	<i>Skewness</i>	27
3.2.3	Soluções do modelo uniformemente limitadas	28
3.3	Soluções de equilíbrio do modelo proposto e análise de estabilidade	32
3.3.1	Abordagem I: estabilidade parcial do modelo proposto	36
3.3.1.1	Ausência de fármacos	37
3.3.1.2	Presença de fármacos	38
3.3.2	Abordagem II: estabilidade dos momentos condicionais do modelo proposto	39
3.3.2.1	Ausência de fármacos	39
3.3.2.2	Presença de fármacos	41
3.3.3	Abordagem III: estabilidade dos momentos condicionais do modelo perturbado	42
3.3.3.1	Ausência de fármacos	43
3.3.3.2	Presença de fármacos	45
3.4	Representatividade do modelo proposto	49
4	ANÁLISE DE DADOS DE BIORREMEDIAÇÃO	51
4.1	Conjunto de Dados	51
4.2	Análise dos Dados	52
4.2.1	Colinearidade	53
4.2.2	Modelos de Regressão Linear	55
4.2.2.1	Relação entre pH e oxigênio dissolvido	56

4.2.2.2	Relação entre concentrações de clorofila-a e células	57
4.2.2.3	Relação entre os diferentes compostos nitrogenados	58
4.2.3	Análises de Homocedasticidade	59
	5 ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS DO MODELO PROPOSTO . .	64
5.1	Estimação de Parâmetros	64
5.2	Simulações Computacionais	69
	6 MODELO DE OTIMIZAÇÃO	80
6.1	Maximização da remoção de fósforo no bioprocessos	80
6.2	VNS	82
6.3	Experimentos computacionais	83
	7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	87
	REFERÊNCIAS	88
	APÊNDICES	96
	APÊNDICE A – CÁLCULO DOS PONTOS DE EQUILÍBRIO DO MO- DELO PROPOSTO	97

1 Introdução

A necessidade de frear os efeitos causados pela poluição é iminente. Para amenizar a intensidade de problemas como o aumento da temperatura global, a intoxicação de solos, a eutrofização e contaminação de corpos d'água com fármacos, a emissão de gases e partículas tóxicas no ar e a formação de ilhas de calor em centros urbanos, diversas biotecnologias podem ser empregadas, por exemplo, os bioprocessos para tratamento de resíduos (MOAL et al., 2019; ROMÃO et al., 2014; ZOUBOULIS; MOUSSAS, 2011).

Os resíduos gerados por indústrias alimentícias, têxteis, química, farmacêutica, de processamentos vegetal e animal, e outras, são formados por componentes orgânicos e minerais, os quais podem ser utilizados como fonte de energia por diversas culturas microbiológicas, tais como as culturas de bactérias e microalgas (SULEIMAN et al., 2020). Deste modo, o processo de biorremediação, que pode ser caracterizado pelo uso de agentes microbiológicos para promover a diminuição da carga orgânica e a diminuição da toxicidade no meio ambiente, é uma metodologia barata, não invasiva, ecológica e sustentável, que ganha notoriedade pelas suas aplicações na recuperação de áreas contaminadas e poluídas (SLOMPO et al., 2020; DZIOANEK; WOJCIESZYDSKA; GUZIK, 2016).

Há uma grande variedade de micro e macroalgas que podem ser utilizadas como organismos biorremediadores e as aplicações biotecnológicas destes seres autótrofos, além da biorremediação, são vastas, a saber, produção de gomas, óleos, gelatinas e corantes, alimentação humana e animal, na recuperação de fósforo e nitrogênio em recursos hídricos e geração de biohidrogênio, etc. É importante ressaltar que, para que a aplicação de uma população de algas seja realizada de forma eficiente em um bioprocessos, o planejamento da produção e o delineamento de estratégias de controle e otimização devem ser feitos à priori (KRUSE; HANKAMER, 2010; EKER; SARP, 2017; HANNEMANN et al., 2007; GURUBEL et al., 2019; CHEW et al., 2017).

Em se tratando especificamente da utilização de microalgas, é essencial que o biorreator em que os fotobioprocessos são carreados seja dimensionado no sentido de haver o melhor aproveitamento de luz possível. Além disto, é necessário monitorar os fluxos de entrada e saída no reator, as concentrações de sais, demandas química e bioquímica de oxigênio (DQO e DBO), taxas de remoção de metais pesados, pH e outras características físico-químicas, que influenciam direta ou indiretamente o crescimento algal (SULEIMAN et al., 2020; DAS; VEZIROĞLU, 2001; DORAN, 2013; KOSOUIROV et al., 2002). Portanto, para biorremediar um efluente e,

consequentemente, produzir biohidrogênio, é imprescindível que seja proposta uma ferramenta de planejamento e controle deste sistema complexo.

Para descrever fenômenos que envolvem seres vivos e processos mediados por eles é importante formular expressões que considerem a dinâmica biológica em escala temporal. Os modelos propostos, como nos trabalhos de Teles (2019), Silva e Bortoli (2018), Eze et al. (2018), Ardabili et al. (2018), Cardoso et al. (2014), Lee, Jalalizadeh e Zhang (2015) e Nasr et al. (2013), geralmente são baseados nos balanços material e energético dos biorreatores nos quais os microrganismos atuam sob os substratos para a geração de produtos. A modelagem baseada em balanços considera que o sistema em estudo é um ambiente livre de efeitos aleatórios, isto é, este tipo de modelagem não considera que possam haver efeitos, mesmo que muito pequenos, de variáveis ambientais na variação dos componentes do bioprocessamento.

Neste sentido, o presente trabalho visa modelar a biorremediação de águas residuárias e a remoção de fósforo por uma população de microalgas, utilizando ferramentas matemáticas, estatísticas e computacionais, considerando a existência de efeitos ambientais aleatórios na dinâmica dos bioprocessos (KIM et al., 2020; ZHAO; YUAN; WANG, 2020). Desta forma, esta pesquisa tem potencial para auxiliar na tomada de decisões acerca do planejamento e controle do bioprocessamento integrado biorremediação/produção de biohidrogênio por microalgas, uma vez que os resultados deste bioprocessamento têm grande impacto ambiental e econômico, promovendo a utilização de uma fonte de energia limpa e renovável, tratando resíduos a baixo custo, reduzindo toxicidade de efluentes e garantindo a diminuição nos níveis de emissão de gases estufa.

Este trabalho está organizado em sete capítulos. No Capítulo 2 são apresentados conceitos de biorremediação e produção de biohidrogênio por microalgas; no Capítulo 3 é proposto um modelo matemático para descrever o crescimento algal em um fotobiorreator para biorremediação de efluentes orgânicos e a dinâmica do sistema é analisada com o intuito de validar o modelo. No Capítulo 4 são apresentadas as metodologias empregadas para o tratamento e a análise dos dados experimentais a serem utilizados para a estimação dos parâmetros do modelo, cuja descrição e resultados são apresentados no Capítulo 5. No Capítulo 6 é proposto um modelo matemático para maximizar a taxa de remoção de fósforo no biorreator, restrito à dinâmica do bioprocessamento descrita pelo modelo validado no Capítulo 3. Por fim, no Capítulo 7 são apresentadas as conclusões.

2 Fundamentos de Biorremediação e Produção de Biohidrogênio

Este capítulo aborda os princípios dos bioprocessos de biorremediação e produção de biohidrogênio, que são duas aplicações biotecnológicas que podem ser mediadas pela ação de microalgas. Os conceitos biológicos apresentados aqui são de extrema importância para o conhecimento do problema tratado nesta tese e, conseqüentemente, exercem um papel fundamental na modelagem matemática e na interpretação dos resultados obtidos.

2.1 Princípios de Biorremediação

À medida que ocorre o avanço industrial em diversos setores, o número de diferentes poluentes em recursos hídricos também aumenta e, por conseguinte, as propriedades físico-químicas das águas em que há o despejo de efluentes industriais são alteradas, acarretando em diversos problemas ecológicos. A mudança das propriedades nutricionais de um recurso hídrico devido ao aumento de certos nutrientes, como fósforo (P), nitrogênio (N) e carbono (C) é definida por [Richmond \(2008\)](#) como eutrofização.

A eutrofização ocorre naturalmente, principalmente quando uma fonte de água rica em nutrientes deságua em outra com menor abundância de certos minerais ou compostos orgânicos. Os efeitos principais da eutrofização no meio ambiente são conseqüências do aumento da atividade fotossintética devido à disponibilidade alta de recursos nutricionais. Todavia, as atividades humanas são responsáveis pelo grande aumento nas taxas de eutrofização em recursos hídricos, o que pode ser denominado de eutrofização antropogênica, e seus impactos na natureza são diversos, como a acidificação de águas, o aumento de produção de toxinas por organismos foto e quimiossintetizantes, diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido e mortalidade de espécies aquáticas endêmicas ([VINÇON-LEITE; CASENAVE, 2019](#); [MOAL et al., 2019](#); [EZE et al., 2018](#); [YAO et al., 2018](#); [MOTA; SPERLING, 2009](#)).

Alguns efluentes, como esgotos domésticos, são ricos em compostos nitrogenados, fosforados e resíduos orgânicos, além de traços de metais pesados e de xenobióticos (substâncias estranhas àquele ambiente), como fármacos, que representam uma importante fonte de contaminação dos recursos hídricos, pois podem promover o aumento da resistência aos antibióticos

por determinados grupos de bactérias, podem ser biomagnificados em diferentes níveis tróficos, devido à cadeia alimentar, induzir a sexagem de peixes masculinos para femininos, entre outras consequências negativas para as saúdes humana e ambiental (SLOMPO et al., 2020; XIONG; KURADE; JEON, 2018; SHAABAN et al., 2018; DZIOONEK; WOJCIESZYDSKA; GUZIK, 2016).

Estes e outros problemas ecológicos originados pelo descarte incorreto de resíduos agroindustriais podem ser evitados quando efluentes ricos em matéria orgânica e recursos minerais são previamente tratados. Existe uma gama de metodologias que podem ser empregadas para realizar o tratamento de águas residuárias e permitir que o efluente seja descartado no meio ambiente com menores impactos ecológicos. Dentre as técnicas difundidas para o tratamento de efluentes, os bioprocessos têm se destacado por sua versatilidade em processar diferentes tipos de resíduos, pela variabilidade de espécies que podem ser utilizadas como catalisadores das reações químicas, por seu baixo custo operacional, pois são carreados, em sua maioria, em condições naturais de temperatura e pressão (CNTP) (SCHMIDELL et al., 2001; DORAN, 2013), além da possibilidade de gerar subprodutos de interesse comercial, como biocombustíveis, gomas, pigmentos, biomassa e água tratada (SULEIMAN et al., 2020; EKER; SARP, 2017; DZIOONEK; WOJCIESZYDSKA; GUZIK, 2016; LEE; JALALIZADEH; ZHANG, 2015; SIVAKUMAR et al., 2012).

Entre os organismos catalisadores de bioprocessos para o tratamento de resíduos, as micro e macroalgas se destacam pela sua diversidade e grande contribuição em converter resíduos orgânicos em compostos de alto valor agregado, como biodiesel (MATHIMANI; PUGAZHENDHI, 2019), lipídios (KWAK et al., 2016), gomas (FERNANDO et al., 2019), pigmentos (ARASHIRO et al., 2020), hidrogênio (KRUSE; HANKAMER, 2010), metano (ZHANG et al., 2020), compostos biofármacos (RAHMATI; ALIPANAHI; MOZAFARI, 2019) e outras substâncias. Algumas espécies também podem ser utilizadas como fonte de alimentação humana e animal (CHEW et al., 2017), contudo, as aplicações exploradas neste trabalho são a biorremediação de efluentes e a produção de biohidrogênio.

Segundo Shah e Shah (2020) e Zouboulis e Moussas (2011), biorremediação pode ser definida como um processo que emprega organismos vivos, em sua maioria microrganismos, visando a degradação de poluentes e sua conversão em substâncias com nenhuma toxicidade ou toxicidade reduzida quando comparada ao estado de poluição inicial. Xia et al. (2019) afirmam ainda que as técnicas de biorremediação são vantajosas por causarem pequenas perturbações no solo e na água, terem baixo custo de implementação e serem de simples operação.

Enquanto organismos biorremediadores, as microalgas são capazes de diminuir a carga orgânica de um efluente, atuar na recuperação de fósforo e nitrogênio por meio de sua assimilação (SULEIMAN et al., 2020), absorver íons de metais pesados em seus tecidos (biossorção), armazená-los (bioacumulação) (SHAH; SHAH, 2020), transformá-los em compostos de menor toxicidade (XIA et al., 2019), além de possuírem potencial para remover patógenos presentes

na fração líquida do efluente (SLOMPO et al., 2020; SILVA et al., 2019). Diversos grupos de algas também mostraram possuir potencial floculador, coagulador e sedimentador (GODOS et al., 2011), características desejáveis para o tratamento biológico de águas residuárias.

Suleiman et al. (2020), Slompo et al. (2020) e Xiong, Kurade e Jeon (2018) destacam a aplicabilidade de populações de microalgas na biorremediação de recursos hídricos, especialmente pela habilidade deste grupo de organismos em remover fósforo, nitrogênio e fármacos solubilizados em um efluente. De acordo com Villar-Navarro et al. (2018) e Larsen et al. (2019), os fármacos que são administrados pelos seres humanos possuem dosagens muito baixas e, quando dissolvidos em sistemas hídricos, tal dosagem se reduz para a escala de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1} , o que ainda é capaz de alterar a qualidade da água e de provocar efeitos nocivos aos ecossistemas aquáticos, caracterizando estas substâncias como potenciais geradores de risco ecotoxicológico.

Várias algas podem ser utilizadas como ferramenta para a remoção de fármacos. Wilt et al. (2016) afirmam que a microalga *Chlorella sorokiniana* consegue remover de 40% a 60% de diclofenaco, 100% de ibuprofeno, 100% de paracetamol, 100% de metoprolol, 30% de carbamazepina e 40% de trimetoprima de águas negras, urina e urina sintética. Outras algas, como a *Chlorella pyrenoidosa* e a *Chlorella reinhardtii*, conseguem remover até 77% de amoxicilina, 87% de progesterona e 100% de testosterona de águas residuárias, enquanto que, segundo Villar-Navarro et al. (2018), um consórcio de microalgas verdes de água doce consegue remover em média 63% de antibióticos e quantidades significativas de bloqueadores de histamina e diuréticos.

Conforme Silva et al. (2019), os principais mecanismos de remoção de fármacos de um sistema aquático são bioissorção, biodegradação, fotodegradação, bioacumulação e biotransformação. A bioissorção pode ser caracterizada como a interação física ou química entre uma superfície sólida, bioadsorvente (biomassa algal), e com alguma substância, adsorvato (fármacos). Esta interação promove a remoção de poluentes via formação de quelatos, transporte via membrana celular, microprecipitação, troca iônica e outros mecanismos (KYZAS et al., 2018).

Por sua vez, a biodegradação é um conjunto de reações que permite a oxidação de espécies químicas complexas por enzimas ou microrganismos, produzindo compostos de menor ou nenhuma toxicidade. Quanto a oxidação destas espécies químicas, por exemplo, os fármacos, é catalisada pela luz, seja natural ou artificial, este processo é denominado de fotodegradação (YANG; LI; LI, 2020; WEI; LI; LU, 2020).

Muitas substâncias que são descartadas em efluentes também podem ser encontradas em tecidos de algas. Chojnacka (2010) afirma que certos poluentes se ligam à membrana celular de um microrganismo biorremediador (bioissorção) e, por transporte ativo, as moléculas do adsorvato adentram o citoplasma, podendo ser armazenadas no meio intracelular, o que caracteriza a bioacumulação. Além disto, as microalgas, como diversos outros seres vivos, possuem a enzima citocromo P450, que é responsável por catalisar processos de biotransformação, como detoxificação, assimilação de fontes de carbono, biossíntese de hormônios e de componentes estruturais celulares e, ainda, atuar na degradação de xenobióticos (WILT et al., 2016; HANNEMANN et

al., 2007).

Outras espécies químicas que são metabolizadas pelas microalgas são o nitrogênio e fósforo, que podem ser removidos do efluente em culturas auto, hétero e mixotróficas (KIM et al., 2013). Nitrogênio e fósforo exercem papel fundamental na constituição de diversas biomoléculas, como as bases nitrogenadas, aminoácidos, ácidos desoxirribonucleico e ribonucleico, fosfolipídios, adenosina trifosfato, adenosina difosfato, e, por conseguinte, são essenciais para a manutenção da homeostase e para a promoção do crescimento celular (SCHMIDELL et al., 2001).

Variados níveis de oxidação de fósforo e nitrogênio, como fosfato (PO_4^{3-}), fósforo inorgânico (P_i), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônia (NH_3), amônio (NH_4^+) e nitrogênio total Kjeldahl (NTK), são amplamente utilizados em inúmeras reações do metabolismo basal algal (SULEIMAN et al., 2020; LEE; JALALIZADEH; ZHANG, 2015; YAO et al., 2018; SHAABAN et al., 2018). Como consequência desta característica, as microalgas representam uma alternativa barata e eficiente para remover nitrogênio e fósforo dos efluentes e utilizar tais nutrientes em diversas atividades metabólicas destinadas ao crescimento e à reprodução, caracterizando estas substâncias como substratos intrínsecos para o crescimento celular (ARASHIRO et al., 2020; ASLAN; KAPDAN, 2006).

Outra variável importante no cenário da biorremediação é a concentração de oxigênio dissolvido no reator. Um aumento na concentração de oxigênio pode provocar a inibição de algumas atividades enzimáticas das microalgas, como as atividades da [Fe]-[Fe]-hidrogenase (hidrogenase dependente de ferro), além de que, juntamente com o aumento do pH, pode promover a precipitação de fósforo (LIRAN et al., 2016; MOTA; SPERLING, 2009; RICHMOND, 2008).

Segundo Schmidell et al. (2001), as moléculas de oxigênio (O_2) saem da bolha de ar em direção às células dos microrganismos no meio de cultivo do reator, atravessando a película do gás estagnada, permeando a interface gás-líquido. O O_2 é difundido no líquido e suas moléculas se movimentam aleatoriamente (movimento Browniano) até atingir a película da membrana celular, na qual adentra no meio intracelular e pode ser utilizado em diversas vias metabólicas. A taxa de transferência de O_2 pode ser descrita pela Equação (2.1):

$$n_{\text{O}_2} = k_L a (K_{\text{O}} - O), \quad (2.1)$$

em que k_L é o coeficiente de transferência de massa de O_2 na película líquida estagnada entre a bolha de ar e o seio da solução, a é a área específica de transferência de massa, K_{O} é a concentração de saturação de O_2 dissolvido no meio e O é a concentração de oxigênio no seio da solução em um determinado momento de tempo t . A inclusão da taxa de transferência de oxigênio na contabilização da variação total deste gás no sistema é de extrema importância para prever o comportamento do crescimento algal e da atividade fotossintética.

Diversos outros fatores podem afetar a atividade biorremediadora das algas, como pH,

temperatura, presença de competidores, patógenos, inibição por fármacos e demais características físico-químicas do efluente a ser tratado. De um modo geral, as algas consomem gás carbônico (CO_2), nitrogênio (N), fósforo (P), fármacos e outros compostos e geram, como principais produtos, gás oxigênio (O_2), gás hidrogênio (H_2), água (H_2O), carboidratos e lipídios. Este processo pode ser ilustrado na Figura 1.

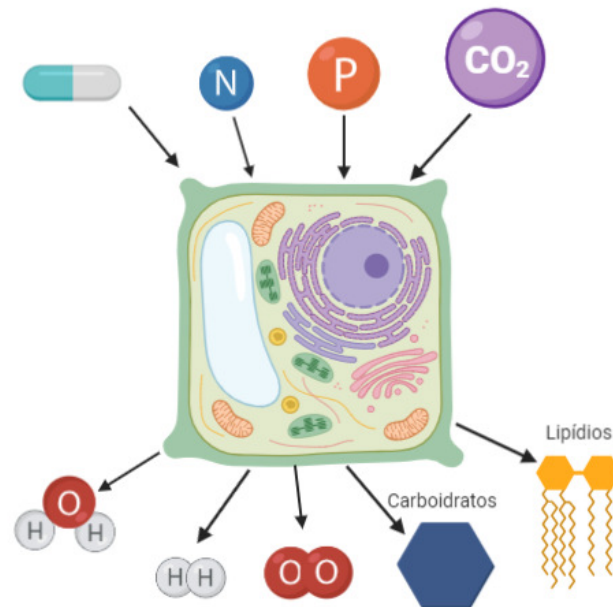


Figura 1 – Representação esquemática da atividade de uma célula alga: consumo de nutrientes, como N, P, CO_2 , remoção de fármacos e geração de carboidratos, lipídios, oxigênio (O_2) e hidrogênio (H_2). Figura criada em BioRender.com.

Visto que várias variáveis influenciam intensificando ou retardando os efeitos da biorremediação, é preciso então estabelecer estratégias de controle do bioprocessamento, de modo a evitar situações indesejáveis ou de baixo rendimento. Para isto, propõe-se neste trabalho um modelo matemático que possa assistir o planejamento e o processo de tomadas de decisão acerca dos bioprocessos envolvidos no tratamento de resíduos orgânicos, em específico, a biorremediação por microalgas, como descrito no Capítulo 3.

2.2 Produção de Biohidrogênio por Microalgas

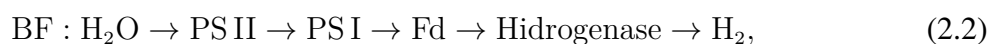
Segundo Chew et al. (2017), a biomassa alga pode ser convertida em uma variedade de recursos energéticos, como singás, bio-óleo, eletricidade e carvão, por meio da conversão termoquímica; biogás, bioetanol e biohidrogênio, que são produtos de processos bioquímicos ou fermentativos; biodiesel, obtido por transesterificação; e bioeletricidade, gerada por células de combustíveis fotossintéticas e, neste trabalho, enfoca-se o potencial das algas para produção de biohidrogênio.

O biohidrogênio é uma fonte de energia renovável, limpa e sustentável, que pode ser obtida em processos fermentativos, fotofermentativos e fotossintéticos. Este combustível, ao ser queimado, libera grandes quantidades de calor (142 kJ g^{-1}) e, quando comparado aos combustíveis baseados em carbono (por exemplo, gasolina, etanol e metano), é o que possui a maior densidade energética. Ainda falando sobre sua combustão, esta gera apenas vapor d'água, o que caracteriza este biocombustível como uma fonte limpa de energia (BALACHANDAR et al., 2019; KHAN et al., 2018; NICOLETTI et al., 2015; ROMÃO et al., 2014).

Seu potencial energético pode ser explorado em diversos setores da indústria e, atualmente, as aplicações mais notáveis são direcionadas para o automobilismo, substituindo os sistemas de combustão de compostos de carbono por células de hidrogênio (FARAHANI et al., 2019; POLLET; KOCHA; STAFFELL, 2019). Este combustível é de fácil transporte e armazenamento, devido as suas propriedades físico-químicas, alta compressibilidade e baixa densidade, já que as moléculas de biohidrogênio são constituídas apenas de átomos de hidrogênio (H), o qual é o elemento químico de menor número atômico conhecido e o mais abundante no universo (NICOLETTI et al., 2015; CARDOSO et al., 2014).

O biohidrogênio pode ser produzido em condições aeróbicas e anaeróbicas, porém, seus maiores rendimentos se dão após curtos períodos de anóxia ou baixa oxigenação, já que o gás oxigênio inibe as enzimas catalisadoras do processo hidrogenogênico (YACOBY et al., 2011; SONG et al., 2011; KOSOUROV et al., 2002). Segundo Das e Veziroğlu (2001), as microalgas, inclusive aquelas dotadas de clorofila-a (Chla), como a *Chlorella sorokiniana*, possuem fotossistemas similares aos das plantas e metabolizam a luz solar em duas etapas: no fotossistema II (PSII), as moléculas de água são fotolisadas, gerando O_2 e cátions (H^+), enquanto que no PSI, CO_2 é reduzido e H_2 formado, com auxílio da enzima hidrogenase.

A transformação de uma molécula de água em biohidrogênio por meio da ação de hidrogenases é descrito pela reação química a seguir (DAS; VEZIROĞLU, 2001):



denominada de biofotólise direta (BF), a qual ocorre em baixas concentrações de O_2 . Na Reação (2.2), os elétrons livres resultantes das atividades de PSI e PSII são carreados pela enzima ferredoxina (Fd) que, quando oxidada pela hidrogenase, forma o biohidrogênio (YACOBY et al., 2011).

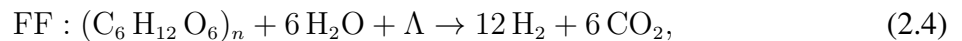
Chandra e Venkata Mohan (2011) relatam que um aumento na concentração de Chla provoca um crescimento na taxa de produção de biohidrogênio via biofotólise da água em algas do gênero *Chlorella*. De acordo com Song et al. (2011) e Kosourov et al. (2002), isso se deve ao fato de que, em condições anaeróbicas, o decréscimo do pH do meio atua diretamente nas moléculas de clorofila, substituindo os íons Mg^{2+} por H^+ , acarretando na degradação de Chla. Este pigmento é responsável pela fixação de CO_2 pela ação da luz e, quando degradado, permite

que mais cátions H^+ se combinem para formar H_2 :



Outra metodologia empregada para a produção de biohidrogênio catalisada por microalgas são os processos fermentativos. Sun et al. (2020) e Chandra e Venkata Mohan (2011) discorrem sobre o cultivo de microalgas em condições anóxicas, que favorecem o aumento dos níveis de acidez no reator devido a produção de vários ácidos orgânicos.

A fotofermentação representa uma alternativa interessante para a produção de biohidrogênio, principalmente pela possibilidade da utilização de uma cultura algal previamente adaptada a um efluente, como as algas empregadas na biorremediação de águas residuárias. Durante a biorremediação, a concentração de algas no biorreator aumenta devido ao consumo de nutrientes presentes no efluente e, ao final deste bioprocessos, a biomassa algal pode ser transferida para um reator anaeróbico, no qual realizará processos fermentativos (produção de ácidos orgânicos) para a obtenção de energia. De acordo com Chandra e Venkata Mohan (2011), a reação global que promovem a produção de hidrogênio no processo fotofermentativo (FF) é:



em que $(C_6 H_{12} O_6)_n$ e Λ representam, respectivamente, compostos glicosídicos, como o amido, e a energia luminosa.

Em ambos os processos, fotofermentação e biofotólise direta, a produção de biohidrogênio está relacionada com a atividade da clorofila-a, de modo que, quando a concentração deste pigmento aumenta, a geração de biohidrogênio também aumenta significativamente. Uma vez que a concentração de clorofila está relacionada ao crescimento algal, propõe-se neste trabalho, então, um modelo matemático para descrever a dinâmica do crescimento algal durante a biorremediação, apresentado no Capítulo 3.

3 Modelagem Matemática

Existem inúmeros bioprocessos que podem ser empregados para finalidades distintas, seja na área ambiental, no setor energético, na indústria alimentícia, etc. Para que a execução de um bioprocessos promova bons resultados, é importante realizar um planejamento da produção, conhecer as limitações físicas, químicas e biológicas do problema, assim como também suas potencialidades. Além disto, é imprescindível que o bioprocessos seja estável e, quando alguma anormalidade ocorrer, é preciso aplicar as estratégias de controle mais adequadas para que a dinâmica do sistema real volte a um estado de operação com nenhuma instabilidade. Por fim, deseja-se também que certas características de um bioprocessos sejam melhoradas, como a obtenção de maiores rendimentos e a realização de uma batelada com menor tempo operacional.

O planejamento da produção, a análise da estabilidade das reações, a proposição de estratégias de controle operacional e a determinação de condições que otimizem um bioprocessos são ferramentas que se relacionam com a modelagem do problema real. Neste sentido, este capítulo se destina à proposição de um modelo matemático que descreva a dinâmica de um bioprocessos, em específico, a biorremediação de efluentes domésticos, e à análise das propriedades do modelo proposto.

3.1 Biorremediação

A biorremediação de efluentes domésticos é um bioprocessos que pode ser carreado em diferentes tipos de biorreatores, desde que estes favoreçam o acontecimento de um conjunto de reações mediadas por um microrganismo ou enzima para a degradação de substratos em moléculas menores e com toxicidade reduzida (ADAMS et al., 2015). Para o desenvolvimento de um modelo matemático que represente a biorremediação, é preciso fazer considerações sobre o problema real, de modo a simplificá-lo sem que haja perda de informações essenciais.

Em se tratando de sistemas físicos, químicos e biológicos, é fundamental que os modelos propostos sejam dimensionalmente homogêneos. Por exemplo, o rendimento de uma reação química, mediada por uma enzima E, para transformar uma substância de concentração A em

outra de concentração B,



pode ser descrito pela variação da concentração de substrato em relação à concentração de produto formado,

$$Y_{A/B} = \frac{A - A(0)}{B - B(0)}, \quad (3.2)$$

em que $Y_{A/B}$ é o rendimento da conversão de A em B, $A(0)$ e $B(0)$ são as concentrações iniciais dos compostos A e B, respectivamente (SCHMIDELL et al., 2001). Na Equação (3.2), $Y_{A/B}$ é uma quantidade adimensional, pois as unidades do numerador e do denominador são as mesmas. Deste modo, é preciso realizar uma análise dimensional verificar se todas as expressões propostas sejam dimensionalmente homogêneas, ou seja, que os lados direito e esquerdo de uma equação possuam a mesma unidade de medida.

A análise dimensional é uma técnica bastante difundida na física e nas engenharias para garantir a integridade e homogeneidade das equações quanto às grandezas físicas, assegurando a consistência em relação às unidades de medida. Para esta análise, reescrevem-se as unidades de medida de cada termo como uma combinação das grandezas fundamentais, a saber, massa, tempo, mol, candela, comprimento, temperatura e corrente elétrica (BERGMAN et al., 2011). Todas as unidades de medida dos fenômenos estudados aqui podem ser descritas como uma combinação da massa, do tempo e do comprimento, denotados por M , T e L , respectivamente.

Para fins de notação, o símbolo $[w]$ representa o dimensionamento de uma grandeza w qualquer. Por exemplo, para o volume V de um recipiente, $[V] = M^0L^3T^0$, a concentração de A, $[A] = M^1L^{-3}T^0$, a velocidade de uma enzima $[v_E] = M^0L^0T^{-1}$ e o rendimento de consumo de A para geração de B, $[Y_{A/B}] = M^0L^0T^0$, adimensional.

Suponha que a biorremediação de um efluente se realiza em um biorreator de geometria e sistema operacional conhecidos, com volume V e $[V] = M^0L^3T^0$. Neste biorreator, a taxa de variação temporal de uma substância de massa c e concentração C pode ser definida pelo seguinte balanço de fluxo mássico (DORAN, 2013; SCHMIDELL et al., 2001):

$$\frac{dc}{dt} = Q_0C_0 - QC + r_gV - r_cV, \quad (3.3)$$

em que Q_0 e Q representam as vazões mássicas de entrada e saída de c . C e C_0 são as concentrações de c nas fronteiras de entrada e saída do reator, r_g e r_c são, respectivamente, as taxas de geração e consumo de uma substância com concentração C , sendo que $[dc] = M^1L^0T^0$, $[C] = [C_0] = M^1L^{-3}T^0$, $[dt] = M^0L^0T^1$, $[r_g] = [r_c] = M^1L^{-3}T^{-1}$ e $[Q] = [Q_0] = M^0L^3T^{-1}$.

A condução de um processo de biorremediação pode ser feita em modos contínuo, batelada ou batelada alimentada. O fluxo mássico em um processo carregado em modo contínuo

pode ser modelado pela Equação (3.3), enquanto que, em batelada alimentada $Q = 0$ e, em batelada, $Q = Q_0 = 0$ para todo o tempo de reação, pois não há entrada nem saída de elementos materiais do reator durante o bioprocessamento, neste último caso (DORAN, 2013).

Neste trabalho, interessa-se em modelar a biorremediação de efluentes domésticos em um biorreator cujo modo de condução é batelada. Portanto, o modelo para fluxo mássico pode ser simplificado para:

$$\dot{c} = V(r_g - r_c), \quad (3.4)$$

em que $\dot{c} = \frac{dc}{dt}$.

Considere que a densidade do mosto (fração líquida ou semissólida do biorreator, em que ocorrem as reações) é constante ou aproximadamente constante em todo o processo fermentativo, que dura um período de tempo t , tal que $t \in [0, \infty)$. A massa de um elemento c pode ser representada, sem perda de generalidade, pelo produto entre sua concentração e o volume que ocupa, isto é,

$$c(t) = C(t)V(t). \quad (3.5)$$

Substituindo esta relação na Equação (3.4) e fazendo a regra do produto das derivadas, obtém-se:

$$V(t)\dot{C} + C(t)\dot{V} = V(t)(r_g - r_c). \quad (3.6)$$

Uma das propriedades do modo de condução em batelada é a pressuposição de que o volume no interior do reator é constante durante todo o tempo operacional. Assim, $\dot{V} = 0$ e, dividindo ambos os termos da Equação (3.6) por $V = V(t)$, o balanço de fluxo mássico de um elemento material c é:

$$\dot{C} = r_g - r_c, \quad (3.7)$$

em que $[\dot{C}] = [r_g] = [r_c] = \text{M}^1\text{L}^{-3}\text{T}^{-1}$.

As taxas de geração e consumo de um componente material dependem necessariamente da atividade do catalisador e de variações ambientais. Neste trabalho considera-se que a biorremediação de efluentes domésticos é catalisada por uma população de microalgas, com concentração X , tal que $X = X(t)$ e $[X] = \text{M}^1\text{L}^{-3}\text{T}^0$.

A geração ou consumo de um componente, devido aos efeitos do catalisador, é diretamente proporcional à velocidade com que as algas crescem no reator, uma vez que estas taxas se relacionam com a capacidade das algas metabolizarem uma substância, seja gerando-a ou

consumindo-a. Seja μ a função velocidade de crescimento específico de uma população de algas com concentração X , $\mu = \mu(t)$, tal que $[\mu] = \text{M}^0\text{L}^0\text{T}^{-1}$, então:

$$r = \mu XY_{X/C}, \quad (3.8)$$

seja para consumo ($r = r_c$) ou geração ($r = r_g$) de um componente de concentração C por uma população de microalgas com concentração X . O rendimento $Y_{X/C}$ representa a concentração de matéria (C) que foi gerada ou consumida por cada unidade de concentração de X .

O balanço de oxigênio dissolvido no mosto é um fator de extrema relevância para o bom desenvolvimento da biorremediação. As microalgas, por serem organismos fotossintetizantes em condições de não anaerobiose, produzem gás oxigênio durante a reação, com um rendimento $Y_{X/O}$. Além disto, é preciso considerar os efeitos da transferência de oxigênio no reator, uma vez que este gás, com o aumento gradual da temperatura, tende a deixar o mosto em direção à porção gasosa do reator.

Em outras palavras, o oxigênio, O , é gerado pelas microalgas a uma taxa $\mu XY_{X/O}$ e sofre efeitos de transporte de massa a uma taxa n_{O_2} , de acordo com a Equação (2.1), movimentando-se da fração líquida para a gasosa no biorreator. É importante salientar que n_{O_2} não representa uma taxa de consumo de oxigênio, mas é preciso incluir tal taxa, já que esta promove variações na concentração de oxigênio por unidade de tempo. Por conseguinte, aplicando estas taxas na Equação (3.8) e (3.7), segundo Schmidell et al. (2001), o balanço de oxigênio dissolvido no mosto pode ser descrito por:

$$\dot{O} = \mu XY_{X/O} - \xi(K_O - O), \quad (3.9)$$

em que $\xi = k_L a$ representa a taxa de transferência de massa de oxigênio na película líquida estagnada entre a bolha de ar e o seio da solução e K_O indica a concentração de saturação de O_2 no reator. De acordo com o princípio da homogeneidade de dimensões, $[O] = [K_O] = \text{M}^1\text{L}^{-3}\text{T}^0$ e $[\xi] = \text{M}^0\text{L}^0\text{T}^{-1}$.

Além de produzirem oxigênio, as microalgas conseguem remover fósforo, nitrogênio e fármacos do efluente. Em relação ao balanço de fósforo, este composto não é gerado durante o bioprocessamento, sendo apenas consumido pelas microalgas, com um rendimento $Y_{X/P}$.

Para o balanço da concentração de fósforo, $P = P(t)$, é essencial incorporar no modelo uma taxa de variação devido aos efeitos ambientais, conseguindo representar, por exemplo, a taxa de precipitação de fósforo, ρ , devido às variações de oxigênio dissolvido e pH.

Outro interesse deste trabalho é mensurar a contribuição da presença de fármacos dissolvidos no efluente para o decaimento do fósforo. Para isto, considere α_P a taxa de variação da concentração de fósforo devido à ação de fármacos dissolvidos no efluente e G uma variável

indicativa e adimensional, tal que:

$$G = \begin{cases} 1, & \text{se há fármacos dissolvidos no efluente,} \\ 0, & \text{caso contrário.} \end{cases} \quad (3.10)$$

O balanço para concentração de fósforo no reator é, então:

$$\dot{P} = -\mu XY_{X/P} - \rho P + \alpha_P G, \quad (3.11)$$

em que $[\rho] = \text{M}^0\text{L}^0\text{T}^{-1}$, $[P] = \text{M}^1\text{L}^{-3}\text{T}^0$ e $[\alpha_P] = \text{M}^1\text{L}^{-3}\text{T}^{-1}$.

Quanto à concentração de nitrogênio total, este elemento também é apenas consumido pelas microalgas no bioprocesso. No efluente doméstico bruto (não previamente tratado), existe uma diversidade de microrganismos fixadores de nitrogênio, que são responsáveis por transformar NO_3^- em NO_2^- e, posteriormente, em nitrogênio amoniacal (NH_4^+ , por exemplo). De acordo com Mota e Sperling (2009), a concentração de NTK pode ser aproximada pela concentração total de NH_4^+ e nitrogênio orgânico, e a concentração de nitrogênio total, $N = N(t)$, pode ser aproximada pela soma das concentrações de NO_3^- e NTK. A fim de contabilizar a contribuição das microalgas para a remoção de nitrogênio total do efluente, propõe-se a Equação (3.12),

$$\dot{N} = -\mu XY_{X/N}, \quad (3.12)$$

em que a taxa de variação da concentração de nitrogênio total é proporcional a sua taxa de consumo pelas microalgas com concentração X , a uma velocidade μ e com rendimento $Y_{X/N}$. Ou seja, na abordagem proposta neste trabalho, não são considerados efeitos de microrganismos distintos das microalgas sob a taxa de variação total do nitrogênio.

Visto que os balanços de substratos (fósforo e nitrogênio) e produtos (oxigênio) foram realizados, é necessário também propor um balanço para as microalgas. Diferentemente dos outros componentes materiais, as microalgas não são consumidas a fim de gerar produtos durante o bioprocesso. Por este motivo, considera-se apenas que estes microrganismos são gerados a partir de uma concentração algal X , com uma velocidade específica de crescimento (reprodução) μ .

No microecossistema do biorreator, as microalgas possuem limitações de crescimento: concentração limite de microalgas (capacidade suporte da população), concentração de nutrientes, disponibilidade de luz, etc. Assim, um balanço para a concentração de microalgas pode ser descrito pela Equação (3.13),

$$\dot{X} = \mu X \left(1 - \frac{X}{K_x} \right), \quad (3.13)$$

em que K_x é a capacidade suporte em relação à concentração de microalgas, tal que $[K_x] = [X]$, e μ é uma função do tempo t e das concentrações de substratos limitantes, como o fósforo e

o nitrogênio, e de produtos que podem inibir o crescimento, como o oxigênio. Uma potencial representação para a velocidade específica de crescimento μ , de acordo com Schmidell et al. (2001), é o modelo de Monod extendido (para mais de um substrato) e com inibição por produtos, o qual foi adaptado aqui da seguinte forma:

$$\mu = \mu_{max} \frac{N}{N - K_N} \frac{P}{P - K_P} \frac{K_{iO}}{K_{iO} + O}, \quad (3.14)$$

em que μ_{max} é a velocidade específica máxima de crescimento da população algal, K_N e K_P são as constantes de saturação em relação ao consumo de nitrogênio e fósforo, respectivamente, e K_{iO} é uma constante de inibição do crescimento algal devido aos efeitos da concentração de oxigênio, sendo $[O] = [N] = [P] = [K_N] = [K_P] = [K_{iO}]$ e $[\mu_{max}] = [\mu]$.

A interpretação da Equação (3.13) é que a taxa de variação do crescimento microalgal pode ser explicada apenas por efeitos das concentrações de substratos, produtos e das próprias microalgas, como visto em diversos trabalhos publicados na literatura (EZE et al., 2018; PENG et al., 2018; LEE; JALALIZADEH; ZHANG, 2015; KIM et al., 2013). Todavia, o crescimento de uma população de microalgas pode ser influenciado por diversos outros fatores que não estão contabilizados na Equação (3.13), como efeitos dos fármacos dissolvidos, a interação das microalgas com íons de metais pesados e com outros microrganismos, as taxas de mortalidade natural, entre outros.

Há necessidade então de representar estes efeitos não contabilizados, mesmo que sua contribuição seja insignificante para explicar a dinâmica do crescimento algal no reator. Por conseguinte, o balanço apresentado na Equação (3.13) agora é reescrito como:

$$\dot{X} = (\mu + \delta)X \left(1 - \frac{X}{K_x}\right), \quad (3.15)$$

em que δ é uma variável aleatória definida, de dimensão $[\delta] = \mathbb{M}^0\mathbb{L}^0\mathbb{T}^{-1}$, a qual representa os efeitos ambientais não contabilizados nos modelos baseados na cinética de Monod. Caso $\delta \sim N(0, t)$, δ é denominado *ruído branco Gaussiano* e a Equação (3.15) pode ser reescrita como

$$dX_t = \mu_t X_t \left(1 - \frac{X_t}{K_x}\right) dt + X_t \left(1 - \frac{X_t}{K_x}\right) dW_t, \quad (3.16)$$

sendo $dW_t = \delta_t dt$ uma taxa de variação devida a efeitos aleatórios Gaussianos no tempo t , isto é, devido a um movimento Browniano. A partir de agora, adota-se a notação A_t para indicar uma variável (ou função) $A(t)$ (linguagem determinística), ou ainda, a realização de uma variável A no instante t (linguagem estocástica).

O diferencial desta tese, em relação aos trabalhos publicados na área de modelagem matemática de problemas de biorremediação é a inclusão de um processo estocástico nos modelos de balanço de massa de um reator para tentar explicar fatores de naturezas ambiental (condições

ambientais que não foram medidas em um experimento) e bioquímica (interação algas-fármacos) que não são contabilizados por modelos determinísticos. Neste sentido, este trabalho propõe um novo modelo matemático para descrever a dinâmica das reações envolvidas na biorremediação de um efluente doméstico contaminado com fármacos, o qual é formulado pelo Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias Estocásticas (SEDOE) (3.17).

$$\begin{aligned}
\dot{X}_t &= (\mu_t + \delta_t)X_t \left(1 - \frac{X_t}{K_x}\right) \\
\dot{O}_t &= \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\
\dot{P}_t &= -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\
\dot{N}_t &= -\mu_t X_t Y_{X/N} \\
\mu_t &= \mu_{max} \frac{N_t}{N_t - K_N} \frac{P_t}{P_t - K_P} \frac{K_{iO}}{K_{iO} + O_t}
\end{aligned} \tag{3.17}$$

Para que um modelo matemático seja capaz de representar as biorreações da biorremediação de um efluente doméstico contaminado com fármacos, é preciso que suas soluções sejam não-negativas e limitadas em um tempo finito e a dinâmica do bioprocessamento deve se estabilizar em algum tempo, visto que este descreve taxas de variação de quantidades de substratos, produtos e microrganismos em cada tempo. Neste contexto, estas propriedades são analisadas a seguir, visando a validação do Modelo (3.17).

Para simplificar as futuras análises, serão realizadas algumas modificações nas notações das variáveis e parâmetros do modelo. Para isto, considere:

$$\begin{aligned}
\tilde{X} &= \frac{X_t}{K_x}, \dot{\tilde{X}} = \frac{d\tilde{X}}{dt} = \frac{1}{K_x} \frac{dX_t}{dt}, \tilde{O} = \frac{O_t}{K_x}, \dot{\tilde{O}} = \frac{d\tilde{O}}{dt} = \frac{1}{K_x} \frac{dO_t}{dt}, \\
\tilde{P} &= \frac{P_t}{K_x}, \dot{\tilde{P}} = \frac{d\tilde{P}}{dt} = \frac{1}{K_x} \frac{dP_t}{dt}, \tilde{N} = \frac{N_t}{K_x}, \dot{\tilde{N}} = \frac{d\tilde{N}}{dt} = \frac{1}{K_x} \frac{dN_t}{dt}, \\
\tilde{K}_O &= \frac{K_O}{K_x}, \tilde{K}_N = \frac{K_N}{K_x}, \tilde{K}_P = \frac{K_P}{K_x}, \tilde{K}_{iO} = \frac{K_{iO}}{K_x}, \tilde{\alpha}_P = \frac{\alpha_P}{K_x}.
\end{aligned}$$

Dividindo as equações diferenciais do Modelo (3.17) pela constante positiva K_x (capacidade suporte da população algal) e aplicando a mudança de variáveis e reparametrizações propostas, obtém-se o seguinte modelo de equações diferenciais estocásticas adimensionalizadas

em relação aos componentes materiais O_t , P_t , N_t e X_t :

$$\begin{aligned}
\dot{\tilde{X}} &= (\tilde{\mu}_t + \delta) \tilde{X} (1 - \tilde{X}), \quad \delta_t \sim N(0, t) \\
\dot{\tilde{O}} &= \tilde{\mu}_t \tilde{X} Y_{X/O} - \xi(\tilde{K}_O - \tilde{O}) \\
\dot{\tilde{P}} &= -\tilde{\mu}_t \tilde{X} Y_{X/P} - \rho \tilde{P} + \tilde{\alpha}_P G \\
\dot{\tilde{N}} &= -\tilde{\mu}_t \tilde{X} Y_{X/N} \\
\tilde{\mu} &= \mu_{max} \frac{\tilde{N}}{\tilde{N} - \tilde{K}_N} \frac{\tilde{P}}{\tilde{P} - \tilde{K}_P} \frac{\tilde{K}_{iO}}{\tilde{K}_{iO} + \tilde{O}}
\end{aligned} \tag{3.18}$$

Os Modelos (3.18) e (3.17) possuem mesmas propriedades algébricas, apenas são definidos em escalas diferentes. Deste modo, sem perda de generalidade e para fins de simplicidade de notação, um termo \tilde{A} qualquer é reescrito como A e o Modelo (3.18) se reescreve como o seguinte modelo adimensionalizado:

$$\begin{aligned}
\dot{X}_t &= (\mu_t + \delta_t) X_t (1 - X_t) \\
\dot{O}_t &= \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\
\dot{P}_t &= -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\
\dot{N}_t &= -\mu_t X_t Y_{X/N} \\
\mu_t &= \mu_{max} \frac{N_t}{N_t - K_N} \frac{P_t}{P_t - K_P} \frac{K_{iO}}{K_{iO} + O_t}
\end{aligned} \tag{3.19}$$

Todas as análises desenvolvidas a seguir se referem ao Modelo (3.19), mas seus resultados se estendem ao Modelo (3.17).

3.2 Propriedades qualitativas do modelo proposto

3.2.1 Não-negatividade das soluções do modelo adimensionalizado

Os processos estocásticos definidos pelas soluções do Modelo (3.19) são processos de valores reais não-negativos indexados em tempo contínuo, finito e não-negativo. Em outras palavras, o vetor de soluções Y_t do Modelo (3.19), $Y_t = [X_t, O_t, P_t, N_t]$, é uma coleção de funções de variáveis aleatórias de valores reais não-negativos geradas em um intervalo de tempo contínuo da forma $Y_t : \mathcal{T} \times \mathbb{R}_+^4 \rightarrow \mathbb{R}_+$, para $\mathcal{T} = \{t \mid 0 \leq t \leq T, T < \infty\}$.

Esta característica das soluções do Modelo (3.19) corrobora com as realidades físico-química e biológica do problema modelado e, para suportar tal afirmação, considere a Definição 3.1 (GRIGORIU, 2012) e o Teorema 3.1 (OKSENDAL, 2013), e propõe-se aqui o Teorema 3.2.

Definição 3.1 (Movimento Browniano ou Processo de Wiener). *Seja $(\mathbb{R}, \mathcal{F}, \mathcal{P})$ um espaço de probabilidades¹, isto é, um espaço vetorial definido para todas as variáveis aleatórias reais, formado por uma σ -álgebra \mathcal{F} , com medida de probabilidade \mathcal{P} e dotado de produto interno. Um processo estocástico W_t , para $0 \leq t \leq T < \infty$, definido no espaço de probabilidades $(\mathbb{R}, \mathcal{F}, \mathcal{P})$, é um processo de Wiener ou movimento Browniano se satisfizer as seguintes propriedades:*

i. $\mathcal{P}[W_0 = 0 | \mathcal{F}] = 1$;

ii. Para qualquer $0 \leq s < t$, $W_t - W_s \sim N(0, t - s)$;

iii. O processo possui incrementos independentes e identicamente distribuídos, isto é, para qualquer $n \geq 1$, $n \in \mathbb{N}$, e $0 \leq t_1 < t_2 < \dots < t_n$, as variáveis aleatórias $W_{t_1}, W_{t_2} - W_{t_1}, \dots, W_{t_n} - W_{t_{n-1}}$ são independentes entre si e seguem uma distribuição $N(0, t_n - t_{n-1})$;

iv. W_t é quase certamente uma função contínua, isto é, $\mathcal{P}[\lim_{t \rightarrow t_0} W_t = W_{t_0}] = 1$.

Teorema 3.1 (Fórmula de Itô). *Sejam Z_t um processo de Itô, processo o qual satisfaz a equação*

$$dZ_t = u(t, Z_t)dt + v(t, Z_t)dW_t \quad (3.20)$$

e $f(t, a) \in C^2([0, \infty) \times \mathbb{R})$. Então $F_t = f(t, Z_t)$ é também um processo de Itô e satisfaz a seguinte relação, conhecida como fórmula de Itô:

$$dF_t = \left(\frac{\partial f}{\partial t} + \frac{\partial f}{\partial Z_t} u + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 f}{\partial Z_t^2} v^2 \right) dt + \left(\frac{\partial f}{\partial Z_t} v \right) dW_t, \quad (3.21)$$

em que $f = f(t, Z_t)$, $u = u(t, Z_t)$, $v = v(t, Z_t)$. Para computar a expressão de dF_t é preciso considerar as seguintes identidades:

$$(dt)^2 = (dt)(dt) = 0 \quad (3.22)$$

$$(dt)(dW_t) = 0 \quad (3.23)$$

$$(dW_t)^2 = (dW_t)(dW_t) = dt. \quad (3.24)$$

Teorema 3.2 (Não-negatividade das soluções do Modelo (3.19)). *Sejam $X_s \geq 0$, $O_s \geq 0$, $P_s \geq 0$ e $N_s \geq 0$ condições iniciais para o Modelo (3.19) em um tempo s , tal que $0 \leq s \leq t \leq T < \infty$. Então, para qualquer tempo $t \geq s$, as soluções do Modelo (3.19) permanecem não-negativas, isto é, $X_t \geq 0$, $O_t \geq 0$, $P_t \geq 0$ e $N_t \geq 0$.*

Demonstração. A prova do Teorema 3.2 está organizada em duas partes, a saber, Parte 1, na qual se mostra que X_t admite somente valores não-negativos, e Parte 2, na qual se prova os resultados do respectivo teorema para N_t , P_t e O_t .

¹ Para mais detalhes sobre as propriedades de um espaço de probabilidades, vide Braumann (2019), Sampaio e Lima (2012), Allen (2007).

Parte 1. Como a concentração algal é uma variável presente em todas as equações diferenciais do Modelo (3.19), mostrar-se-á primeiramente que os valores de X_t são não-negativos para qualquer $t \in [0, T]$. Considere, então, que $\delta_t \sim N(0, t)$ e $\delta_t dt = dW_t \sim N(0, dt)$, tal que W_t é um movimento Browniano padrão.

O valor esperado da primeira equação do Modelo (3.19), a qual pode ser reescrita como

$$dX_t = \mu_t X_t (1 - X_t) dt + X_t (1 - X_t) dW_t, \quad (3.25)$$

é determinado aplicando-se o operador esperança E :

$$\begin{aligned} E[dX_t | \mathcal{F}] &= E[\mu_t X_t (1 - X_t) dt + X_t (1 - X_t) dW_t | \mathcal{F}] \\ &= E[\mu_t X_t (1 - X_t) dt | \mathcal{F}] + E[X_t (1 - X_t) dW_t | \mathcal{F}] \\ &= \mu_t X_t (1 - X_t) dt + X_t (1 - X_t) E[dW_t | \mathcal{F}] \\ &= \mu_t X_t (1 - X_t) dt, \end{aligned} \quad (3.26)$$

pois $E[dW_t | \mathcal{F}] = 0$, já que $dW_t \sim N(0, dt)$.

A variância de dX_t , por sua vez, pode ser calculada aplicando-se o operador Var à Equação (3.25):

$$\begin{aligned} Var[dX_t | \mathcal{F}] &= E[(dX_t)^2 | \mathcal{F}] - (E[dX_t | \mathcal{F}])^2 \\ &= E[(\mu_t X_t (1 - X_t) dt + X_t (1 - X_t) dW_t)^2 | \mathcal{F}] - (\mu_t X_t (1 - X_t) dt)^2 \\ &= E[\mu_t^2 X_t^2 (1 - X_t)^2 (dt)^2 + X_t^2 (1 - X_t)^2 (dW_t)^2 + 2\mu_t X_t^2 (1 - X_t)^2 dt dW_t | \mathcal{F}] \\ &\quad - \mu_t^2 X_t^2 (1 - X_t)^2 (dt)^2. \end{aligned}$$

E, de acordo com o Teorema 3.1, fazendo $(dt)^2 = 0$, $dt dW_t = 0$ e $(dW_t)^2 = dt$, obtém-se a variância de dX_t :

$$Var[dX_t | \mathcal{F}] = X_t^2 (1 - X_t)^2 dt. \quad (3.27)$$

A partir do resultado das Equações (3.26) e (3.27), conclui-se que $dX_t \sim N(\mu_t X_t (1 - X_t) dt, X_t^2 (1 - X_t)^2 dt)$, uma vez que $dW \sim N(0, dt)$ e a combinação linear de variáveis aleatórias Gaussianas também segue uma distribuição Normal. Para mais informações sobre este tópico, vide Mood (1950).

Resolvendo a equação diferencial ordinária da taxa de variação esperada, $E[dX_t | \mathcal{F}]$, por separação de variáveis:

$$\begin{aligned}
 \frac{1}{X_t(1-X_t)}dX_t &= \mu_t dt \\
 \int_{X_s}^{X_t} d\left[\ln\left(\frac{X_r}{X_r-1}\right)\right] &= \int_s^t \mu_r dr \\
 \ln\left(\frac{X_t}{X_t-1}\right) - \ln\left(\frac{X_s}{X_s-1}\right) &= \int_s^t \mu_r dr,
 \end{aligned} \tag{3.28}$$

e, fazendo algumas manipulações algébricas, obtém-se o valor esperado de X_t :

$$E[X_t|\mathcal{F}] = X_t = \frac{X_s \exp\left(\int_s^t \mu_r dr\right)}{X_s \exp\left(\int_s^t \mu_r dr\right) - X_s + 1}. \tag{3.29}$$

Para determinar a expressão de X_t descrita pela Equação (3.29), o diferencial $\frac{dX_t}{X_t(1-X_t)}$ foi reescrito como $d\left[\ln\left(\frac{X_r}{X_r-1}\right)\right]$. Isto indica que, um possível processo de Itô J_t adaptado de X_t é $J_t = \ln\left(\frac{X_t}{X_t-1}\right) = \ln(X_t) - \ln(X_t-1)$.

Aplicando a fórmula de Itô, descrita pela Equação (3.21), em que $u(t, X_t) = \mu_t X_t(1-X_t)$, $v(t, X_t) = X_t(1-X_t)$ e $F = F(t, X_t)$, obtém-se:

$$\begin{aligned}
 dF_t &= \left(\left(\frac{1}{X_t} - \frac{1}{X_t-1} \right) \mu_t X_t(1-X_t) + \frac{1}{2} \left(-\frac{1}{X_t^2} - \frac{1}{(X_t-1)^2} \right) X_t^2(1-X_t)^2 \right) dt \\
 &\quad + \left(\frac{1}{X_t} - \frac{1}{X_t-1} \right) X_t(1-X_t) dW_t,
 \end{aligned}$$

isto é,

$$dF_t = \left(\frac{E[dX_t|\mathcal{F}]}{X_t(1-X_t)} + \frac{1}{2} \frac{(2X_t-1)}{X_t^2(1-X_t)^2} \text{Var}[dX_t|\mathcal{F}] \right) dt + \frac{1}{X_t(1-X_t)} \sqrt{\text{Var}[dX_t|\mathcal{F}]} dW_t. \tag{3.30}$$

Empregando os valores da esperança, da variância e do desvio padrão de dX_t na Equação (3.30), e substituindo F_t por $\ln(X_t) - \ln(X_t-1)$, segue que:

$$\begin{aligned}
 d[\ln(X_t) - \ln(X_t-1)] &= \left(\mu_t + \frac{1}{2}(2X_t-1) \right) dt + dW_t \\
 d[\ln(X_t) - \ln(X_t-1)] &= \mu_t dt - \frac{1}{2}d[X_t(1-X_t)] + dW_t \\
 d\left[\ln\left(\frac{X_t}{X_t-1}\right) + \frac{1}{2}X_t(1-X_t)\right] &= \mu_t dt + dW_t \\
 \int_{X_s}^{X_t} d\left[\ln\left(\frac{X_r}{X_r-1}\right) + \frac{1}{2}X_r(1-X_r)\right] &= \int_s^t \mu_r dr + \int_{W_s}^{W_t} dW_r \\
 \ln\left(\frac{X_t(X_t-1)}{(X_t-1)X_s}\right) + \frac{1}{2}(X_t(1-X_t) - X_s(1-X_s)) &= \int_s^t \mu_r dr + W_t - W_s.
 \end{aligned}$$

Fazendo algumas manipulações algébricas, determina-se a forma explícita da solução analítica da quarta equação do Modelo (3.19):

$$X_t = \frac{X_s}{1 + (1 - X_s)\varrho}, \quad (3.31)$$

em que

$$\varrho = \exp\left(W_t - W_s + \int_s^t \mu_r dr - \frac{X_t(1 - X_t) - X_s(1 - X_s)}{2}\right). \quad (3.32)$$

Suponha que $X_s \geq 0$. Para que $X_t \geq 0$, então $1 + (1 - X_s)\varrho$ deve ser maior que zero. Deste modo,

i. Se $X_s = 0$:

$$1 + (1 - X_s)\varrho = 1 + \varrho > 0,$$

pois $\varrho > 0$, $\forall s, t$, tal que $0 \leq s < t \leq T < \infty$. Por conseguinte, aplicando $X_s = 0$ à solução de X_t , obtém-se $X_t = 0$.

ii. Se $0 < X_s \leq 1$:

$$\begin{aligned} 0 > -X_s \geq -1 &\implies 1 + 0 > 1 - X_s \geq 1 - 1 \implies (1 + 0)\varrho > (1 - X_s)\varrho \geq (1 - 1)\varrho \\ &1 + (1 + 0)\varrho > 1 + (1 - X_s)\varrho \geq 1 + (1 - 1)\varrho. \end{aligned}$$

Ou seja, $1 \leq 1 + (1 - X_s)\varrho < 1 + \varrho \implies X_t \geq 0$, já que o denominador da Equação (3.31) é uma quantidade positiva para $X_s \in (0, 1]$.

iii. $X_s > 1$:

De forma análoga ao item anterior,

$$\begin{aligned} -X_s < -1 &\implies 1 - X_s < 0 \implies (1 - X_s)\varrho < 0 \implies (1 - X_s)\varrho + 1 < 1 \\ &\implies \frac{1}{(1 - X_s)\varrho + 1} > 1 \implies \frac{X_s}{(1 - X_s)\varrho + 1} > X_s \implies X_t > X_s. \end{aligned}$$

De acordo com os itens i., ii. e iii. desta demonstração, para a concentração de algas conclui-se que:

$$X_s \geq 0 \implies X_t \geq 0, \quad 0 \leq s < t \leq T < \infty. \quad (3.33)$$

Parte 2. Será mostrado aqui que as demais soluções também admitem apenas valores não-negativos. Em relação à concentração de nitrogênio, cuja taxa de variação é descrita pela quarta equação do Modelo (3.19), para mostrar que $N_t \geq 0$, considere $\zeta_1(t, X_t, P_t, N_t, O_t) = \frac{\mu_t X_t Y_{X/N}}{N_t}$.

Reescrevendo a quarta equação do Modelo (3.19) com a função $\zeta_1(t, X_t, P_t, N_t, O_t)$, obtém-se:

$$\frac{dN_t}{dt} = -\zeta_1 N_t. \quad (3.34)$$

Ao rearranjar os termos e integrar no retângulo $R_N = \{(r, N_r) | s \leq r \leq t, N_s \leq N_r \leq N_t\}$, determina-se a expressão de N_t :

$$\int_{N_s}^{N_t} \frac{1}{N_r} dN_r = - \int_s^t \zeta_1 dr \implies N_t = N_s \exp\left(- \int_s^t \zeta_1 dr\right).$$

Posto que a imagem da função exponencial é sempre positiva, para que a concentração de nitrogênio em um tempo $t \geq s$ seja não-negativa, é necessário que a concentração no tempo s , N_s , seja não-negativa. Em outras palavras,

$$N_s \geq 0 \implies N_t \geq 0, 0 \leq s < t \leq T < \infty. \quad (3.35)$$

Consoante à taxa de variação da concentração de fósforo, descrita pela terceira equação do Modelo (3.19), considere que em um tempo $s \in [0, T]$, $P_s = 0$, e para um tempo $s_0 \in (s, s + \Delta s)$, tal que $\Delta s \rightarrow 0$, $P_{s_0} < 0$. Além disto, seja $\alpha_P > 0$ e $G = 0$, na ausência de fármacos, e $G = 1$, na presença de compostos farmacêuticos dissolvidos no meio de cultura. Avaliando $\frac{dP_t}{dt}$ em s :

$$\left. \frac{dP_t}{dt} \right|_{t=s} = \left[-\mu_{max} \frac{N_t}{K_N + N_t} \frac{P_t}{K_P + P_t} \frac{K_{iO}}{K_{iO} + O_t} X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \right]_{P_s} = \alpha_P G, \quad (3.36)$$

obtém-se que $\left. \frac{dP_t}{dt} \right|_{t=s} \geq 0$, o que contradiz a hipótese da existência de uma solução negativa para P_t a partir de P_s . Portanto,

$$P_s \geq 0 \implies P_t \geq 0, 0 \leq s < t \leq T < \infty. \quad (3.37)$$

Por fim, em relação à concentração de oxigênio dissolvido, cuja taxa de variação é descrita pela segunda equação do Modelo (3.19), fazendo $\zeta_2(t, X_t, P_t, N_t, O_t) = \frac{\mu_t X_t Y_{X/O} - \xi K_O}{O_t}$, pode-se reescrever a respectiva equação como

$$\frac{dO_t}{dt} = O_t(\zeta_2 + \xi), \quad (3.38)$$

que é uma equação diferencial de variáveis separáveis. Integrando a expressão anterior no retângulo $R_O = \{(r, O_r) | s \leq r \leq t, O_s \leq O_r \leq O_t\}$ e fazendo algumas manipulações algébricas, obtém-se:

$$\int_{O_s}^{O_t} \frac{1}{O_r} dO_r = \int_s^t (\zeta_2 + \xi) dr \implies O_t = O_s \exp \left(\xi(t-s) + \int_s^t \zeta_2 dr \right). \quad (3.39)$$

Como a função exponencial tem imagem positiva, então, para que $O_t \geq 0$, O_s deve ser não-negativo:

$$O_s \geq 0 \implies O_t \geq 0, 0 \leq s < t \leq T < \infty. \quad (3.40)$$

Portanto, dado um vetor de condições iniciais não-negativas no tempo s , as soluções do Modelo (3.19) permanecem não-negativas para qualquer tempo $t \geq s$. Em outras palavras,

$$(X_s, N_s, P_s, O_s) \in \mathbb{R}_+^4 \implies (X_t, N_t, P_t, O_t) \in \mathbb{R}_+^4, 0 \leq s \leq t \leq T < \infty. \quad (3.41)$$

□

3.2.2 Propriedades estatísticas do modelo proposto

Além da caracterização das soluções do Modelo (3.19) como soluções não-negativas durante o carreamento de um bioprocessamento, é importante determinar as expressões dos momentos centrais do modelo proposto, visto que, a determinação de tais momentos (esperança, variância e medida de assimetria) podem auxiliar na quantificação e interpretação de outras propriedades algébricas do Modelo (3.19).

Para a determinação dos momentos centrais, considere o Modelo (3.19) reescrito na forma vetorial

$$\dot{Y}_t = \begin{bmatrix} \dot{X}_t \\ \dot{O}_t \\ \dot{P}_t \\ \dot{N}_t \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} (\mu_t + \delta_t)X_t(1 - X_t) \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} \end{bmatrix} \quad (3.42)$$

e $\delta_t \sim N(0, t)$.

3.2.2.1 Esperança

A esperança do Modelo (3.19) fornece informações sobre os valores esperados das taxas de variação das concentrações de algas, oxigênio, fósforo e nitrogênio, respectivamente. As

soluções do modelo esperado equivalem às soluções do modelo determinístico equivalente, isto é, sob a ausência de estocasticidade, pois o valor esperado de δ_t é zero, $E[\delta_t | \mathcal{F}] = 0$.

Aplicando o operador esperança condicional no Modelo (3.42),

$$E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] = E \left[\left[\begin{array}{c} (\mu_t + \delta_t)X_t(1 - X_t) \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} \end{array} \right] \middle| \mathcal{F} \right], \quad (3.43)$$

obtem-se

$$E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] = \left[\begin{array}{c} \mu_t X_t(1 - X_t) \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} \end{array} \right], \quad (3.44)$$

já que todas as variáveis e parâmetros do Modelo (3.42) são constantes em relação à σ -álgebra \mathcal{F} , isto é, a única variável aleatória neste modelo é δ_t , cuja esperança é nula.

Ao resolver o Modelo (3.44), determinam-se as soluções determinísticas do Modelo (3.19) ou, ainda, as soluções quando considera-se que o sistema em estudo é um sistema totalmente controlado ou livre de interferências ambientais.

Suponha que o sistema representado pelo Modelo (3.19) pode sofrer a ação de uma perturbação ambiental φ_t , cuja taxa de variação temporal em torno de um ponto $L^* = (X^*, O^*, P^*, N^*)$ é dada por um movimento Browniano vetorial adaptado:

$$\dot{\varphi}_t = \begin{bmatrix} \dot{\varphi}_X \\ \dot{\varphi}_O \\ \dot{\varphi}_P \\ \dot{\varphi}_N \end{bmatrix} = \delta_t H = \delta_t \begin{bmatrix} H_X \\ H_O \\ H_P \\ H_N \end{bmatrix}, \quad (3.45)$$

sendo $H_L = \frac{c_L L_t}{d_L + L^*}$, c_L e d_L constantes reais, $L = X, O, P, N$, e que o sistema perturbado \bar{Y}_t é descrito pela seguinte igualdade:

$$\bar{Y}_t = \dot{Y}_t + \dot{\varphi}_t. \quad (3.46)$$

A inclusão de uma perturbação no Modelo (3.42) pode modificar o comportamento do sistema significativamente, dependendo da magnitude de tal perturbação. Todavia, o valor esperado do sistema perturbado é o mesmo do sistema original, pois:

$$\begin{aligned}
E[\bar{Y}_t | \mathcal{F}] &= E[\dot{Y}_t + \dot{\varphi}_t | \mathcal{F}] \\
&= E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] + E[\dot{\varphi}_t | \mathcal{F}] \\
&= E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] + H E[\delta_t | \mathcal{F}] \\
&= E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}].
\end{aligned} \tag{3.47}$$

Neste sentido, a dinâmica esperada do sistema perturbado em torno de um determinado ponto S^* é equivalente à dinâmica esperada do sistema original.

3.2.2.2 Matriz de Variâncias e Covariâncias

A variância de uma variável aleatória diz respeito à dispersão dos valores da variável em torno de sua média. Para calcular a variância do Modelo (3.42), aplica-se o operador variância condicional, de modo que:

$$\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] = E[(\dot{Y}_t - E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]) | \mathcal{F}] E[(\dot{Y}_t - E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]) | \mathcal{F}]^T. \tag{3.48}$$

Substituindo $E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$ pela expressão determinada na Equação (3.44) e fazendo $E[\delta_t^2 | \mathcal{F}] = E[(\delta_t - E[\delta_t | \mathcal{F}])^2 | \mathcal{F}] = \text{Var}[\delta_t | \mathcal{F}] = t$, determina-se a matriz de variâncias e covariâncias do Modelo (3.42):

$$\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] = \begin{bmatrix} tX_t^2(1 - X_t)^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}, \tag{3.49}$$

em que os elementos da diagonal principal são as variâncias de \dot{X}_t , \dot{O}_t , \dot{P}_t e \dot{N}_t , respectivamente, e os elementos fora da diagonal são as covariâncias entre pares de derivadas.

Esta matriz de variâncias e covariâncias é do tipo desestruturada e a partir de seus valores é possível inferir sobre algumas propriedades do Modelo (3.19). É notável que a covariância entre duas quaisquer derivadas do Modelo (3.19) é nula, indicando que não existe correlação linear entre duas derivadas quaisquer do modelo proposto e, portanto, perturbações em uma das equações do Modelo (3.19) não reflete em perturbações em outra equação qualquer.

Além disto, $\text{Var}[\dot{O}_t | \mathcal{F}] = \text{Var}[\dot{P}_t | \mathcal{F}] = \text{Var}[\dot{N}_t | \mathcal{F}] = 0$, indicando que não existem fatores de dispersão associados às taxas de variação das concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio no instante t . Esta característica se deve à estrutura do Modelo (3.19), o qual considera a existência de um ruído apenas na taxa de variação da concentração algal. Neste sentido, as taxas \dot{O}_t , \dot{P}_t e \dot{N}_t são constantes em relação à σ -álgebra \mathcal{F} .

Uma vez que $\delta_t \sim N(0, t)$, então o Modelo (3.19), dado pelo vetor \dot{Y}_t segue uma distribuição normal multidimensional com média dada pela Equação (3.44) e variância com estrutura dada pela Equação (3.49):

$$\dot{Y}_t \sim N \left(\begin{bmatrix} \mu_t X_t (1 - X_t) \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi (K_O - O_t) \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} \end{bmatrix}, t X_t^2 (1 - X_t)^2 \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \right). \quad (3.50)$$

Se o Modelo (3.42) sofrer uma perturbação equivalente àquela descrita pela Equação (3.46), a variância do sistema perturbado é

$$\text{Var}[\bar{Y}_t | \mathcal{F}] = t \begin{bmatrix} R_X^2 & R_X H_O & R_X H_P & R_X H_N \\ R_X H_O & H_O^2 & H_O H_P & H_O H_N \\ R_X H_P & H_O H_P & H_P^2 & H_P H_N \\ R_X H_N & H_O H_N & H_P H_N & H_N^2 \end{bmatrix} \quad (3.51)$$

para $R_X = H_X + X_t(1 - X_t)$, pois

$$\begin{aligned} \text{Var}[\bar{Y}_t | \mathcal{F}] &= \text{Var}[\dot{Y}_t + \delta_t H | \mathcal{F}] \\ &= \text{E}[(\dot{Y}_t + \delta_t H - \text{E}[\dot{Y}_t + \delta_t H | \mathcal{F}])(\dot{Y}_t + \delta_t H - \text{E}[\dot{Y}_t + \delta_t H | \mathcal{F}])^T | \mathcal{F}] \\ &= \text{E}[\delta_t^2 | \mathcal{F}] \begin{bmatrix} (X_t(1 - X_t) + H_X) \\ H_O \\ H_P \\ H_N \end{bmatrix} \begin{bmatrix} (X_t(1 - X_t) + H_X) & H_O & H_P & H_N \end{bmatrix} \\ &= t \begin{bmatrix} R_X^2 & R_X H_O & R_X H_P & R_X H_N \\ R_X H_O & H_O^2 & H_O H_P & H_O H_N \\ R_X H_P & H_O H_P & H_P^2 & H_P H_N \\ R_X H_N & H_O H_N & H_P H_N & H_N^2 \end{bmatrix}. \end{aligned}$$

A partir da Equação (3.51) é possível afirmar que a variância do valor perturbado de \dot{X} equivale à variância da perturbação somada ao dobro do produto dos desvios padrões (SD) da perturbação e de \dot{X} , isto é, $\text{Var}[\bar{X}_t | \mathcal{F}] = \text{Var}[\dot{\varphi}_X | \mathcal{F}] + 2 \text{SD}[\dot{\varphi}_X | \mathcal{F}] \text{SD}[\dot{X}_t | \mathcal{F}]$. Analogamente, a variância dos valores perturbados de \dot{O}_t , \dot{P}_t e \dot{N}_t pode ser descrita pela soma da variância da respectiva perturbação e do dobro do produto dos desvios padrões da perturbação e da derivada original. Neste caso, como no Modelo (3.42) a variância das derivadas \dot{O}_t , \dot{P}_t e \dot{N}_t é nula, então, no sistema adaptado, definido pelo Modelo (3.46), a variância das concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio depende exclusivamente da intensidade da perturbação.

Neste sentido, o sistema perturbado, descrito pelo vetor \bar{Y}_t , segue a seguinte distribuição normal:

$$\bar{Y}_t \sim N \left(\begin{bmatrix} \mu_t X_t (1 - X_t) \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} \end{bmatrix}, t \begin{bmatrix} R_X^2 & R_X H_O & R_X H_P & R_X H_N \\ R_X H_O & H_O^2 & H_O H_P & H_O H_N \\ R_X H_P & H_O H_P & H_P^2 & H_P H_N \\ R_X H_N & H_O H_N & H_P H_N & H_N^2 \end{bmatrix} \right). \quad (3.52)$$

3.2.2.3 Skewness

Ao contrário da média, que diz respeito aos valores esperados, e da variância, que fornece informações a cerca da dispersão dos dados em torno da média, a medida de assimetria ou *skewness* (As) informa sobre a tendência da distribuição dos dados: as observações podem estar distribuídas simetricamente em torno da média (As=0), mais a sua direita (As>0) ou a sua esquerda (As<0).

A medida de assimetria não possui formulação única, mas sua interpretação é a mesma, independente de seu equacionamento. Neste trabalho, considera-se a segunda medida de assimetria de Pearson, dada por:

$$\text{As}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] = 3 \frac{\text{E}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}] - M_Y}{\sqrt{\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]}} \quad (3.53)$$

em que M_Y é a mediana de \dot{Y}_t , calculada para $0 < t \leq T$, isto é,

$$\int_{Y_0}^{M_Y} dY_t = \frac{1}{2} \int_{Y_0}^{Y_T} dY_t. \quad (3.54)$$

Dado que \dot{Y}_t segue uma distribuição normal dada pela Equação (3.50), não é possível calcular a segunda medida de assimetria de Pearson para \dot{O}_t , \dot{P}_t e \dot{N}_t , pois suas variâncias são nulas, todavia,

$$\text{As}[\dot{X}_t | \mathcal{F}] = 3 \frac{\mu_t X_t (1 - X_t) - 0.5(X_0 + X_T)}{\sqrt{t} X_t (1 - X_t)}, \quad \sqrt{t} X_t (1 - X_t) \neq 0. \quad (3.55)$$

Quando uma perturbação do tipo $\dot{\varphi}_t$ é adicionada ao Modelo (3.42), é possível definir as medidas de assimetria para o vetor \bar{Y}_t :

$$\text{As}[\bar{Y}_t | \mathcal{F}] = \frac{3}{\sqrt{t}} \begin{bmatrix} \frac{\mu_t X_t (1 - X_t) - 0.5(\bar{X}_0 + \bar{X}_T)}{R_X} \\ \frac{\mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) - 0.5(\bar{O}_0 + \bar{O}_T)}{H_O} \\ \frac{-\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G - 0.5(\bar{P}_0 + \bar{P}_T)}{H_P} \\ \frac{-\mu_t X_t Y_{X/N} - 0.5(\bar{N}_0 + \bar{N}_T)}{H_N} \end{bmatrix}, \quad (3.56)$$

para $0 < t \leq T$, $R_X \neq 0$, $H_O \neq 0$, $H_P \neq 0$ e $H_N \neq 0$.

3.2.3 Soluções do modelo uniformemente limitadas

As soluções do Modelo (3.19) são não-negativas para qualquer tempo $t \geq s$, desde que a condição inicial definida no tempo $s \geq 0$ seja não-negativa, assim como descrito no Teorema 3.2. Neste sentido, o valor esperado das soluções do modelo proposto corroboram com a natureza física das variáveis de estado do problema modelado.

Todavia, como a variância do Modelo (3.19) é dependente da variável tempo, se $t = T$ e $T \rightarrow \infty$, então o vetor \dot{Y}_t possui variância infinita, o que não condiz com a natureza do bioprocessamento. Para garantir que as soluções do Modelo (3.19) representem as concentrações de algas, oxigênio, fósforo e nitrogênio em um bioprocessamento, propõe-se aqui o Teorema 3.3, porém, antes da apresentação de tal teorema, é importante definir soluções uniformemente limitadas (LAPIN, 2014).

Definição 3.2 (Soluções uniformemente limitadas). *Diz-se que as soluções de um sistema dinâmico $\dot{\mathbf{x}} = F(t, \mathbf{x})$, $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n$ são **uniformemente limitadas** em relação às variáveis $y = (x_1, \dots, x_k)$, ou, resumidamente, **uniformemente y -limitadas**, se, para qualquer número não negativo $\alpha \in \mathbb{R}$, exista um número positivo $\beta(\alpha) \in \mathbb{R}$, tal que a condição $\|y(t, \mathbf{x}_0, t_0)\| < \beta$, $t \geq t_0$ é satisfeita para qualquer ponto $(t_0, \mathbf{x}_0) \in \mathbb{R}^+ \times \mathbb{R}^n$, $\|\mathbf{x}_0\| \leq \alpha$, $n \leq k$, em que $\mathbf{x} = \mathbf{x}(t, \mathbf{x}_0, t_0)$ é uma solução arbitrária do sistema passando por (t_0, \mathbf{x}_0) .*

Teorema 3.3 (Soluções do Modelo (3.19) uniformemente limitadas). *Seja Y_t o vetor de soluções do Modelo (3.19) em um instante de tempo t , tal que $0 \leq s \leq t \leq T$, da forma $Y_t = [X_t, O_t, P_t, N_t]$. Dada uma condição inicial não-negativa Y_s e as quantidades τ_1 e τ_2 , em que $\tau_1 = O_s \exp\{\xi(t-s)\} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_{max} K_x$ e $\tau_2 = \frac{\alpha_P G}{\rho} + \left(P_s - \frac{\alpha_P G}{\rho}\right) \exp\{-\rho(t-s)\}$, diz-se então que qualquer solução Y_t do Modelo (3.19):*

(i) *Pertence a um conjunto compacto Γ se $T < +\infty$, para*

$$\Gamma = \left\{ E \left[\begin{array}{c} X_t \\ O_t \\ P_t \\ N_t \end{array} \middle| \mathcal{F} \right] \middle| \begin{array}{c} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{array} \leq E \left[\begin{array}{c} X_t \\ O_t \\ P_t \\ N_t \end{array} \middle| \mathcal{F} \right] \leq \begin{array}{c} K_x \\ \tau_1 \\ \tau_2 \\ N_s \end{array} \right\}.$$

(ii) *É uniformemente limitada em relação a um conjunto Ω ou uniformemente Ω -limitada quando $T \rightarrow +\infty$, sendo*

$$\Omega = \left\{ E \left[\begin{array}{c} X_t \\ P_t \\ N_t \end{array} \middle| \mathcal{F} \right] \middle| \begin{array}{c} 0 \\ 0 \\ 0 \end{array} \leq E \left[\begin{array}{c} X_t \\ P_t \\ N_t \end{array} \middle| \mathcal{F} \right] \leq \begin{array}{c} K_x \\ \tau_2 \\ N_s \end{array} \right\}$$

e $\lim_{T \rightarrow +\infty} E[O_t | \mathcal{F}] \rightarrow +\infty$, a menos que $O_s = 0$, $\forall s \leq t \leq T$.

Demonstração. Primeiramente, mostra-se que a concentração algal é limitada superiormente. A partir da Equação (3.31), tem-se que:

$$0 \leq X_t = \frac{1}{1 - \frac{1}{\pi_1}}, \quad (3.57)$$

para $\pi_1 = \frac{X_s}{X_s - 1} \exp \left\{ W_t - W_s + \int_s^t \mu_r dr \right\}$. Lembrando-se de que a variável X_t no Modelo (3.19) equivale a X_t/K_X no Modelo (3.17) e fazendo a devida substituição na Equação 3.57, obtém-se:

$$0 \leq X_t = \frac{K_X}{1 - \frac{1}{\pi_1}}. \quad (3.58)$$

Aplicando o operador esperança nesta última expressão,

$$0 \leq E[X_t | \mathcal{F}] = K_X E[(1 - \pi_1^{-1})^{-1} | \mathcal{F}] \quad (3.59)$$

e avaliando quando $t \rightarrow \infty$, tem-se que

$$0 \leq \lim_{t \rightarrow \infty} E[X_t | \mathcal{F}] = K_X E[\lim_{t \rightarrow \infty} (1 - \pi_1^{-1})^{-1} | \mathcal{F}]. \quad (3.60)$$

Seja $\mu_{max} = \max \{ \mu_t | s \leq t \leq T \}$. Então, $\mu_t \leq \mu_{max}$ e, por conseguinte,

$$\int_s^t \mu_r dr \leq \mu_{max}(t - s). \quad (3.61)$$

Seja $\pi_2 = \left(1 - \frac{1}{X_s}\right) \exp \{ W_s - \lim_{t \rightarrow \infty} W_t \}$, para $X_s > 0$. Segue que:

$$\frac{\pi_2 \exp \left\{ - \lim_{t \rightarrow \infty} \int_s^t \mu_r dr \right\}}{1 - \pi_2 \exp \left\{ - \lim_{t \rightarrow \infty} \int_s^t \mu_r dr \right\}} \geq \frac{\pi_2 \exp \{ \mu_{max} (s - \lim_{t \rightarrow \infty} t) \}}{1 - \pi_2 \exp \{ \mu_{max} (s - \lim_{t \rightarrow \infty} t) \}} \leq \frac{1}{1 - \pi_2 \exp \{ \mu_{max} (s - \lim_{t \rightarrow \infty} t) \}}.$$

Como $\exp \{ \mu_{max} (s - \lim_{t \rightarrow \infty} t) \} \rightarrow 0$, tem-se que

$$E[\lim_{t \rightarrow \infty} (1 - \pi_1^{-1})^{-1} | \mathcal{F}] = \frac{1}{1 - \pi_2 \exp \left\{ - \lim_{t \rightarrow \infty} \int_s^t \mu_r dr \right\}} \leq 1. \quad (3.62)$$

Aplicando-se o resultado obtido na Inequação (3.62) na Equação (3.60), obtém-se:

$$0 \leq \lim_{t \rightarrow \infty} E[X_t | \mathcal{F}] \leq K_X. \quad (3.63)$$

Considerando-se agora a taxa de variação da concentração de nitrogênio,

$$\dot{N}_t = -\mu_t X_t Y_{X/N}, \quad N(s) = N_s, \quad s \leq t, \quad (3.64)$$

e fazendo $\pi_3 = \pi_3(t, X_t, O_t, P_t, N_t) = \mu_t X_t / N_t$, reescreve-se a Equação (3.64) como

$$\dot{N}_t = -\pi_3 Y_{X/N} N_t. \quad (3.65)$$

Por separação de variáveis, obtém-se:

$$\begin{aligned} \int_{N_s}^{N_t} \frac{1}{N_r} \dot{N}_r &= -Y_{X/N} \int_s^t \pi_3(r, X_r, O_r, P_r, N_r) dr \\ \implies N_t &= N_s \exp \left\{ -Y_{X/N} \int_s^t \pi_3(r, X_r, O_r, P_r, N_r) dr \right\}. \end{aligned} \quad (3.66)$$

Uma vez que N_t é uma função monótona não-crescente, pois $\dot{N}_t \leq 0$, para $X_t \geq 0$, $O_t \geq 0$, $P_t \geq 0$ e $N_t \geq 0$, então, para uma condição inicial $N_s \geq 0$, $N_t \leq N_s$. Assim,

$$0 \leq \lim_{t \rightarrow \infty} E[N_t | \mathcal{F}] \leq N_s. \quad (3.67)$$

Consoante à concentração de oxigênio, cuja taxa de variação pode ser descrita por

$$\dot{O}_t - \xi O_t = \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi K_O, \quad (3.68)$$

tem-se que

$$O_t = (O_s - K_O) \exp \{ \xi(t - s) \} + K_O + Y_{X/O} \int_s^t \mu_r X_r \exp \{ \xi(t - s) \} dr. \quad (3.69)$$

Resolvendo a integral $\int_s^t \mu_r X_r \exp \{ \xi(t - s) \} dr$ por partes, obtém-se

$$\int_s^t \mu_r X_r \exp \{ \xi(t - s) \} dr = \frac{1}{\xi} \left(\mu_t X_t - \mu_s X_s \exp \{ \xi(t - s) \} - \int_s^t \exp \{ \xi(t - s) \} (\dot{\mu}_r X_r + \mu_r \dot{X}_r) dr \right). \quad (3.70)$$

Substituindo \dot{X}_t por $E[\dot{X}_t | \mathcal{F}]$, tem-se que:

$$\begin{aligned} E[O_t | \mathcal{F}] &= (O_s - K_O) \exp \{ \xi(t - s) \} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} (\mu_t X_t - \mu_s X_s \exp \{ \xi(t - s) \}) \\ &\quad - \frac{Y_{X/O}}{\xi} \left(\int_s^t \exp \{ \xi(t - s) \} (\dot{\mu}_r E[X_r | \mathcal{F}] + \mu_r E[\dot{X}_r | \mathcal{F}]) dr \right). \end{aligned} \quad (3.71)$$

Da Equação (3.71), tem-se que

$$\begin{aligned} E[O_t | \mathcal{F}] &\leq (O_s - K_O) \exp \{ \xi(t - s) \} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_t X_t \\ &\leq O_s \exp \{ \xi(t - s) \} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_t X_t. \end{aligned} \quad (3.72)$$

E avaliando a Inequação (3.72) em $t \rightarrow \infty$,

$$\begin{aligned} \lim_{t \rightarrow \infty} E[O_t | \mathcal{F}] &\leq O_s \exp \left\{ \xi \lim_{t \rightarrow \infty} (t - s) \right\} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \lim_{t \rightarrow \infty} \mu_t X_t \\ &\leq O_s \exp \left\{ \xi \lim_{t \rightarrow \infty} (t - s) \right\} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_{max} K_X. \end{aligned} \quad (3.73)$$

Portanto, quando $0 \leq s \leq t \leq T < \infty$,

$$0 \leq E[O_t | \mathcal{F}] \leq O_s \exp \{ \xi(t - s) \} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_{max} K_X, \quad (3.74)$$

caso contrário,

$$E[O_t | \mathcal{F}] \rightarrow \infty. \quad (3.75)$$

Por fim, considere que a taxa de variação da concentração de fósforo é reescrita da seguinte forma:

$$\dot{P}_t + \rho P_t = \pi_4, \quad \pi_4 = \pi_4(r, X_r, O_r, P_r, N_r) = \alpha_P G - \mu_t X_t Y_{X/P}. \quad (3.76)$$

E, ao integrar no retângulo $[s, t] \times [P_s, P_t]$, obtém-se a seguinte expressão:

$$P_t = P_s \exp \{ -\rho(t - s) \} + \int_s^t \exp \{ -\rho(t - s) \} \pi_4(r, X_r, O_r, P_r, N_r) dr, \quad (3.77)$$

em que a integral $\int_s^t \exp \{ -\rho(t - s) \} \pi_4(r, X_r, O_r, P_r, N_r) dr$, ao ser resolvida por partes, resulta em:

$$\alpha_P G \frac{1 - \exp \{ \rho(s - t) \}}{\rho} - Y_{X/P} \exp \{ -\rho t \} \int_s^t \mu_r X_r \exp \{ \rho r \} dr. \quad (3.78)$$

Substituindo a esperança da Expressão (3.78) na Equação (3.77), tem-se que

$$\begin{aligned} E[P_t | \mathcal{F}] &= P_s \exp \{ -\rho(t - s) \} + \alpha_P G \frac{1 - \exp \{ \rho(s - t) \}}{\rho} \\ &\quad - Y_{X/P} \exp \{ -\rho t \} \int_s^t \mu_r E[X_r | \mathcal{F}] \exp \{ \rho r \} dr \end{aligned}$$

e, conseqüentemente,

$$E[P_t | \mathcal{F}] \leq P_s \exp \{ -\rho(t - s) \} + \alpha_P G \frac{1 - \exp \{ \rho(s - t) \}}{\rho}. \quad (3.79)$$

Fazendo algumas manipulações algébricas, obtém-se

$$0 \leq E[P_t | \mathcal{F}] \leq \exp\{-\rho(t-s)\} \left(P_s - \frac{\alpha_P G}{\rho} \right) + \frac{\alpha_P G}{\rho}. \quad (3.80)$$

Portanto, dados s, t , sendo que $0 \leq s \leq t \leq T < \infty$, existe um conjunto compacto Γ , tal que

$$\Gamma = \{0 \leq E[X_t | \mathcal{F}] \leq K_x, 0 \leq E[O_t | \mathcal{F}] \leq \tau_1, 0 \leq E[P_t | \mathcal{F}] \leq \tau_2, 0 \leq E[N_t | \mathcal{F}] \leq N_s\}, \quad (3.81)$$

$$\text{para } \tau_1 = O_s \exp\{\xi(t-s)\} + K_O + \frac{Y_{X/O}}{\xi} \mu_{max} K_x \text{ e } \tau_2 = \frac{\alpha_P G}{\rho} + \left(P_s - \frac{\alpha_P G}{\rho} \right) \exp\{-\rho(t-s)\}.$$

Caso o $T \rightarrow \infty$, existe um conjunto Ω que limita as soluções de X_t, P_t e N_t , da forma

$$\Omega = \{0 \leq E[X_t | \mathcal{F}] \leq K_x, 0 \leq E[P_t | \mathcal{F}] \leq \tau_2, 0 \leq E[N_t | \mathcal{F}] \leq N_s\} \quad (3.82)$$

e $\lim_{T \rightarrow +\infty} E[O_t | \mathcal{F}] \rightarrow +\infty$. Deste modo, se o tempo total de um bioprocesso é finito, as soluções do Modelo (3.19) são limitadas e, caso contrário, diz-se que as soluções são uniformemente Ω -limitadas. \square

3.3 Soluções de equilíbrio do modelo proposto e análise de estabilidade

As soluções de equilíbrio de um modelo matemático (determinístico ou estocástico) e a análise de sua estabilidade representam uma importante ferramenta para estabelecer estratégias de controle. Diversas biotecnologias empregam biorreatores para carrear bioprocessos e gerar produtos de forma viável e rentável. Neste sentido, não é desejável que as condições físicas, químicas e biológicas do biorreator favoreçam um equilíbrio instável do bioprocessos (*wash out* do reator por mal controle da vazão de saída, por exemplo), tornando-o ineficiente ou excessivamente oneroso. Uma forma de identificar possíveis equilíbrios estáveis e instáveis em um bioprocessos é determinar as condições que levam um determinado bioprocessos a alcançar o estado estacionário.

Utilizando os processos matemáticos adequados, foram determinados os pontos de equilíbrio para o Modelo (3.19), ou as soluções do sistema no estado estacionário, os quais estão apresentados nos teoremas a seguir.

Teorema 3.4. *Sob a hipótese de ausência de fármacos, isto é, $G = 0$, o Modelo (3.19) admite as seguintes soluções de equilíbrio:*

- $S_1^0 = (0, K_O, 0, N_{1,0}^*)$, $N_{1,0}^* \in \mathbb{R}_+^*$, $K_O > 0$, $\delta_t \neq 0$;
- $S_2^0 = (1, K_O, 0, N_{2,0}^*)$, $N_{2,0}^* \in \mathbb{R}_+^*$, $K_O > 0$, $\delta_t \neq 0$;

- $S_3^0 = (1, K_O, 0, 0)$, $K_O > 0$, $\delta_t \neq 0$;
- $S_4^0 = (X_{4,0}^*, K_O, 0, 0)$, $X_{4,0}^* \in \mathbb{R}_+^*$, $K_O > 0$, $\delta = 0$;
- $S_5^0 = (0, K_O, 0, 0)$, $K_O > 0$, $\delta_t \neq 0$.

Teorema 3.5. *Sob a presença de fármacos, ou seja, quando $G = 1$, o Modelo (3.19) admite as seguintes soluções de equilíbrio:*

- $S_1^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, N_{1,1}^*\right)$, $N_{1,1}^* \in \mathbb{R}_+^*$, $K_O > 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $\rho \neq 0$, $\delta_t \neq 0$;
- $S_2^1 = \left(1, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right)$, $K_O > 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $\rho \neq 0$, $\delta_t \neq 0$;
- $S_3^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, \frac{mK_N}{m-1}\right)$, $\frac{mK_N}{m-1} \geq 0$, $m = -\frac{\delta}{\mu_{max}} \left(1 + \frac{K_O}{K_{iO}}\right) \left(1 - \frac{\rho K_P}{\alpha_P}\right)$, $m \neq 1$, $\delta_t \neq 0$, $K_O \geq 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $\rho \neq 0$;
- $S_4^1 = \left(X_{4,1}^*, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right)$, $X_{4,1}^* \in \mathbb{R}_+^*$, $K_O \geq 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $\rho \neq 0$ e $\delta = 0$;
- $S_5^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right)$, $K_O \geq 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $\rho \neq 0$, $\delta_t \neq 0$.

Demonstração. Os resultados apresentados nos Teoremas 3.4 e 3.5 podem ser determinados igualando as equações diferenciais do Modelo (3.19) a zero, simultaneamente (STROGATZ, 2018). \square

Em todos os pontos determinados, a concentração de equilíbrio de oxigênio equivale à constante de saturação de oxigênio no reator, K_O . De acordo com Bergman et al. (2011) e Zambrano et al. (2016), a transferência de oxigênio da fase líquida para a fase gasosa em um biorreator entra em equilíbrio quando a concentração de oxigênio (ou a pressão parcial de oxigênio) atinge seu valor de saturação. Salienta-se aqui que, para ocorrer a transferência de um gás, como o oxigênio, entre dois fluidos, é preciso apenas que haja uma diferença de pressão/concentração deste gás entre os dois meios, sendo independente da existência de organismos fermentadores, o que explica a existência dos pontos de equilíbrio S_1^0 , S_5^0 , S_1^1 , S_3^1 e S_5^1 .

Quanto ao valor de equilíbrio de fósforo, tanto para ausência ($G = 0$), quanto presença ($G = 1$) de fármacos no mosto, $P^* = \alpha_P G / \rho$, indicando que a concentração de equilíbrio de fósforo é dada pela razão entre os efeitos dos fármacos e os efeitos de precipitação sob o fósforo. Sob a ausência de algas, a única forma de garantir que os pontos de equilíbrio S_1^0 , S_5^0 , S_1^1 , S_3^1 e S_5^1 existam é considerando um meio livre de fósforo (concentração inicial nula).

A concentração de equilíbrio de nitrogênio, por sua vez, é atingida (i) quando a concentração algal se iguala a sua capacidade suporte ($X^* = 1$, como nos pontos S_2^0 , S_3^0 e S_2^1), indicando

a degradação de todo o nitrogênio ou a convergência da concentração deste composto para uma constante não-negativa, uma vez que a atividade algal pode ter atingido o estado de equilíbrio antes da depleção deste nutriente; (ii) quando a concentração de algas é nula, implicando em na taxa de variação da concentração de nitrogênio ser nula e, por conseguinte, a única forma de garantir a existência dos equilíbrio S_1^0 , S_5^0 , S_1^1 e S_5^1 , é fazendo $N^* = N_0 \geq 0$.

A respeito dos valores de equilíbrio de X_t , existem três cenários possíveis: um biorreator livre de algas, a capacidade suporte da concentração algal foi alcançada e, na ausência de estocasticidade, $0 \leq X^* \leq 1$. Quando a concentração inicial de algas é nula e o mosto foi esterilizado, não há possibilidade (biológica e física) de que a concentração de equilíbrio de algas seja diferente de zero, o que é exemplificado pelos pontos S_1^0 , S_5^0 , S_1^1 , S_3^1 e S_5^1 . Por outro lado, à medida que a concentração algal se aproxima de sua capacidade suporte, a velocidade específica de crescimento algal tende a zero, implicando na redução da taxa de geração de produtos ou de consumo de nutrientes. Todavia, sob a hipótese de ausência de estocasticidade, isto é, em um ambiente totalmente controlado, basta que as concentrações de nitrogênio, fósforo e oxigênio entrem em equilíbrio que a concentração algal também se equilibra.

Do ponto de vista do controle de um bioprocessos é interessante conhecer os equilíbrios de um sistema e classificá-los em estáveis ou instáveis, pois assim é possível estabelecer estratégias que promovam uma situação de equilíbrio ou, ainda, evitem que o sistema seja direcionado para um equilíbrio instável e danos sejam gerados. A análise da estabilidade das soluções de equilíbrio do Modelo (3.19) apresentadas nos Teoremas 3.4 e 3.5 pode ser realizada considerando diferentes sensores: análise dos expoentes de Lyapunov, estabilidade do p -ésimo momento, estabilidade do quadrado médio, estabilidade em probabilidade, estabilidade em distribuição, estabilidade no senso dos momentos condicionais e outras.

A análise de estabilidade dos momentos condicionais, proposta por [Bhattacharya et al. \(2011\)](#) é vantajosa por vários motivos, dentre os quais: (i) para a análise de estabilidade não é preciso estabelecer distribuições de probabilidade para as variáveis de estado (processos estocásticos), nem para os parâmetros; (ii) não é necessário resolver (analítica ou numericamente) o modelo como em abordagens clássicas para equações estocásticas; (iii) é possível obter resultados por meio desta metodologia para modelos com um grande número de variáveis de estado; (iv) e as características das distribuições de equilíbrio determinadas aqui podem ser interpretadas como fatores ambientais que levam à estabilidade/instabilidade, além de que o método proposto por estes autores é também capaz de explicar as fontes de incerteza (ruídos) de um modo melhor que as demais abordagens.

A metodologia descrita em [Bhattacharya et al. \(2011\)](#) pode ser esquematizada em uma sequência de passos, como se apresenta no Algoritmo 3.1. Para isto, considere uma solução de equilíbrio genérica S do Sistema de Equações Diferenciais Estocásticas $\dot{Y}_t = f_i(\theta, Y_t) + \delta g_i(\theta, Y_t)$, em que f_i e g_i são funções suaves e g_i é duas vezes diferenciável em relação ao tempo t , θ é um vetor de parâmetros, Y_t é um vetor de variáveis de estado dependentes do tempo t e δ_i é

uma variável aleatória definida em um espaço de probabilidades $(\mathbb{R}, \mathcal{F}, \mathcal{P})$, para $i = 1, 2, \dots, m$. Considere também que $E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$, $\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$, $\text{Cov}[\dot{Y}_{t_i}, \dot{Y}_{t_j} | \mathcal{F}]$, $\forall i \neq j$ e $\text{As}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$ são as esperança, variância, covariância e medida de assimetria condicionais em relação à σ -álgebra \mathcal{F} .

Algoritmo 3.1 Análise de estabilidade de um ponto de equilíbrio S , segundo [Bhattacharya et al. \(2011\)](#).

- 1 **Passo 1.** Determine $E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$, $\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$, $\text{Cov}[\dot{Y}_{t_i}, \dot{Y}_{t_j} | \mathcal{F}]$, $\forall i \neq j$ e $\text{As}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$.
 - 2 **Passo 2. Estabilidade da esperança condicional:** Faça $\tilde{E} = E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$. Determine a expressão da matriz Jacobiana avaliada no ponto de equilíbrio S , $J_{\tilde{E}}(S) = \frac{\partial \tilde{E}}{\partial Y_{t_i}}(S)$ e calcule os autovalores associados a esta matriz.
 - 3 **Se todos os autovalores de $J_{\tilde{E}}$ possuírem parte real negativa então**
 - as soluções da esperança do sistema convergem para o ponto de equilíbrio S , isto é, o ponto de equilíbrio atrai as esperanças das soluções do sistema. Caso contrário, diz-se que as esperanças das soluções do sistema não são atraídas ou não convergem para o ponto de equilíbrio.
 - 4 **Passo 3. Estabilidade da variância condicional:** Determine $\dot{U} = \frac{d}{dt} \text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$ e substitua \dot{Y}_t por \tilde{E} em \dot{U} . Determine a expressão da matriz Jacobiana avaliada no ponto de equilíbrio S , $J_U(S) = \frac{\partial \dot{U}}{\partial Y_{t_i}}(S)$ e calcule os autovalores associados a esta matriz.
 - 5 **Se todos os autovalores de J_U possuírem parte real negativa então**
 - as soluções do sistema convergem para o ponto de equilíbrio S , isto é, o ponto de equilíbrio atrai as órbitas das soluções do sistema. Caso contrário, diz-se que as soluções do sistema não são atraídas ou não convergem para o ponto de equilíbrio.
 - 6 **Passo 4. Estabilidade da covariância condicional:** Determine $\dot{C} = \frac{d}{dt} \text{Cov}[\dot{Y}_{t_i}, \dot{Y}_{t_j} | \mathcal{F}]$, $i \neq j$, $i = 1, 2, \dots, m$, $j = 1, 2, \dots, m$ e substitua \dot{Y}_t por \tilde{E} em \dot{C} .
 - 7 **Se todos os elementos de \dot{C} forem negativos então**
 - o sistema converge para o ponto de equilíbrio S . Caso contrário, diz-se que as soluções do sistema não são atraídas ou não convergem para o ponto de equilíbrio.
 - 8 **Passo 5. Estabilidade da medida de assimetria condicional:** Determine $\dot{A} = \frac{d}{dt} \text{As}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$ e substitua \dot{Y}_t por \tilde{E} em \dot{A} . Determine a expressão da matriz Jacobiana avaliada no ponto de equilíbrio S , $J_A(S) = \frac{\partial \dot{A}}{\partial Y_{t_i}}(S)$ e calcule os autovalores associados a esta matriz.
 - 9 **Se todos os autovalores de J_A possuírem parte real negativa então**
 - as soluções do sistema convergem para o ponto de equilíbrio S , isto é, o ponto de equilíbrio atrai as órbitas das soluções do sistema. Caso contrário, diz-se que as soluções do sistema não são atraídas ou não convergem para o ponto de equilíbrio.
 - 10 **Passo 6.** Se o sistema converge para as distribuições de equilíbrio das esperança, variância, covariância e medida de assimetria condicionais, então a solução de equilíbrio S , no modelo determinístico, é localmente exponencialmente assintoticamente estável. Caso contrário, diz-se que é localmente (exponencialmente) instável.
 - 11 **Passo 7.** Fim.
-

MAZI, 2010) e na análise de estabilidade no senso dos momentos condicionais (BHATTACHARYA *et al.*, 2011), em três abordagens:

- Abordagem I - uma realização do processo estocástico representado pelo Modelo (3.19): Considerando a existência de um ruído com valor fixo, isto é, $\delta_t = \delta$. Esta análise é similar à análise de equilíbrio de um sistema dinâmico não-estocástico. Emprega-se aqui a análise de estabilidade parcial.
- Abordagem II - processo estocástico representado pelo Modelo (3.19): Considerando a existência de um ruído com distribuição $\delta_t \sim N(0, t)$, de acordo com a teoria de Bhattacharya *et al.* (2011) combinada com a teoria de estabilidade parcial.
- Abordagem III - processo estocástico adaptado do Modelo (3.19): Considerando a existência de um ruído adicional no sistema representado pelo modelo proposto neste trabalho. A análise dos pontos de equilíbrio se referem ao Modelo (3.46) e é realizada sob a luz das teorias da estabilidade parcial e de Bhattacharya *et al.*.

Para qualquer abordagem, considere $\Lambda(S)$ o conjunto de autovalores da matriz Jacobiana do Modelo (3.19) associada ao ponto de equilíbrio S , sendo que os autovalores estão ordenados da seguinte forma: $\Lambda(S) = \{\lambda_X, \lambda_O, \lambda_P, \lambda_N\}$, isto é, o primeiro autovalor se refere à coluna das derivadas de \dot{X}_t , o segundo diz respeito à coluna das derivadas de \dot{O}_t e assim por diante. Além disto, considere $\Lambda(E[S | \mathcal{F}])$, $\Lambda(\text{Var}[S | \mathcal{F}])$, $\Lambda(\text{As}[S | \mathcal{F}])$ os conjuntos de autovalores das matrizes Jacobianas associadas às esperança, variância e medida de assimetria condicionais do sistema e avaliadas no ponto de equilíbrio S e $\gamma_{\dot{Y}_i, \dot{Y}_j}(S | \mathcal{F})$ a primeira derivada no tempo da $\text{Cov}[\dot{Y}_i, \dot{Y}_j | \mathcal{F}]$ avaliada no ponto S , para $i \neq j$.

3.3.1 Abordagem I: estabilidade parcial do modelo proposto

Nos modelos baseados na cinética de um bioprocessos, geralmente, observa-se que a taxa de variação de substratos e produtos é definida a partir da taxa de variação do microrganismo, como por exemplo em Murwanashyaka *et al.* (2020), Rio-Chanona *et al.* (2018), Roman e Selișteanu (2016) e Yang *et al.* (2011). Ao calcular os autovalores da matriz Jacobiana de modelos baseados na cinética de fermentação, nota-se frequentemente que existem múltiplos autovalores nulos para um determinado ponto de equilíbrio, o que impede a análise de estabilidade no senso local (STROGATZ, 2018). Neste sentido, nesta tese, quando pelo menos um autovalor associado a um ponto de equilíbrio for nulo, analisa-se a estabilidade no senso parcial (JAMMAZI, 2010; CHELLABOINA; HADDAD, 2002; VOROTNIKOV, 1998; FERGOLA; TENNERIELLO, 1983).

Considera-se ainda que, na abordagem I, a variável aleatória δ_t assume um valor constante. Neste sentido, os resultados da análise de equilíbrio se referem a apenas uma realização do

Modelo (3.19), isto é, a análise diz respeito à dinâmica do processo estocástico vetorial $\dot{Y}_t = [\dot{X}_t, \dot{O}_t, \dot{P}_t, \dot{N}_t]$ para somente um valor de δ_t .

3.3.1.1 Ausência de fármacos

Sob a hipótese de ausência de fármacos no mosto, existem cinco possíveis equilíbrios, denotados pelos pontos S_i^0 , $i = 1, 2, \dots, 5$. Discute-se a seguir os critérios para a estabilidade destes pontos:

S_1^0 - Equilíbrio livre de algas e fósforo, com ruído constante

Para este ponto de equilíbrio foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_1^0) = \{0, \delta, \xi, -\rho\}. \quad (3.83)$$

Se $\delta < 0$, $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

S_2^0 - Capacidade suporte de algas, fósforo depletado e ruído constante

Os seguintes autovalores estão associados ao ponto de equilíbrio S_2^0 :

$$\Lambda(S_2^0) = \left\{ 0, -\delta, \xi, -\rho - \frac{K_{i_O} N_{2,0}^* Y_{X/P} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O) K_P (K_N - N_{2,0}^*)} \right\}. \quad (3.84)$$

Se $\delta > 0$, $\xi < 0$ e $\rho > -\frac{K_{i_O} N_{2,0}^* Y_{X/P} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O) K_P (K_N - N_{2,0}^*)}$, então diz-se que o sistema é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

S_3^0 - Capacidade suporte de algas, fósforo e nitrogênio depletados e ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_3^0 foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_3^0) = \{0, -\delta, \xi, -\rho\}. \quad (3.85)$$

Se $\delta > 0$, $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

S_4^0 - Bioprocesso totalmente controlado (ausência de ruídos)

Para este equilíbrio S_4^0 foram encontrados os autovalores:

$$\Lambda(S_4^0) = \{0, \xi, -\rho, 0\}. \quad (3.86)$$

Se $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio e fósforo e converge em relação às concentrações de algas e nitrogênio*.

S_5^0 - Ausência de algas, fósforo e nitrogênio, com ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_5^0 , determinaram-se os autovalores:

$$\Lambda(S_5^0) = \{0, \delta, -\xi, -\rho\}. \quad (3.87)$$

Se $\delta < 0$, $\xi > 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

3.3.1.2 Presença de fármacos

Sob a hipótese de presença de fármacos no biorreator, existem cinco possíveis equilíbrios, denotados pelos pontos S_i^1 , $i = 1, 2, \dots, 5$, cujos equilíbrios são classificados a seguir:

S_1^1 - Equilíbrio livre de algas e ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_1^1 , foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_1^1) = \left\{ 0, \xi, -\rho, \delta + \frac{\alpha_P \mu_{max} N_{1,1}^* K_{iO}}{(K_{iO} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)(N_{1,1}^* - K_N)} \right\}. \quad (3.88)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $\delta < -\frac{\alpha_P \mu_{max} N_{1,1}^* K_{iO}}{(K_{iO} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)(N_{1,1}^* - K_N)}$, então diz-se que o sistema, sob a presença de fármacos, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

S_2^1 - Capacidade suporte de algas, nitrogênio depletado e ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_2^1 , foram calculados os autovalores:

$$\Lambda(S_2^1) = \left\{ -\delta, \xi, -\rho, \frac{\alpha_P K_{iO} Y_{X/N} \mu_{max}}{(K_{iO} + K_O) K_N (\alpha_P - \rho K_P)} \right\}. \quad (3.89)$$

Se $\delta > 0$, $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $\frac{\alpha_P K_{iO} Y_{X/N} \mu_{max}}{(K_{iO} + K_O) K_N (\alpha_P - \rho K_P)} < 0$, então diz-se que o sistema, sob a presença de fármacos, é *localmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio*.

S_3^1 - Ausência de algas, nitrogênio converge para constante não nula e ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_3^1 , em que a concentração de nitrogênio converge para $\frac{mK_N}{m-1}$, tal que $m = -\frac{\delta}{\mu_{max}} \left(1 + \frac{K_O}{K_{iO}}\right) \left(1 - \frac{\rho K_P}{\alpha_P}\right)$, considerando $\delta_i = \delta \neq 0$, foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_3^1) = \{0, 0, \xi, -\rho\}. \quad (3.90)$$

Se $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema, sob a presença de fármacos, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e converge em relação às concentrações de algas e oxigênio*.

S_4^1 - Bioprocesso totalmente controlado (ausência de ruídos)

Para o ponto de equilíbrio S_4^1 , sob a ausência de estocasticidade, isto é, $\delta = 0$, foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_4^1) = \left\{ \xi, -\rho, 0, \frac{\alpha_P K_{i_O} Y_{X/N} X_{4,1}^* \mu_{max}}{K_N (K_{i_O} + K_O) (\alpha_P - \rho K_P)} \right\}. \quad (3.91)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $\frac{Y_{X/N}}{K_N} \left(\frac{\alpha_P}{\rho} - K_P \right) < 0$, para $\alpha_P > 0$, $K_{i_O} > 0$, $K_O \geq 0$, $\mu_{max} > 0$, então diz-se que o sistema, sob a presença de fármacos, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de algas, oxigênio e nitrogênio e converge em relação à concentração de fósforo*.

S_5^1 - Ausência de algas e de nitrogênio, ruído constante

Para o ponto de equilíbrio S_5^1 , o qual representa um sistema livre de algas e nitrogênio, foram determinados os seguintes autovalores:

$$\Lambda(S_5^1) = \{0, \delta, \xi, -\rho\}. \quad (3.92)$$

Se $\delta < 0$, $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que o sistema, sob a presença de fármacos, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

3.3.2 Abordagem II: estabilidade dos momentos condicionais do modelo proposto

Para analisar a estabilidade do sistema dinâmico estocástico em um ponto de equilíbrio, de acordo com Bhattacharya *et al.* (2011) é preciso analisar a estabilidade de três momentos condicionais em relação ao fator de estocaticidade δ_t : esperança $E[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$, variância $\text{Var}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$ e medida de assimetria $\text{As}[\dot{Y}_t | \mathcal{F}]$. Para tal análise, consideram-se os resultados apresentados nas Equações (3.44), (3.49) e (3.55).

3.3.2.1 Ausência de fármacos

Esperança condicional

Para os pontos de equilíbrio S_1^0 , S_3^0 , S_4^0 e S_5^0 , por meio do cálculo dos autovalores da matriz Jacobiana da esperança condicional do Modelo (3.19), Equação (3.44), foram determinados:

$$\Lambda(E[S_1^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(E[S_3^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(E[S_4^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(E[S_5^0 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, \xi, -\rho\}. \quad (3.93)$$

Se $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob ausência de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação*

às concentrações de fósforo e nitrogênio e converge em relação às concentrações de algas e oxigênio.

Já para o equilíbrio S_2^0 , foram determinados os seguintes autovalores associados à Jacobiana da esperança condicional do Modelo (3.19):

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_2^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, 0, \xi, \rho + \frac{K_{i_O} N_{2,1}^* Y_{X/P} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O) K_P (N_{2,1}^* - K_N)} \right\}. \quad (3.94)$$

Se $\xi < 0$ e $\rho < -\frac{K_{i_O} N_{2,1}^* Y_{X/P} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O) K_P (N_{2,1}^* - K_N)}$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob ausência de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e converge em relação às concentrações de algas e oxigênio*.

Variância condicional

Para os pontos de equilíbrio S_1^0 , S_2^0 , S_3^0 e S_5^0 , por meio do cálculo dos autovalores da matriz Jacobiana da variância condicional do Modelo (3.19), Equação (3.49), foram determinados

$$\Lambda(\text{Var}[S_1^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_2^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_3^0 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_5^0 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, 0, 0\}. \quad (3.95)$$

Uma vez que todos os autovalores associados à Jacobiana da variância condicional são nulos, *não se pode afirmar nada sobre a estabilidade da distribuição da variância condicional do sistema sob a ausência de fármacos em relação aos pontos de equilíbrio S_1^0 , S_2^0 , S_3^0 e S_5^0* .

Para o ponto de equilíbrio S_4^0 , foi determinado o seguinte conjunto de autovalores:

$$\Lambda(\text{Var}[S_1^0 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, 0, 2X_{4,0}^* (2X_{4,0}^* - 1)(X_{4,0}^* - 1)\}. \quad (3.96)$$

Se $\frac{1}{2} < X_{4,0}^* < 1$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema*, sob a ausência de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação à concentração de nitrogênio e converge em relação às concentrações de algas, oxigênio e fósforo*.

Além disto, como as covariâncias do Modelo (3.19) são todas nulas (elementos fora da diagonal da Equação (3.49)) e, conseqüentemente,

$$\gamma_{\dot{X}, \dot{O}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{P}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{O}, \dot{P}} = \gamma_{\dot{O}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{P}, \dot{N}} = 0 \quad (3.97)$$

para qualquer equilíbrio S^0 , *não é possível fazer nenhuma afirmação sobre a estabilidade da distribuição das covariâncias do sistema*.

Skewness condicional

De acordo com a Equação (3.55), foi possível determinar apenas a medida de assimetria de \dot{X}_t . Por conseguinte, *não se pode fazer afirmações sobre a estabilidade da distribuição da medida de assimetria do sistema*.

3.3.2.2 Presença de fármacos

Esperança condicional

Para os ponto de equilíbrio S_1^1 , foi determinado o seguinte conjunto de autovalores relacionados à matriz Jacobiana da esperança condicional do Modelo (3.19):

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_1^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \xi, -\rho, \frac{\alpha_P K_{i_O} N_{1,1}^* \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)(N_{1,1}^* - K_N)} \right\}. \quad (3.98)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $(\alpha_P - \rho K_P)(N_{1,1}^* - K_N) < 0$, para $\alpha_P > 0$, $K_{i_O} > 0$, $K_O \geq 0$, $\rho K_P \neq \alpha_P$, $N_{1,1}^* \neq K_N$, $\mu_{max} > 0$ então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração algal*.

Para S_2^1 determinou-se:

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_2^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \xi, -\rho, \frac{\alpha_P K_{i_O} Y_{X/N} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P) K_N} \right\}. \quad (3.99)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $Y_{X/N}(\alpha_P - \rho K_P)^{-1} K_N^{-1} < 0$, para $\alpha_P > 0$, $\alpha_P \neq \rho K_P$, $K_{i_O} > 0$, $K_O \geq 0$, $\mu_{max} > 0$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração algal*.

Consoante ao equilíbrio S_3^1 , encontrou-se:

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_3^1 | \mathcal{F}]) = \{0, -\delta, \xi, -\rho\}. \quad (3.100)$$

Se $\delta > 0$, $\xi < 0$ e $\rho > 0$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração algal*.

Em respeito ao ponto S_4^1 , determinou-se:

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_4^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \xi, -\rho, \frac{\alpha_P K_{i_O} X_{4,1}^* Y_{X/N} \mu_{max}}{(K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P) K_N} \right\}. \quad (3.101)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$ e $Y_{X/N}(\alpha_P - \rho K_P)^{-1} K_N^{-1} < 0$, para $\alpha_P > 0$, $\alpha_P \neq \rho K_P$, $K_{i_O} > 0$, $K_O \geq 0$, $\mu_{max} > 0$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração algal*.

Por fim, para o ponto S_5^1 , encontrou-se o seguinte conjunto de autovalores:

$$\Lambda(\mathbb{E}[S_5^1 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, \xi, -\rho\}. \quad (3.102)$$

Se $\xi < 0$, $\rho > 0$, então diz-se que a distribuição da *esperança condicional do sistema*, sob presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e converge em relação às concentrações algal e de oxigênio*.

Variância condicional

Para os pontos de equilíbrio S_1^1 , S_2^1 , S_3^1 e S_5^1 , obteve-se:

$$\Lambda(\text{Var}[S_1^1 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_2^1 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_3^1 | \mathcal{F}]) = \Lambda(\text{Var}[S_5^1 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, 0, 0\}. \quad (3.103)$$

Uma vez que todos os autovalores associados à Jacobiana da variância condicional são nulos, *não se pode afirmar nada sobre a estabilidade da distribuição da variância condicional do sistema sob a presença de fármacos em relação aos pontos de equilíbrio S_1^1 , S_2^1 , S_3^1 e S_5^1* .

Já para S_4^1 , tem-se que:

$$\Lambda(\text{Var}[S_4^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, 0, 0, 2X_{4,1}^* (2X_{4,1}^* - 1)(X_{4,1}^* - 1) \left(1 - \frac{\alpha_P t K_{i_O} Y_{X/N}^2 \mu_{max}}{K_N (K_{i_O} + K_O) (\alpha_P - \rho K_P)} \right) \right\}. \quad (3.104)$$

Se $\frac{1}{2} < X_{4,0}^* < 1$ e $\frac{\alpha_P t K_{i_O} Y_{X/N}^2 \mu_{max}}{K_N (K_{i_O} + K_O) (\alpha_P - \rho K_P)} < 1$ ou $\frac{\alpha_P t K_{i_O} Y_{X/N}^2 \mu_{max}}{K_N (K_{i_O} + K_O) (\alpha_P - \rho K_P)} > 1$ e $0 < X_{4,0}^* < \frac{1}{2}$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema*, sob a presença de fármacos e considerando a existência de um ruído Gaussiano na taxa de variação da concentração algal, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação à concentração de nitrogênio e converge em relação às concentrações dos demais componentes*.

Em respeito à análise da covariância do sistema para os pontos de equilíbrio sob a presença de fármacos, *não se pode fazer afirmações*, uma vez que as derivadas das covariâncias para $G = 1$ são as mesmas descritas na Equação (3.97). Além disto, não foi possível obter nenhum resultado de estabilidade para a medida de assimetria condicional, devido a $\text{Var}[\dot{O}_t | \mathcal{F}] = \text{Var}[\dot{P}_t | \mathcal{F}] = \text{Var}[\dot{N}_t | \mathcal{F}] = 0$.

3.3.3 Abordagem III: estabilidade dos momentos condicionais do modelo perturbado

O Modelo (3.46) representa uma perturbação do Modelo (3.19) nas proximidades de um ponto de equilíbrio S^* . Analisar a estabilidade dos pontos de equilíbrio do Modelo (3.19) com auxílio do modelo perturbado significa então analisar soluções de quasi-equilíbrio ou soluções nas proximidades de um equilíbrio S^* (BHOWMICK et al., 2016).

Como o Modelo (3.46) esperado é equivalente ao Modelo (3.19) esperado, então a análise das esperanças condicionais dos pontos de equilíbrio S_i^G , para $i = 1, 2, \dots, 5$, $G = 0, 1$, é a

mesma descrita na Abordagem II. Em outras palavras, a estabilidade da distribuição da *esperança condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio* é equivalente à estabilidade da distribuição da *esperança condicional do sistema em equilíbrio*.

Por sua vez, apesar de existir uma estrutura para a medida de assimetria do Modelo (3.46), não foi possível determinar os autovalores da matriz Jacobiana da Equação (3.56) para nenhum ponto de equilíbrio, já que alguns elementos da Jacobiana tendem ao infinito. Por conseguinte, diz-se que *a estabilidade da distribuição da medida de assimetria é indeterminada*.

Neste sentido, esta subseção se destina a descrever a análise de estabilidade da matriz de variância condicional do sistema perturbado.

3.3.3.1 Ausência de fármacos

S_1^0 - Equilíbrio livre de algas e fósforo

Para o ponto de equilíbrio S_1^0 foi determinado o seguinte conjunto de autovalores da Jacobiana da variância condicional:

$$\Lambda(\text{Var}[S_1^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, 0, \frac{2\delta^2 c_N^2 d_N N_{1,0}^*}{(d_N + N_{1,0}^*)^2}, \frac{\delta^2 c_O^2 K_O (d_O(t\xi - 2) + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3} \right\}. \quad (3.105)$$

Se $d_N < 0$ e $\xi < 2 \frac{d_O}{t(d_O + K_O)}$, para $t > 0$ e $d_O \neq -K_O$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob a ausência de fármacos e considerando a existência de um movimento Browniano adaptado como um ruído adicional, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e convergente em relação às concentrações de algas e oxigênio*.

Em relação às covariâncias condicionais, determinou-se que:

$$\gamma_{\dot{X}, \dot{O}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{P}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{O}, \dot{P}} = \gamma_{\dot{P}, \dot{N}} = 0, \quad \gamma_{\dot{O}, \dot{N}} = \frac{c_N c_O K_O N_{1,0}^*}{(d_O + K_O)(d_N + N_{1,0}^*)}. \quad (3.106)$$

Se $\frac{c_N c_O}{(d_O + K_O)(d_N + N_{1,0}^*)} < 0$, para $K_O > 0$, $N_{1,0}^* > 0$, $d_O \neq -K_O$ e $d_N \neq -N_{1,0}^*$, então diz-se que a distribuição da *covariância condicional entre nitrogênio e oxigênio* no estado de quasi-equilíbrio é *convergente*.

S_2^0 - Capacidade suporte de algas e fósforo depletado

Para este ponto de equilíbrio foi determinado o seguinte conjunto de autovalores:

$$\Lambda(\text{Var}[S_2^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \frac{2\delta^2 c_N^2 d_N N_{2,0}^*}{(d_N + N_{2,0}^*)^3}, -\frac{\delta^2 c_O^2 K_O (d_O(t\xi - 2) + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3}, -2\delta c_X \Delta_1 \right\}, \quad (3.107)$$

tal que $\Delta_1 = \frac{((1 - t\delta)(1 + d_X)^2) + \delta c_X (t\delta + (t\delta - 1)d_X)}{(1 + d_X)^3}$. Se $\frac{d_N}{(d_N + N_{2,0}^*)} < 0$, $\xi > \frac{2d_O c_O^2 K_O \delta^2}{t(d_O + K_O)}$ e $\delta c_X \Delta_1 > 0$, para $d_N \neq -N_{2,0}^*$, $d_X \neq -1$, $d_O \neq -K_O$ e $t > 0$, então diz-se que a distribuição

da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob a ausência de fármacos e considerando a existência de um movimento Browniano adaptado como ruído adicional, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e convergente em relação à concentração de algas*.

Em relação às covariâncias condicionais, determinou-se que:

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \frac{c_O c_X K_O}{(1 + d_X)(K_O + d_O)}, \quad \gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \frac{c_N c_X N_{2,0}^*}{(1 + d_X)(d_N + N_{2,0}^*)}, \quad \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \frac{c_N c_O K_O N_{2,0}^*}{(d_O + K_O)(d_N + N_{2,0}^*)},$$

$$\gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \gamma_{\dot{P},\dot{N}} = \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = 0. \quad (3.108)$$

Se $\frac{c_N c_O}{(d_O + K_O)(d_N + N_{1,0}^*)} < 0$, $\frac{c_O c_X}{(1 + d_X)(K_O + d_O)} < 0$, $\frac{c_N c_X}{(1 + d_X)(d_N + N_{2,0}^*)} < 0$, para $K_O > 0$, $N_{2,0}^* > 0$, $d_X \neq -1$, $d_O \neq -K_O$ e $d_N \neq -N_{2,0}^*$, então diz-se que a distribuição da *covariância condicional entre nitrogênio e oxigênio, nitrogênio e algas, oxigênio e algas no estado de quasi-equilíbrio é convergente*.

S_3^0 - Capacidade suporte de algas, fósforo e nitrogênio depletados

Para este equilíbrio determinou-se o seguinte conjunto de autovalores:

$$\Lambda(\text{Var}[S_3^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, 0, -2\delta c_X \Delta_1, \frac{-\delta^2 c_O^2 K_O ((-2 + t\xi)d_O + t\xi d_O)}{(d_O + K_O)^3} \right\}. \quad (3.109)$$

Se $\delta c_X \Delta_1 > 0$ e $\frac{d_O(1 - t\xi)}{(d_O + K_O)^3} < 0$, para $d_O \neq -K_O$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob a ausência de fármacos e considerando a existência de um movimento Browniano adaptado como ruído adicional, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e convergente em relação às concentrações de algas e oxigênio*.

Em relação às covariâncias condicionais,

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \frac{c_O c_X K_O}{(1 + d_X)(K_O + d_O)}, \quad \gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \gamma_{\dot{P},\dot{N}} = \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = 0. \quad (3.110)$$

Se $\frac{c_O c_X}{(1 + d_X)(K_O + d_O)} < 0$, para $d_O \neq -K_O$ e $d_X \neq -1$, diz-se então que a distribuição da *covariância condicional entre algas e oxigênio no estado de quasi-equilíbrio é convergente*.

S_4^0 - Bioprocesso totalmente controlado (ausência de ruído)

Para o ponto de equilíbrio S_4^0 , que representa um cenário livre de ruídos ambientais, determinaram-se os seguintes autovalores:

$$\Lambda(\text{Var}[S_4^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ 2X_{4,0}^*(X_{4,0}^* - 1)(2X_{4,0}^* - 1), 0, 0, 0 \right\}. \quad (3.111)$$

Se $\frac{1}{2} < X_{4,0}^* < 1$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob a ausência de fármacos e considerando a existência de um movimento Browniano adaptado como ruído adicional, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação à concentração de algas e convergente em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio*.

Quanto às covariâncias do modelo perturbado, encontram-se os seguintes resultados:

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \frac{c_O K_O X_{4,0}^*}{(K_O + d_O)} \left(1 - X_{4,0}^* + \frac{c_X}{d_X + X_{4,0}^*} \right), \quad (3.112)$$

$$\gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \gamma_{\dot{P},\dot{N}} = \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = 0.$$

Se $\frac{c_O}{K_O + d_O} < 0$ e $1 + \frac{c_X}{d_X + X_{4,0}^*} > X_{4,0}^*$ ou $\frac{c_O}{K_O + d_O} > 0$ e $1 + \frac{c_X}{d_X + X_{4,0}^*} < X_{4,0}^*$, para $d_O \neq -K_O$ e $d_X \neq -X_{4,0}^*$, então diz-se que a distribuição da *covariância condicional entre algas e oxigênio* no estado de quasi-equilíbrio é *convergente*.

S_5^0 - Ausência de algas, fósforo e nitrogênio

Para o equilíbrio S_5^0 , em relação à variância condicional do modelo perturbado, determinaram-se os seguintes autovalores:

$$\Lambda(\text{Var}[S_5^0 | \mathcal{F}]) = \left\{ -\frac{\delta^2 c_O^2 K_O ((-2 + t\xi)d_O + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3}, 0, 0, 0 \right\}. \quad (3.113)$$

Se $\xi > \frac{2d_O}{t(d_O + K_O)}$, para $t > 0$ e $d_O \neq -K_O$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob ausência de fármacos e considerando a existência de um movimento Browniano como ruído adicional, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação à concentração algal e convergente em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio*. Quanto às covariâncias condicionais, determinou-se que:

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \gamma_{\dot{P},\dot{N}} = \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = 0. \quad (3.114)$$

Consequentemente, *não é possível fazer nenhuma afirmação sobre a estabilidade da distribuição das covariâncias condicionais do sistema*.

3.3.3.2 Presença de fármacos

S_1^1 - Equilíbrio livre de algas

Para o equilíbrio S_1^1 , os autovalores da matriz Jacobiana da variância condicional são:

$$\Lambda(\text{Var}[S_1^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \frac{2\delta^2 c_N^2 d_N N_{1,1}^*}{(d_N + N_{1,1}^*)^3}, \frac{\alpha_P \delta^2 \rho^2 c_P^2 (t\alpha_P + (2 + t\rho)d_P)}{(\alpha_P + \rho d_P)^3}, \frac{\delta^2 c_O^2 K_O ((2 - t\xi)d_O - t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3} \right\}. \quad (3.115)$$

Se $\frac{d_N}{(d_N + N_{1,1}^*)^3} < 0$, $\frac{1}{t} > -\left(\frac{\alpha_P}{2d_P} + \frac{\rho}{2}\right)$, $\xi > \frac{2d_O}{t(d_O + K_O)}$, para $d_O \neq -K_O$, $t > 0$, $d_P \neq 0$, $d_P \neq -\frac{\alpha_P}{\rho}$ e $d_N \neq -N_{1,1}^*$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema no estado de quasi-equilíbrio*, sob a presença de fármacos e considerando a existência de um ruído adicional do tipo movimento Browniano, é *parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração algal*.

Quanto às covariâncias, obteve-se os seguintes resultados:

$$\gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \frac{\alpha_P c_O c_P K_O}{(\alpha_P + \rho d_P)(d_O + K_O)}, \quad \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \frac{c_N c_O K_O N_{1,1}^*}{(d_O + K_O)(d_N + N_{1,1}^*)}, \quad \gamma_{\dot{N},\dot{P}} = \frac{\alpha_P c_N c_P N_{1,1}^*}{(\alpha_P + \rho d_P)(d_N + N_{1,1}^*)},$$

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = 0. \quad (3.116)$$

Se $c_O c_P (\alpha_P + \rho d_P)^{-1} (d_O + K_O)^{-1} < 0$, $c_O c_N (d_N + N_{1,1}^*)^{-1} (d_O + K_O)^{-1} < 0$ e $c_N c_P (\alpha_P + \rho d_P)^{-1} (d_N + N_{1,1}^*)^{-1} < 0$, para $d_N \neq -N_{1,1}^*$, $d_O \neq -K_O$, $d_P \neq -\alpha_P/\rho$, então diz-se que a distribuição da *covariância condicional do sistema é convergente para as covariâncias entre oxigênio e fósforo, oxigênio e nitrogênio, nitrogênio e fósforo*.

S_2^1 - Capacidade suporte de algas e nitrogênio depletado

$$\Lambda(\text{Var}[S_2^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \frac{\alpha_P \delta^2 \rho^2 c_P^2 (t\alpha_P + (2 + t\rho)d_P)}{(\alpha_P + \rho d_P)^3}, \Delta_2, -\frac{\delta^2 c_O^2 K_O ((-2 + t\xi)d_O + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3} \right\}, \quad (3.117)$$

para $\Delta_2 = \frac{2\delta c_X ((t\delta - 1)(1 + d_X)^2 - \delta c_X (\delta t + (t\delta - 1)d_X))}{(1 + d_X)^3}$. Se $\frac{1}{t} > -\left(\frac{\alpha_P}{2d_P} + \frac{\rho}{2}\right)$, $\xi > \frac{2d_O}{t(d_O + K_O)}$, $c_X \delta > 0$ e $(t\delta - 1)(1 + d_X) > c_X \delta^2 t + d_X (1 + d_X)^{-1} < 0$ ou $c_X \delta < 0$ e $(t\delta - 1)(1 + d_X) > c_X \delta^2 t + d_X (1 + d_X)^{-1} < 0$, para $d_O \neq -K_O$, $t > 0$, $d_P \neq 0$, $d_P \neq -\frac{\alpha_P}{\rho}$ e $d_X \neq -1$, então diz-se que a distribuição da *variância condicional do sistema é parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas*.

Quanto às covariâncias condicionais, obteve-se:

$$\gamma_{\dot{X},\dot{O}} = \frac{c_O c_X K_O}{(1 + d_X)(K_O + d_O)}, \quad \gamma_{\dot{X},\dot{P}} = \frac{\alpha_P c_P c_X}{(\alpha_P + \rho d_P)(1 + d_X)}, \quad \gamma_{\dot{O},\dot{P}} = \frac{\alpha_P c_P c_O K_O}{(\alpha_P + \rho d_P)(K_O + d_O)},$$

$$\gamma_{\dot{X},\dot{N}} = \gamma_{\dot{O},\dot{N}} = \gamma_{\dot{P},\dot{N}} = 0. \quad (3.118)$$

Se $\gamma_{\dot{X},\dot{O}}/K_O < 0$, $\gamma_{\dot{X},\dot{P}}/\alpha_P < 0$ e $\gamma_{\dot{O},\dot{P}}/(\alpha_P K_O) < 0$, para $d_X \neq -1$, $d_O \neq -K_O$, $d_P \neq -\alpha_P/\rho$, então diz-se que a distribuição das *covariâncias condicionais entre algas e oxigênio, algas e fósforo, oxigênio e fósforo é convergente*.

S_3^1 - Ausência de algas e nitrogênio converge para constante não nula

Para o ponto de equilíbrio S_3^1 foram calculados os seguintes autovalores da matriz Jacobiana associada às variâncias condicionais:

$$\Lambda(\text{Var}[S_3^1 | \mathcal{F}]) = \left\{ 0, \Delta_3, \frac{\alpha_P \delta^2 \rho^2 c_P^2 (t\alpha_P + (2 + t\rho)d_P)}{(\alpha_P + \rho d_P)^3}, -\frac{\delta^2 c_O^2 K_O ((-2 + t\xi)d_O + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3} \right\}, \quad (3.119)$$

sendo $\Delta_3 = \frac{\Delta_4}{\Delta_5}$, $\Delta_4 = 2\delta^3 c_N^2 d_N K_N (K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)(\delta K_O(\alpha_P - \rho K_P) + K_{i_O}(\delta \rho K_P + \alpha_P(\delta + \mu_{max})))^2$ e $\Delta_5 = (\delta K_N(K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P) + d_N(\delta K_O(\alpha_P - \rho K_P) + K_{i_O}(\delta \rho K_P + \alpha_P(\delta + \mu_{max}))))^3$.

Se $\frac{1}{t} > -\left(\frac{\alpha_P}{2d_P} + \frac{\rho}{2}\right)$, $\xi > \frac{2d_O}{t(d_O + K_O)}$, $d_N K_N \Delta_5^{-1} < 0$, para $d_O \neq -K_O$, $t > 0$, $d_P \neq 0$, $d_P \neq -\frac{\alpha_P}{\rho}$ e $\Delta_5 \neq 0$, então diz-se que a distribuição da variância condicional do sistema é parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de oxigênio, fósforo e nitrogênio e converge em relação à concentração de algas.

Quanto às covariâncias condicionais, determinaram-se os seguintes resultados:

$$\begin{aligned} \gamma_{\dot{O}, \dot{P}} &= \frac{\alpha_P c_O c_P K_O}{(\alpha_P + \rho d_P)(d_O + K_O)}, \quad \gamma_{\dot{O}, \dot{N}} = \frac{\delta c_N c_O K_N K_O (K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)}{(d_O + K_O)\Delta_6}, \\ \gamma_{\dot{P}, \dot{N}} &= \frac{\alpha_P \delta c_N c_P K_N (K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P)}{(\alpha_P + \rho d_P)\Delta_6}, \quad \gamma_{\dot{X}, \dot{O}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{P}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{N}} = 0, \end{aligned} \quad (3.120)$$

para $\Delta_6 = (\delta K_N(K_{i_O} + K_O)(\alpha_P - \rho K_P) + d_N(\delta K_O(\alpha_P - \rho K - P) + K_{i_O}(\delta \rho K_P + \alpha_P(\delta + \mu_{max}))))$. Se $\gamma_{\dot{O}, \dot{P}}/(c_O c_P) < 0$, $\gamma_{\dot{O}, \dot{N}}/(c_N c_O)$ e $\gamma_{\dot{P}, \dot{N}}/(c_N c_P) < 0$, para $d_O \neq -K_O$, $d_P \neq -\alpha_P/\rho$, $\Delta_6 \neq 0$, então diz-se que a distribuição das covariâncias condicionais entre oxigênio e fósforo, oxigênio e nitrogênio, fósforo e nitrogênio é convergente.

S_4^1 - Bioprocesso totalmente controlado (ausência de ruídos)

No caso do bioprocesso ser totalmente controlado, ao adicionar um ruído, os autovalores da matriz Jacobiana associada à matriz de variâncias são:

$$\Lambda(\text{Var}[S_4^1 | \mathcal{F}]) = \{0, 0, 0, 2X_{4,1}^*(X_{4,1}^* - 1)(2X_{4,1}^* - 1)\}. \quad (3.121)$$

Se $\frac{1}{2} < X_{4,1}^* < 1$, então diz-se que a distribuição da variância condicional do sistema é parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação à concentração de nitrogênio e converge para as demais variáveis.

Para as covariâncias condicionais, encontraram-se:

$$\begin{aligned} \gamma_{\dot{X}, \dot{O}} &= \frac{c_O K_O X_{4,1}^*}{d_O + K_O} \Delta_7, \quad \gamma_{\dot{X}, \dot{P}} = \frac{\alpha_P c_P X_{4,1}^*}{\alpha_P + \rho d_P} \Delta_7, \quad \gamma_{\dot{O}, \dot{P}} = \frac{\alpha_P c_O c_P K_O}{(\alpha_P + \rho d_P)(d_O + K_O)}, \\ \gamma_{\dot{X}, \dot{N}} &= \gamma_{\dot{O}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{P}, \dot{N}} = 0, \end{aligned} \quad (3.122)$$

para $\Delta_7 = \left(1 - X_{4,1}^* + \frac{c_X}{d_X + X_{4,1}^*}\right)$. Se $c_O(d_O + K_O)^{-1} < 0$, $c_P(\alpha_P + \rho d_P)^{-1} < 0$ e $X_{4,1}^* > 1 + c_X(d_X + X_{4,1}^*)$ ou $c_O(d_O + K_O)^{-1} > 0$, $c_P(\alpha_P + \rho d_P)^{-1} > 0$ e $X_{4,1}^* < 1 + c_X(d_X + X_{4,1}^*)$, para $d_X \neq -X_{4,1}^*$, $d_O \neq -K_O$, $d_P \neq -\alpha_P/\rho$, diz-se então que a distribuição das covariâncias condicionais entre algas e oxigênio, algas e fósforo, oxigênio e fósforo é convergente.

S_5^1 - Ausência de algas e de nitrogênio

Por fim, para o ponto S_5^1 ,

$$\Lambda(\text{Var}[S_5^1 | \mathcal{F}]) = \left\{0, 0, \frac{\alpha_P \delta^2 \rho^2 c_P^2 (t\alpha_P + (2 + t\rho)d_P)}{(\alpha_P + \rho d_P)^3}, -\frac{\delta^2 c_O^2 K_O ((-2 + t\xi)d_O + t\xi K_O)}{(d_O + K_O)^3}\right\}. \quad (3.123)$$

Se $\frac{1}{t} > -\left(\frac{\alpha_P}{2d_P} + \frac{\rho}{2}\right)$ e $\xi > \frac{2d_O}{t(d_O + K_O)}$, para $t > 0$, $d_P \neq -\alpha_P/\rho$, $d_P \neq 0$, $d_O \neq -K_O$, então diz-se que a distribuição da variância condicional do sistema é parcialmente assintoticamente exponencialmente estável em relação às concentrações de fósforo e nitrogênio e convergente em relação às concentrações de algas e oxigênio.

Quanto às covariâncias,

$$\gamma_{\dot{X}, \dot{O}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{O}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{P}, \dot{N}} = \gamma_{\dot{X}, \dot{P}} = 0, \gamma_{\dot{O}, \dot{P}} = \frac{\alpha_P c_O c_P K_O}{(\alpha_P + \rho d_P)(d_O + K_O)}, \quad (3.124)$$

diz-se que a distribuição da covariância condicional entre oxigênio e fósforo é convergente se $\gamma_{\dot{O}, \dot{P}}/(\alpha_P K_O) < 0$.

Em suma, resume-se nas Tabelas 1, 2 e 3 as classificações dos pontos de equilíbrio apresentados nos Teoremas (3.4) e (3.5) quanto às abordagens I, II e III, de acordo com seus respectivos parâmetros de bifurcação (parâmetros que mudam a estabilidade do ponto de equilíbrio).

Tabela 1 – Análise de estabilidade para abordagem I.

Grupo	Equilíbrio	Estabilidade		
		Local	Parcial	Bifurcação
$G = 0$	S_1^0	-	O, P, N	δ, ξ e ρ
	S_2^0	-	O, P, N	δ, ξ e ρ
	S_3^0	-	O, P, N	δ, ξ e ρ
	S_4^0	-	O, P	δ e ρ
	S_5^0	-	O, P, N	δ, ξ e ρ
$G = 1$	S_1^1	-	O, P, N	δ, ξ, α_P e ρ
	S_2^1	X, O, P, N	-	δ, ξ, α_P e ρ
	S_3^1	-	P, N	ξ e ρ
	S_4^1	-	X, O, N	ξ, α_P e ρ
	S_5^1	-	O, P, N	δ, ξ e ρ

Tabela 2 – Análise de estabilidade (parcial) para abordagem II.

Grupo	Equilíbrio	Esperança		Variância	
		Estabilidade	Bifurcação	Estabilidade	Bifurcação
$G = 0$	S_1^0	P, N	$\xi e \rho$	-	-
	S_2^0	P, N	$\xi e \rho$	-	-
	S_3^0	P, N	$\xi e \rho$	-	-
	S_4^0	P, N	$\xi e \rho$	N	$X_{4,0}^*$
	S_5^0	P, N	$\xi e \rho$	-	-
$G = 1$	S_1^1	O, P, N	$\alpha_P, \xi e \rho$	-	-
	S_2^1	O, P, N	$\alpha_P, \xi e \rho$	-	-
	S_3^1	O, P, N	$\delta, \xi e \rho$	-	-
	S_4^1	O, P, N	$\alpha_P, \xi e \rho$	N	$X_{4,1}^*, \alpha_P, \rho$
	S_5^1	O, P, N	$\xi e \rho$	-	-

Tabela 3 – Análise de estabilidade (parcial) para abordagem III.

Grupo	Equilíbrio	Variância			Covariância	
		Estabilidade	Bifurcação	Estabilidade	Bifurcação	
$G = 0$	S_1^0	P, N	d_N, d_O, ξ	N, O	d_N, d_O	
	S_2^0	O, P, N	d_N, d_O, d_X, δ	N, O, X	d_N, d_O, d_X	
	S_3^0	P, N	d_O, d_X, δ	O, X	d_X, d_O	
	S_4^0	X	$X_{4,0}^*$	O, X	d_X, d_O	
	S_5^0	X	d_O, ξ	-	-	
$G = 1$	S_1^1	O, P, N	d_N, d_O, α_P, ρ	O, N, P	$d_N, d_P, d_O, \alpha_P, \rho$	
	S_2^1	O, P, N	$d_P, d_X, d_O, \alpha_P, \rho$	O, N, X	$d_X, d_P, d_O, \alpha_P, \rho$	
	S_3^1	O, P, N	$d_P, d_N, d_O, \alpha_P, \rho$	O, N, P	$\delta, d_P, d_O, \alpha_P, \rho$	
	S_4^1	N	$X_{4,1}^*$	N	$d_X, d_P, d_O, \alpha_P, \rho$	
	S_5^1	P, N	α_P, d_P, ρ, d_O	O, P	α_P, d_P, ρ, d_O	

3.4 Representatividade do modelo proposto

A partir das análises apresentadas neste capítulo, mostrou-se que o Modelo (3.19) possui soluções não-negativas e limitadas em tempo finito. Adicionalmente, as análises estatísticas de suas propriedades permitiram conhecer as condições paramétricas em que o sistema se estabiliza, na presença e ausência de ruídos ambientais. Os resultados destas análises mostram que o Modelo (3.17), o qual tem as mesmas propriedades do Modelo (3.19), possui potencial para ser utilizado na descrição da biorremediação de um efluente por um consórcio algal e auxiliar gestores nas operações, controle e tomadas de decisões. Neste sentido, o modelo proposto foi validado analiticamente.

Para realização de testes computacionais, para a visualização da dinâmica do bioprocessamento a partir das trajetórias das variáveis de estado do Modelo (3.17), é necessário obter valores para os parâmetros deste sistema em determinadas condições específicas. Neste contexto, o Capítulo 4 destina-se ao tratamento e análise estatística de um conjunto de dados obtidos em experimentos laboratoriais, para que, no Capítulo 5, a estimação de parâmetros do modelo proposto nesta tese possa ser realizada.

4 Análise de Dados de Biorremediação

O Sistema de Equações Diferenciais Ordinárias Estocásticas (3.17) é um novo modelo matemático proposto para descrever a biorremediação de um efluente doméstico pela ação de microalgas, o qual se baseia no balanço de fluxo mássico dos componentes materiais do fotobiorreator onde o bioprocessamento é carreado. Para utilização deste novo modelo, os parâmetros do Sistema (3.17) devem ser estimados. Desta forma, propõe-se neste trabalho que a determinação deste parâmetros seja realizada a partir de dados referentes à biorremediação de um efluente doméstico em batelada. Todavia, é imprescindível que seja feito o tratamento dos dados e as análises das propriedades das variáveis do conjunto, a fim de propor a melhor estratégia para ajustar os parâmetros do Modelo.

Este Capítulo destina-se ao tratamento e à análise de um conjunto de dados experimentais. A descrição do conjunto de dados e as metodologias empregadas para a análise de dados são descritas nas seções a seguir. Todas as implementações computacionais apresentadas neste e em outros Capítulos foram realizadas com o apoio do *software R* (R Core Team, 2019), utilizando um computador pessoal Core i5, 8ª Geração, com 8 GB de memória e 256 GB SSD.

4.1 Conjunto de Dados

O conjunto de dados utilizado neste trabalho foi fornecido pela Doutora Anna Patrícia Florentino e pelo Professor Doutor Gustavo Henrique Ribeiro da Silva, do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, da Faculdade de Engenharia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Bauru, Bauru, São Paulo, Brasil. Os dados referem-se ao cultivo da microalga verde *Chlorella sorokiniana* em quatro diferentes condições ambientais (Grupos 0, I, II e III), com dois tratamentos cada (ausência (I) e presença de fármacos (II)), para avaliar o seu poder biorremediador.

Todos os experimentos foram realizados em fotobiorreatores em modo de condução batelada e em triplicata, totalizando 24 unidades experimentais. Para cada batelada de um tratamento dos grupos descritos, foram coletadas no mínimo quatro observações de 52 variáveis, sendo elas numéricas (50) e categóricas (2), em períodos de tempo não igualmente espaçados.

Todas as análises neste trabalho se referem às variáveis numéricas do conjunto de dados

fornecido. Especificamente, analisa-se aqui aquelas variáveis observadas no Grupo III, em que a alga *Chlorella sorokiniana* foi previamente adaptada a um efluente estéril e foi cultivada em um efluente doméstico sob uma fonte de luz constante, na ausência (Grupos III-I) e na presença de fármacos (III-II). Os Grupos III-I e III-II serão denominados, daqui em diante, de Grupo A e Grupo B, respectivamente.

As variáveis do conjunto de dados são referentes às mensurações de tempo, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, séries de fósforo, séries de nitrogênio, contagem de células, concentração de clorofila e gravimetria celular. Todavia, alguns problemas com a estrutura do conjunto de dados foram detectados, a saber, dados omissos ou não observados e erros de medição, provavelmente devido à calibração de instrumentos laboratoriais.

4.2 Análise dos Dados

Após remover as variáveis redundantes e aquelas com grandes quantidades de dados omissos, o conjunto de dados foi reduzido para 12 variáveis, das quais 10 são quantitativas, a saber, tempo de operação da biorremediação (t), pH, densidade óptica (Dens), concentrações de oxigênio dissolvido no reator (O), P total (P), N total (N), NO_3^- (NO_3), nitrogênio total Kjeldahl (NTK), clorofila-a (Chla) e de células algais (X).

Apresenta-se na Tabela 4 as medidas resumo (valores mínimo e máximo, média, mediana, primeiro e terceiro quantis) das variáveis selecionadas para representar o conjunto de dados, para ambos os Grupos A e B, assim como suas unidades de medida.

Analisando exploratoriamente as informações contidas na Tabela 4, pode-se dizer que as distribuições das variáveis pH, O, Dens, P, N, NO_3 , NTK, Chla e X tendem a ser assimétricas, isto é, a média não é uma boa estatística para representar estas variáveis, pois há uma distância significativa entre os valores das médias e das medianas destas variáveis. Comparando-se as medianas de cada grupo em cada variável, pode-se dizer também que a presença de fármacos no efluente pode influenciar no aumento dos valores de pH, O, Dens, N, NTK, Chla e X, e no decréscimo dos valores de P.

Há suspeitas então de que a presença de fármacos no cultivo de *C. sorokiniana* em efluentes domésticos tem efeitos na diminuição da concentração de fósforo. Este efeito pode ser estimado com auxílio do Modelo (3.17), cujos parâmetros foram estimados a partir de um conjunto de dados, como descrito na Seção 5.

A fim de investigar outras propriedades do conjunto de dados, apresenta-se a seguir uma análise de colinearidade entre as variáveis resposta (pH, O, Dens, N, NTK, Chla, X e P). As relações entre as variáveis resposta e a variável t são tratadas no Capítulo 5.

Tabela 4 – Medidas resumo das variáveis numéricas observadas nos Grupos A e B

Variável	Unidade	Grupo	Mín.	1º Q.	Mediana	Média	3º Q.	Máx
t	dias	A	0.00	2.00	4.00	4.20	7.00	8.00
		B	0.00	2.00	4.00	4.20	7.00	8.00
pH	-	A	6.85	7.48	7.98	7.75	8.17	8.26
		B	6.87	7.92	8.25	7.94	8.27	8.34
O	mg l ⁻¹	A	1.98	5.01	6.13	5.34	6.61	6.97
		B	1.55	6.05	6.99	5.97	7.24	7.69
Dens	-	A	0.00	0.02	0.27	0.35	0.64	0.87
		B	0.01	0.18	0.38	0.48	0.86	1.06
P	mg l ⁻¹	A	2.43	2.76	4.18	4.23	5.15	6.41
		B	1.55	2.26	2.75	3.57	3.55	9.33
N	mg l ⁻¹	A	2.14	3.16	13.30	18.25	31.60	40.60
		B	2.64	2.88	14.40	17.36	26.85	42.50
NO3	mg l ⁻¹	A	0.94	1.59	2.14	2.95	4.56	5.60
		B	0.72	1.00	1.76	2.78	4.91	5.66
NTK	mg l ⁻¹	A	1.20	1.75	11.10	15.29	27.05	35.00
		B	1.43	1.95	12.80	14.59	21.95	37.20
Chla	mg l ⁻¹	A	0.05	0.32	1.34	1.70	3.18	4.22
		B	0.05	0.83	1.50	2.12	3.39	5.77
X	10 ⁶ células l ⁻¹	A	0.22	1.79	5.99	6.63	12.50	13.00
		B	0.22	2.25	8.98	8.82	16.00	16.50

4.2.1 Colinearidade

Apesar de algumas variáveis terem sido removidas do conjunto de dados por serem utilizadas para a determinação de outras, pode ainda existir neste conjunto algumas variáveis que apresentem relações lineares fortes umas com as outras. Deste modo, é preciso investigar a existência de tais relações e quantificá-las, para evitar possíveis problemas na estimação dos parâmetros.

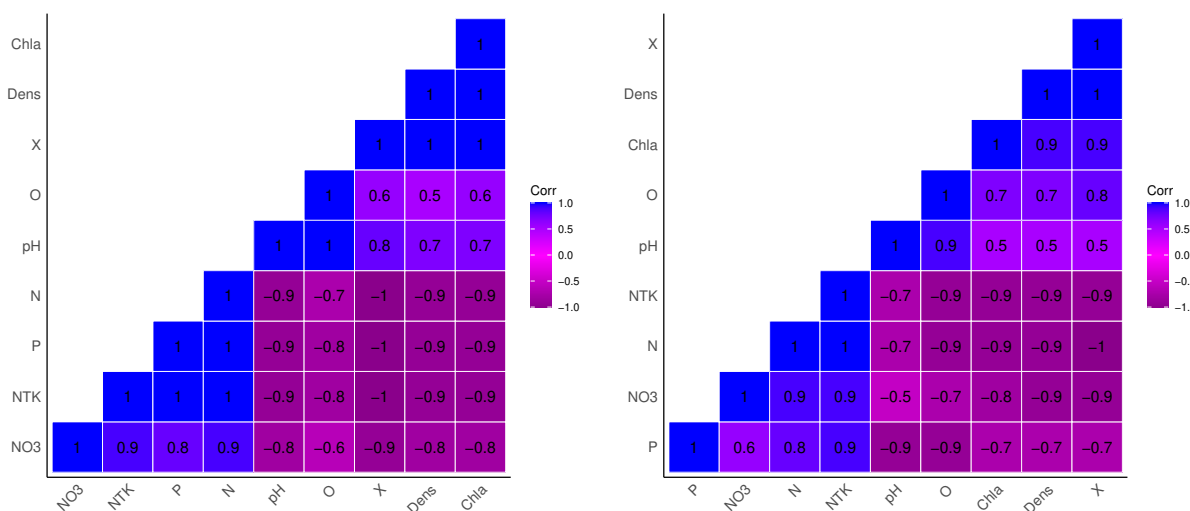
Para investigar a existência de relações lineares entre variáveis, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre pares de variáveis. De acordo com [Rodgers e Nicewander \(1988\)](#) e [Draper e Smith \(1998\)](#), o coeficiente de correlação linear r entre duas variáveis aleatórias contínuas Y_1 e Y_2 , com variância finita, é calculado como:

$$r = r_{Y_1, Y_2} = \frac{\text{Cov}[Y_1, Y_2]}{\sqrt{\text{Var}[Y_1] \text{Var}[Y_2]}}. \quad (4.1)$$

Segundo [Draper e Smith \(1998\)](#), o coeficiente de correlação linear r é uma quantidade limitada, tal que $r \in [-1, 1]$. Quando o valor de r se aproxima de 1, diz-se que existe forte correlação linear e positiva entre as variáveis Y_1 e Y_2 . Em outras palavras, quando os valores de Y_1 aumentam (ou diminuem), espera-se que Y_2 aumente (ou diminua) linearmente em relação a Y_1 . Por outro lado, quando r se aproxima de -1, espera-se que o crescimento em uma variável implique no decréscimo linear da outra. Já quando o valor de r é próximo de zero, diz-se que

não há correlação linear entre as variáveis, ou que a relação linear entre elas é muito fraca ou inexistente.

Apresentam-se na Figura 2 os valores calculados para os coeficientes de correlação das variáveis resposta observadas nos Grupos A (Figura 2a) e B (Figura 2b) na forma de correlograma.



(a) Grupo A.

(b) Grupo B.

Figura 2 – Correlograma das variáveis numéricas dos Grupos A e B.

Analisando os valores dos coeficientes de correlação linear no Grupo A, nota-se que a concentração celular, a concentração de clorofila-a e a densidade óptica, duas a duas, possuem correlação linear forte e positiva entre si, $r = 1.0$, ao passo que, no Grupo B, há uma leve diminuição no coeficiente de correlação linear entre estas variáveis, $r = 0.9$. Ainda que a presença de fármacos provoque uma diminuição do efeito linear entre estas variáveis, a relação linear entre densidade óptica e concentração celular é esperada, uma vez que a densidade óptica é uma medida física utilizada para a estimação da concentração celular em diversos experimentos biotecnológicos (NUNES et al., 2020).

Para calcular a concentração de clorofila-a, as técnicas mais empregadas consideram uma combinação linear de densidades ópticas com diferentes comprimentos de onda, tais como 540 nm, 664 nm e 750 nm (SLOMPO et al., 2020; SINGH et al., 2016). Deste modo, é natural que haja correlação linear alta e positiva entre as variáveis concentração de clorofila-a e densidade óptica.

O coeficiente de correlação entre a concentração de oxigênio dissolvido e o pH do meio de cultura foi alto e positivo em ambos os grupos, tendo uma maior relação linear em A ($r = 1.0$) em comparação com B ($r = 0.9$). Diversos estudos, como os apresentados por Zang et al. (2011) e Wallace, Champagne e Hall (2016), relatam correlações altas e positivas para variáveis pH e O devido à natureza dos processos químicos envolvidos no crescimento de uma cultura autotrófica.

Por outro lado, em ambos os grupos, as concentrações totais de N, P, NO_3^- e NTK apresentaram coeficientes de correlação linear altos e negativos em relação à concentração algal. A concentração destes compostos diminui à medida que a concentração de algas aumenta, já que fósforo e nitrogênio são elementos químicos intrínsecos para a constituição celular e para a manutenção da homeostase, evidenciando o poder de recuperação de nutrientes que as algas possuem.

Visto que existem fortes evidências de uma relação linear entre algumas variáveis do conjunto de dados, propõe-se o ajuste de modelos de regressão linear para quantificar tal relação. A descrição dos modelos lineares e a metodologia utilizada para o ajuste deles está descrita na próxima subseção.

4.2.2 Modelos de Regressão Linear

De acordo com a Figura 2, pode-se observar que diversas variáveis possuem relações lineares fortes entre si. Deste modo, esta subseção destina-se a investigar mais a fundo as relações entre pH e O, concentrações algal e de clorofila e as concentrações de nitrogênio total, NTK e NO_3^- .

Sejam Z uma matriz de dimensões $n \times p$, da forma,

$$Z = \begin{bmatrix} 1 & z_{11} & \dots & z_{1(p-1)} \\ 1 & z_{21} & \dots & z_{2(p-1)} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & z_{n1} & \dots & z_{n(p-1)} \end{bmatrix} \quad (4.2)$$

em que z_{ij} se refere à observação i da variável z_j , sendo $i = 1, 2, \dots, n$ e $j = 1, 2, \dots, p - 1$, e Y um vetor de n observações de uma variável resposta. Baseando-se em Draper e Smith (1998), um modelo de regressão linear é descrito por

$$Y = Z\beta + \varepsilon, \quad (4.3)$$

em que β é um vetor de parâmetros da regressão, da forma

$$\beta^T = [\beta_0 \quad \beta_1 \quad \dots \quad \beta_{p-1}], \quad (4.4)$$

em que T indica a transposta de um vetor ou matriz e ε é o vetor de erros do ajuste, o qual representa a diferença entre os valores observados (Y_{obs}) e os estimados pelo modelo (Y_{est}), sendo

$$Y_{est} = Z\hat{\beta}, \quad (4.5)$$

tal que $\hat{\beta}$ é um vetor de mesma dimensão de β e que contém os estimadores de β . Para realizar a estimação deste último vetor, vários métodos podem ser empregados dependendo da estrutura

dos dados utilizados. Aqui, a estimação do vetor de parâmetros β é realizada por meio do Método dos Mínimos Quadrados, que visa resolver o seguinte problema:

$$\min_{\beta} \varepsilon^T \varepsilon = (Y_{obs} - Z\beta)^T (Y_{obs} - Z\beta), \quad (4.6)$$

ou seja, determinar β que minimize a Equação (4.6). Se $Z^T Z$ for uma matriz inversível, então a solução $\beta = \hat{\beta}$ que minimiza a Equação (4.6) é

$$\hat{\beta} = (Z^T Z)^{-1} Z^T Y_{obs}. \quad (4.7)$$

Para mais detalhes sobre a determinação de $\hat{\beta}$, veja [Draper e Smith \(1998\)](#).

4.2.2.1 Relação entre pH e oxigênio dissolvido

O pH no meio de cultura pode ser explicado como uma função linear do concentração de oxigênio dissolvido no biorreator, já que o coeficiente de correlação linear entre estas duas variáveis é 1.0 no Grupo A e 0.9 no Grupo B. Para quantificar a relação linear entre estas variáveis, propõe-se descrever o comportamento da variável pH por meio da concentração de oxigênio dissolvido O . Interessa-se também em avaliar o efeito da presença de fármacos no meio de cultura e, para isto, inclui-se na regressão o efeito de grupo, expresso pela variável G , definida na Equação (3.10).

O modelo de regressão proposto aqui para descrever o comportamento do pH no fotobiorreator em função da concentração de oxigênio dissolvido para os Grupos A e B é apresentado na Equação (4.8),

$$pH = \beta_0 + \beta_1 O + \beta_G G + \varepsilon, \quad (4.8)$$

em que β_0 é o intercepto do modelo, β_1 é o coeficiente angular da reta de regressão, que mede o efeito de O para explicar a variação de pH , e β_G é o parâmetro que mede o efeito da presença de fármacos no reator. As estimativas dos coeficientes do Modelo (4.8), assim como seus erros padrões, a significância das estimações ao nível de 5% (Valor-p) e a estatística R^2 ajustado (R_{aj}^2) são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Medidas resumo do Modelo (4.8) ajustado aos Grupos A e B

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	Valor-p	R_{aj}^2
β_0	6.4273	0.1096	$< 2 \times 10^{-16}$	0.8934
β_1	0.2480	0.0181	3.09×10^{-12}	
β_G	0.1023	0.0722	0.1700	

Analisando as estimativas de β_0 , afirma-se que, em média, a presença de fármacos no meio de cultura acarretou em um aumento no pH de 0.1023 unidades em relação ao tratamento controle

(ausência de fármacos). Em outras palavras, quando a concentração de oxigênio dissolvido no meio é nula, espera-se que o pH do Grupo B seja 0.0331 unidades superior ao do Grupo A, isto é, o Grupo B tende a ser mais alcalino que o Grupo A. Além disso, o Modelo (4.8) consegue explicar 89.34% da variabilidade do pH a partir de informações de oxigênio dissolvido no meio de cultura, ou seja, é possível realizar boas estimativas do comportamento do pH através da variação da concentração de oxigênio dissolvido.

Portanto, a fim de evitar problemas de multicolinearidade, a variável pH será removida do conjunto de dados e sua dinâmica pode ser analisada a partir do comportamento da variável O .

4.2.2.2 Relação entre concentrações de clorofila-a e células

Como discutido na seção anterior, a concentração celular (X) e a concentração de clorofila-a ($Chla$) são determinadas a partir de combinações lineares de densidades ópticas (SINGH et al., 2016). Assim, para evitar futuros problemas de multicolinearidade, a variável $Dens$ será removida do conjunto de dados. Altos coeficientes de correlação linear entre $Chla$ e X foram observados e, por este motivo, propõe-se o modelo de regressão linear a seguir, apresentado na Equação (4.9), a fim de expressar o comportamento da variável $Chla$ por meio da variável X .

Analogamente ao Modelo (4.8), interessa-se também em quantificar a influência da presença de fármacos dissolvidos no biorreator para a variação da concentração de clorofila-a e isto é realizado adicionando-se a variável G , definida anteriormente, ao modelo de regressão:

$$Chla = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_G G + \varepsilon, \quad (4.9)$$

em que os coeficientes β_0 , β_1 e β_G se referem ao intercepto do modelo, à inclinação da reta de regressão e ao efeito dos tratamentos (ausência e presença de fármacos). Apresentam-se na Tabela 6 as medidas resumo do ajuste do Modelo (4.9):

Tabela 6 – Medidas resumo do Modelo (4.9) ajustado aos Grupos A e B

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	Valor-p	R_{aj}^2
β_0	0.0841	0.1416	0.5579	
β_1	0.2433	0.0136	8.61×10^{-16}	0.9224
β_G	-0.3586	0.1631	0.0374	

Analisando as medidas resumo do ajuste do Modelo (4.9) aos dados de clorofila-a, espera-se que haja, em média, um decréscimo de 0.3586 mg l^{-1} de clorofila-a nas células cultivadas no efluente doméstico com fármacos dissolvidos, em comparação ao grupo controle. Observando os valores-p calculados e R_{aj}^2 , pode-se dizer que o Modelo (4.9) consegue explicar 92.24% da variabilidade da concentração de clorofila-a nos experimentos realizados por meio

das informações fornecidas pela variável X . Neste sentido, o Modelo (4.9) representa uma boa alternativa para prever a concentração de clorofila-a através da concentração algal e a variável $Chla$ pode ser removida do conjunto de dados em futuras análises.

Por fim, dado que os coeficientes de regressão para o ajuste de $Chla$ em relação à concentração celular foram estimados, a Equação (4.9) pode ser reescrita como

$$Chla(t) = 0.0841 + 0.2433X(t) - 0.3586G. \quad (4.10)$$

4.2.2.3 Relação entre os diferentes compostos nitrogenados

Por fim, a relação entre nitrogênio total, NTK e nitrato, segundo Mota e Sperling (2009), quando se refere a experimentos de biorremediação por algas, é:

$$N_{total} = NTK + NO_2^- + NO_3^-, \quad (4.11)$$

sendo NTK equivalente à soma do nitrogênio orgânico, que é formado predominantemente no esgoto doméstico, e da amônia (NH_3). A relação apresentada na Equação (4.11) justifica o ajuste perfeito ($R_{aj}^2 = 1$) do Modelo:

$$N = \beta_0 + \beta_1 NTK + \beta_2 NO_3 + \beta_G G + \varepsilon, \quad (4.12)$$

sendo N , NTK e NO_3 as variáveis que representam as concentrações de nitrogênio total, NTK e NO_3^- , respectivamente, β_0 é o intercepto deste modelo, β_1 e β_2 são os coeficientes angulares que representam a influência das concentrações de NTK e NO_3^- na explicação da variação do nitrogênio total e β_G representa o efeito do grupo, G . Apresentam-se na Tabela 7 as medidas resumo para Modelo (4.12):

Tabela 7 – Medidas resumo do Modelo (4.12) ajustado aos Grupos A e B

Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	Valor-p	R_{aj}^2
β_0	0.0171	0.0089	0.0675	1.0000
β_1	1.0011	0.0007	$< 2 \times 10^{-16}$	
β_2	0.9909	0.0051	$< 2 \times 10^{-16}$	
β_G	-0.0188	0.0080	0.0272	

Analisando as estimativas dos parâmetros da regressão na Tabela 7, é possível afirmar que, em média, a presença de fármacos no meio de cultura acarretou na diminuição da concentração de nitrogênio total em 0.0188 mg l^{-1} no Grupo B em relação ao Grupo A. Além disto, ao explicar NO_3 e NTK por meio da concentração de nitrogênio total, os seguintes modelos foram determinados:

$$NO_3 = 0.8092 + 0.1152N, \quad (4.13)$$

$$NTK = -0.8083 + 0.8848N, \quad (4.14)$$

nos quais todos os valores-p foram menores que 0.05 e coeficientes R_{aj}^2 iguais a 0.8525 e 0.9971, nesta ordem. Neste sentido, pode-se dizer que a variável N consegue explicar grande parte da variabilidade das concentrações de nitrato (85.25%) e nitrogênio total Kjeldahl (99.71%) e, devido a isto, as variáveis NO_3 e NTK serão removidas do conjunto de dados.

Em suma, as análises de regressão permitiram avaliar e quantificar as relações lineares entre pH e O, Chla e X e as diferentes formas de oxidação do nitrogênio, auxiliando na determinação de possíveis fontes de multicolinearidade. Para o desenvolvimento das próximas seções e capítulos, considere que o conjunto de dados é formado pelas concentrações de oxigênio dissolvido, células algais, nitrogênio total e fósforo total.

4.2.3 Análises de Homocedasticidade

É interessante, dos pontos de vista do planejamento e do controle de um bioprocessos, descrever as variáveis O , P , N e X em relação ao tempo de biorremediação, pois assim é possível propor estratégias de controle e otimização, além de estimar o tempo necessário para, por exemplo, consumir todo o fósforo e o nitrogênio presentes no efluente. A fim de verificar a existência de uma relação temporal entre as variáveis O , P , N e X , apresenta-se na Figura 3 seus diagramas de dispersão em relação ao tempo do bioprocessos.

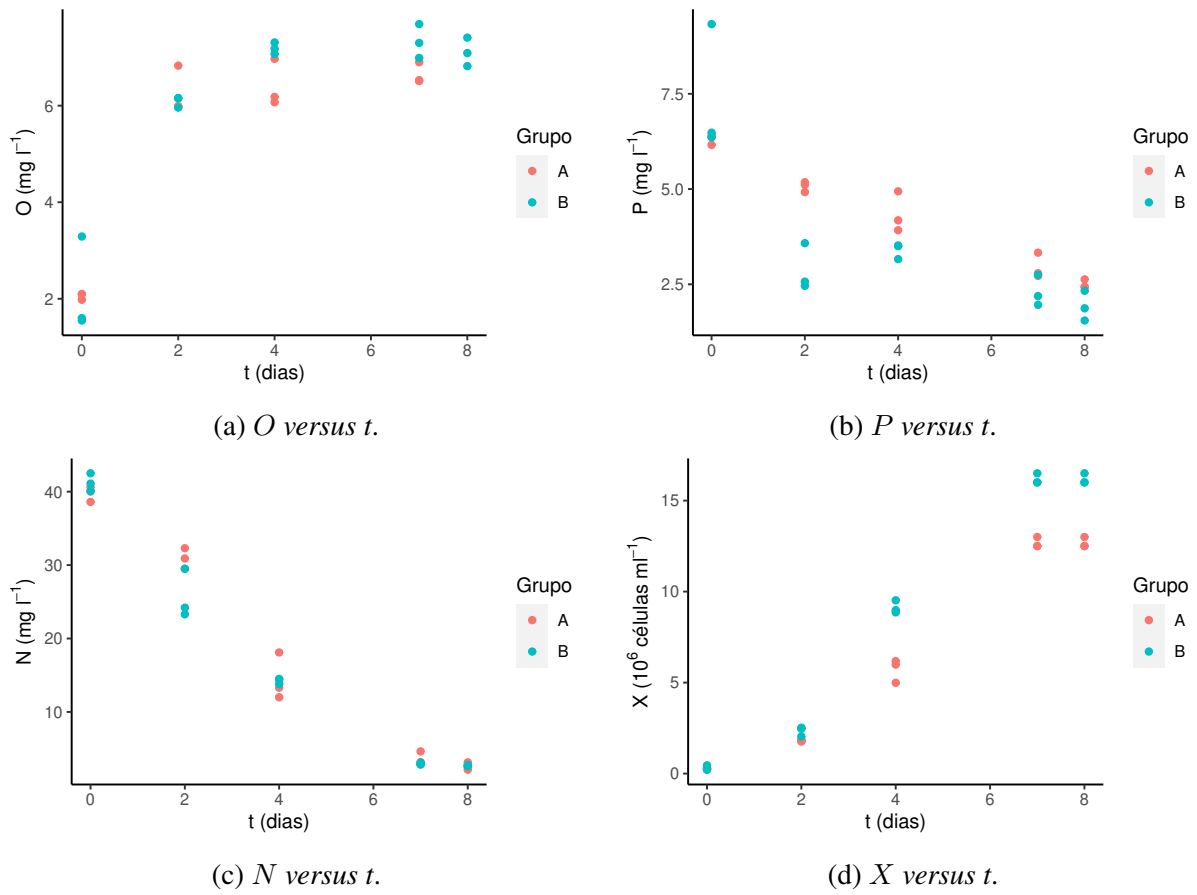


Figura 3 – Diagramas de dispersão das variáveis O , P , N e X , medidas em triplicata, em relação ao tempo do bioprocesso para os Grupos A e B.

Na Figura 3 estão representados os diagramas de dispersão das variáveis O , P , N e X , sendo que em cada tempo medido foram coletadas pelo menos duas amostras para cada grupo (A e B). Em geral, pode-se dizer que o comportamento das variáveis citadas acima é similar independente do tratamento realizado.

Observando o diagrama de dispersão da concentração de oxigênio dissolvido em relação ao tempo, Figura 3a, há evidências visuais de que O cresce com o passar do tempo do bioprocesso, tendendo a estabilizar sua concentração próximo de 6 mg l^{-1} . Nota-se também que a distribuição das amostras neste diagrama é mais homogênea que na Figura 3b, na qual a evolução de P em função do tempo indica que este nutriente está diminuindo em concentração, seja devido à ação das algas ou dos fármacos, ou ainda outros efeitos não considerados.

Semelhante à dispersão do fósforo, a dinâmica do nitrogênio (Figura 3c) indica que este composto diminui sua concentração ao longo do tempo de biorremediação. Como discutido nos capítulos anteriores, os nutrientes fósforo e nitrogênio são importantes para o crescimento celular, promovendo, assim, um aumento na concentração algal, o que pode ser visto na Figura 3d.

Para determinar as melhores estimativas dos parâmetros do Modelo (3.17), utilizando as informações apresentadas nos diagramas de dispersão (Figura 3), a fim de representar com

fidelidade a biorremediação de um efluente doméstico, o processo de estimação pode ser realizado com dois tipos de dados, sendo eles os valores de todas as amostras coletadas em cada tempo medido (três amostras por unidade de tempo) ou as médias das observações em cada tempo (SINGER; ANDRADE, 1986). Em relação a esta última possibilidade, para determinar um estimador de um parâmetro utilizando os valores médios em cada amostragem, é necessário verificar se a variância amostral em cada tempo é constante ou homogênea (homocedasticidade) ou se os dados se dispersam com variâncias distintas (heterocedasticidade), pois, no caso de heterocedasticidade, uma estimação em relação às médias não seria a mais apropriada por não conseguir representar toda a variabilidade do conjunto de dados (ÇELIK, 2019; KALIRAJAN, 1989; LIN; WEI, 2003; LIN; WEI, 2007).

Deste modo, suponha que em um tempo t_i , $i = 0, 1, 2, \dots, m$, foram coletadas algumas amostras de uma variável Y qualquer, sob mesmas condições físico-químicas, e que a variância destas amostras é $s_{t_i}^2$, a qual representa um estimador para a variância populacional σ_t^2 . Se não houver diferenças significativas entre todas as variâncias $\sigma_{t_i}^2$, isto é, $\sigma_{t_0}^2 = \sigma_{t_2}^2 = \dots = \sigma_{t_m}^2 = \sigma_t^2$, então diz-se que a estrutura de covariância da variável Y é homocedástica. Se em algum tempo t_i houver diferenças significativas, a estrutura de covariância de Y é dita heterocedástica.

Para testar se a dispersão dos dados apresentada na Figura 3 caracteriza uma estrutura de covariância homo ou heterocedástica para alguma variável, aplica-se o teste de hipóteses de White (WHITE, 1980), que não requer normalidade nem linearidade das variáveis. Tal teste de hipóteses é descrito por:

$$\begin{cases} H_0 : \sigma_{t_i}^2 = \sigma_t^2, \forall i = 0, 1, 2, \dots, m \\ H_1 : \sigma_{t_i}^2 \neq \sigma_t^2, \text{ para pelo menos um } i, \end{cases} \quad (4.15)$$

em que a hipótese nula (H_0) indica homocedasticidade, ao passo de que a hipótese alternativa (H_1), heterocedasticidade.

De acordo com Çelik (2019), a identificação de uma estrutura de covariância de uma variável por meio da análise dos resíduos de um modelo ajustado não é imediata. Cragg (1982) relaciona esta dificuldade à existência de possíveis correlações seriais no conjunto de dados, isto é, há dependência temporal entre as observações e, conseqüentemente, é provável que os erros sejam relacionados de forma autorregressiva.

Segundo Liu et al. (1992), autocorrelação, ou correlação serial, pode ser definida como a correlação existente entre a observação de uma variável no tempo t_i e uma observação da mesma variável no tempo t_{i-p} , $p = 1, 2, \dots, i - 1$. De forma análoga, diz-se que um processo é autorregressivo se os seus erros são autocorrelacionados. Em se tratando de fenômenos biológicos, cuja dependência temporal é iminente, alguns modelos autorregressivos, como os Modelos Vetoriais Autorregressivos (VAR), têm sido aplicados para descrever um processo estocástico e identificar as estruturas de correlação serial dos erros (GURUBEL et al., 2019; KHAN; SAEED;

ALI, 2020).

Portanto, para testar a hipótese apresentada na Equação (4.15), é preciso incluir as informações de correlação serial no cálculo da estatística do teste. Neste sentido, considere o processo estocástico Y_t , o qual é definido aqui como uma coleção de observações da variável Y em diferentes instantes t , tal que $t \in [0, t_B]$, sendo t_B o tempo total de biorremediação e

$$0 = t_0 < t_1 < \dots < t_m = t_B. \quad (4.16)$$

Seja Y_t qualquer uma das variáveis O , X , N e P observadas no tempo t . Um Modelo VAR para o processo estocástico Y_t , baseado em Khan, Saeed e Ali (2020), é:

$$Y_t = B_0 + \sum_{i=1}^p (B_i Y_{t-i}) + \eta_t, \quad (4.17)$$

em que p é a ordem do Modelo VAR e indica quantas observações anteriores ao momento t são utilizadas para estimar a autocorrelação de Y_t , B_0 é um vetor de constantes com dimensão $n \times 1$, B_i , para $i = 1, \dots, p$, são matrizes $n \times p$ formadas pelos coeficientes do Modelo VAR(p) e η_t é um vetor de ruídos brancos de mesma dimensão de B_0 e Y_t , tal que $E[\eta_t] = 0$ e $Var[\eta_t] = \sigma_t^2$, desconhecida.

Deste modo, seja ϕ a estatística calculada do teste (4.15) para avaliar se a estrutura de covariância de uma variável Y_t é homocedástica ou não e defina α como o nível de significância do teste. Uma metodologia para calcular ϕ para uma variável Y_t é apresentada no Algoritmo 4.1.

Algoritmo 4.1 Cálculo da estatística ϕ para o teste de hipóteses (4.15) em relação à variável Y_t

- 12 **Passo 1:** Defina o tempo total de biorremediação t_B e n o número total de observações durante o processo de biorremediação;
 - 13 **Passo 2:** Defina a ordem do processo vetorial autorregressivo, p , tal que $1 \leq p < m$, sendo $m = t_B$, o tempo final de biorremediação;
 - 14 **Passo 3:** Ajuste o Modelo (4.17) pelo Método dos Mínimos Quadrados (4.6) para determinar \hat{B}_0 , \hat{B}_i , para $i = 1, 2, \dots, p$, sendo $Y_{obs} = Y_t$;
 - 15 **Passo 4:** Calcule o vetor resíduo $\hat{\eta}_t = Y_t - (\hat{B}_0 + \sum_{i=1}^p \hat{B}_i Y_{t-i})$;
 - 16 **Passo 5:** Ajuste o modelo auxiliar $\hat{\eta}_t^2 = \psi_0 + \psi_1 Y_t + \gamma$, pelo Método dos Mínimos Quadrados (4.6), para determinar $\hat{\psi}_0$ e $\hat{\psi}_1$, que são os estimadores dos vetores de coeficientes da regressão neste modelo auxiliar, sendo γ o vetor de erros do modelo, tal que $E[\gamma] = 0$ e $Var[\gamma] = 1$;
 - 17 **Passo 6:** Calcule a estatística $SQR = \sum_{t=0}^m (\hat{\eta}_t - (\hat{\psi}_0 + \hat{\psi}_1 Y_t))^2$;
 - 18 **Passo 7:** Calcule a estatística $SQT = \sum_{t=0}^m (Y_t^2 - mE[Y_t]^2)$, em que $E[Y_t]$ é a média das observações de Y no tempo t ;
 - 19 **Passo 8:** Calcule a estatística $R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT}$;
 - 20 **Passo 9:** Faça $\phi = nR^2$;
 - 21 **Resultado:** A estatística do teste (4.15) para a variável Y_t é ϕ .
-

Quando $\phi > \alpha$, diz-se que não há evidências para rejeitar a hipótese nula, ou seja, não há indícios de heterocedasticidade na estrutura de covariância de Y_t . Portanto, para testar a hipótese

(4.15), aplicou-se o Algoritmo 4.1 às variáveis O , X , P e N , para os Grupos A e B, com um Modelo Vetorial Autoregressivo de segunda ordem ($p = 2$) e um nível de significância $\alpha = 0.05$. Os resultados do teste de White para o conjunto de dados analisado estão descritos na Tabela 8:

Tabela 8 – Estatística ϕ para o teste de homocedasticidade de White

	Grupo A					Grupo B		
Y_t	P	N	O	X	P	N	O	X
ϕ	0.1167	0.2672	0.2373	0.1662	0.1133	0.3456	0.2656	0.1622

Como todas as estatísticas ϕ calculadas foram superiores a 0.05, a hipótese nula não é rejeitada. Em outras palavras, infere-se que não há evidências de heterocedasticidade para a distribuição temporal das variáveis O , P , N e X . Neste sentido, para futuras análises, considera-se que a média em cada tempo é uma estatística que consegue representar as informações de todas as amostras e, para a estimação dos parâmetros do Modelo (3.17), que será realizada no Capítulo 5, utiliza-se então apenas as médias das amostras em cada tempo, permitindo que a estimação ocorra com um menor custo computacional.

5 Estimação de Parâmetros do Modelo Proposto

Para avaliar se o Modelo (3.17) proposto neste trabalho consegue representar o fenômeno estudado, a saber, a biorremediação de um efluente doméstico por meio da ação de microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana*, alguns procedimentos podem ser realizadas, como a estimação dos parâmetros do modelo, a análise da estabilidade das suas soluções de equilíbrio e simulações computacionais em cenários distintos. O foco deste Capítulo é abordar a metodologia empregada para a estimação dos parâmetros do Modelo (3.17) e apresentar e discutir seus resultados, os quais foram obtidos a partir do processamento do conjunto de dados reduzido apresentado no Capítulo 4, sendo que este conjunto é constituído das médias das observações das concentrações de oxigênio dissolvido, fósforo total, nitrogênio total e células algais, em tempos não igualmente espaçados.

5.1 Estimação de Parâmetros

Ao se falar de estimação de parâmetros, a metodologia mais conhecida talvez seja o Método dos Mínimos Quadrados, ou Mínimos Quadrados Ordinários, que foi desenvolvido para resolver um problema de minimização do erro quadrático médio para modelos lineares, como apresentado na Equação (4.6). De acordo com Draper e Smith (1998), no contexto de modelos de regressão, um modelo é classificado como linear se puder ser escrito como uma combinação linear de seus parâmetros. Exemplos de modelos lineares são as Equações (4.8), (4.9) e (4.11), que são uma combinação linear do vetor de parâmetros β .

Contudo, existe uma diversidade de fenômenos que não podem ser explicados simplesmente por modelos lineares, uma vez que a teoria deste tipo de modelagem foi baseada nas suposições de homocedasticidade, normalidade dos erros e independência das observações. Dentre as diferentes classes de modelos de regressão, os modelos não lineares são bastante empregados em variadas áreas da ciência, por seus parâmetros serem de fácil interpretação pelo pesquisador, possuírem bases mecânicas ou empíricas e serem parcimoniosos (SINGER; ANDRADE, 1986; DRAPER; SMITH, 1998).

Ruckstuhl (2012) define como modelos de regressão não linear todos aqueles modelos

que podem ser reescritos como a Equação (5.1),

$$Y = f(\theta, Z) + \varepsilon, \quad (5.1)$$

em que a função f é uma função não linear para pelo menos um componente do vetor de parâmetros θ , Z é uma matriz formada pelas n observações de p variáveis explanatórias, Y é a variável resposta e ε o erro do modelo, com mesma dimensão de Y . Bates e Watts (1988), por sua vez, afirmam que o Modelo (5.1) é classificado como não linear se pelo menos uma das derivadas de $f(\theta, Z)$ em relação ao vetor de parâmetros θ depende de pelo menos um parâmetro.

Neste sentido, o Modelo (3.17) é um modelo não linear, já que todas as equações deste sistema possuem o funcional μ , que é uma função não linear nos parâmetros K_N , K_P e K_{iO} . A classificação do Modelo (3.17) como não linear também poderia ser feita através do cálculo das derivadas de qualquer uma das equações em relação ao vetor de parâmetros θ definido na Equação (5.2):

$$\theta^T = [\mu_{max}, \delta, K_N, K_P, K_{iO}, K_O, K_x, \rho, \alpha_P, \xi, Y_{X/O}, Y_{X/P}, Y_{X/N}]. \quad (5.2)$$

A aplicação do Método dos Mínimos Quadrados para a estimação de θ é inapropriada então, já que este método pressupõe linearidade nos parâmetros. Contudo, para o desenvolvimento de qualquer método de estimação, é importante estimar o valor do erro do método a cada iteração, pois assim é possível verificar se o método converge.

Considere que o erro de estimação ε tenha média nula, $E[\varepsilon] = 0$, variância desconhecida, e que

$$\hat{Y} = E[Y | \theta, Z] = E[f(\theta, Z) + \varepsilon | \theta, Z] = f(\hat{\theta}, Z) \quad (5.3)$$

é a estimativa da variável resposta Y , na qual $\hat{\theta}$ é o estimador de θ . Uma formulação para a estimativa do erro do Modelo (5.1), análoga à formulação da Equação (4.6), é:

$$\begin{aligned} \varepsilon^T \varepsilon &= (Y - E[Y | \theta, Z])^T (Y - E[Y | \theta, Z]) \\ &= (Y - f(\hat{\theta}, Z))^T (Y - f(\hat{\theta}, Z)). \end{aligned} \quad (5.4)$$

Os estimadores dos erros de um modelo, de acordo com Draper e Smith (1998), são denominados de resíduos, os quais necessitam ser minimizados em razão de se obter a melhor estimativa para os parâmetros θ . Neste sentido, resolver o problema

$$\min_{\theta} S(\theta), \quad (5.5)$$

significa determinar um vetor $\hat{\theta}$ que minimize a Soma de Quadrados dos Resíduos $S(\theta) = \varepsilon^T \varepsilon$ do Modelo (5.1) fazendo $\theta = \hat{\theta}$. Em outras palavras, resolver o Problema de Otimização (5.5) é determinar os melhores valores para o vetor de parâmetros θ , para que, então, o Modelo (3.17) represente com fidelidade o conjunto de dados utilizados neste trabalho.

Existem várias abordagens para resolver o Problema de Otimização irrestrito (5.5), como os Métodos de Gauss-Newton, Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno, Programação por Metas e outros (ALMEIDA et al., 2020; DRAPER; SMITH, 1998; BATES; WATTS, 1988). Neste trabalho, a estimação do vetor de parâmetros θ foi realizada via Método de Levenberg-Marquardt adaptado a um modelo de equações diferenciais ordinárias (HECKE, 2017; RANGANATHAN, 2004).

O Método de Levenberg-Marquardt (MLM) foi desenvolvido baseando-se na aproximação de uma função não linear $f(\theta, Z)$ em torno de um vetor de valores iniciais θ_0 por uma série de Taylor. O MLM é uma metodologia iterativa que busca resolver o Problema de Otimização (5.5) por meio do problema auxiliar:

$$\begin{aligned} \hat{\theta}_{l+1} &= \hat{\theta}_l - \left(\hat{J}_l^T \hat{J}_l + \lambda_l I \right)^{-1} \hat{J}_l^T \varepsilon_l, \\ \lambda_{l+1} &= h \lambda_l, \end{aligned} \quad (5.6)$$

em que $\hat{\theta}_l$ é a estimativa do vetor θ na iteração l , \hat{J}_l é a matriz Jacobiana de f , formada pelas derivadas parciais de f em relação a cada um dos parâmetros do vetor θ , avaliadas em $\hat{\theta}_l$, isto é, $\frac{\partial f}{\partial \theta}(\hat{\theta}_l, Z)$, I é a matriz identidade com mesma dimensão de $\hat{J}_l^T \hat{J}_l$, ε_l é o erro de estimação em cada iteração, tal que $\varepsilon_l = Y_l - f(\hat{\theta}_l, Z)$, λ_l é o fator de *damping* que é atualizado a cada iteração ao ser multiplicado pela constante h (ALMEIDA et al., 2020; SEBER; WILD, 2003). A atualização do fator h pode ser realizada de diversas maneiras e aqui adotou-se a atualização proposta no trabalho de Soetaert, Petzoldt et al. (2010).

Segundo Almeida et al. (2020), Benedito e Santos (2017) e Smirnova, Sirb e Chowell (2019), o fator de *damping* λ é um diferencial entre o Método de Gauss-Newton e o MLM. Este parâmetro do MLM auxilia e foi proposto inicialmente para tentar solucionar o problema de singularidade da matriz $\hat{J}^T \hat{J}$ em qualquer iteração, além de poder acelerar a convergência do método para estimação de θ , reduzindo o tempo computacional.

White (1980) cita que a falta de independência entre observações acarreta em problemas na estimação de parâmetros, por não haver garantias de que $\hat{J}^T \hat{J}$ possui posto completo e, por conseguinte, não existir uma matriz $(\hat{J}^T \hat{J})^{-1}$. De acordo com Soetaert, Petzoldt et al. (2010), a existência da inversa de $\hat{J}^T \hat{J}$ implica diretamente na estimação de Ω , a matriz de covariâncias dos parâmetros $\hat{\theta}$, pois

$$\Xi = \text{Var}[\hat{\theta}] \approx 2(\hat{J}^T \hat{J})^{-1}. \quad (5.7)$$

Para um vetor $\hat{\theta}$ de dimensão $q \times 1$, quando é possível determinar Ξ , então:

$$\text{Var}[\hat{\theta}_i] = \Xi_{ii}, i = 1, 2, \dots, q \quad (5.8)$$

e

$$\text{Cov}[\hat{\theta}_i, \hat{\theta}_j] = \Xi_{ij}, i = 1, 2, \dots, q, j = 1, 2, \dots, q, i \neq j. \quad (5.9)$$

Segundo Ruckstuhl (2012) e Bates e Watts (1988), caso exista $(\hat{J}^T \hat{J})^{-1}$ e, adotando a nomenclatura proposta por Soetaert, Petzoldt et al. (2010) na Equação (5.7), então uma região de confiança para o vetor de parâmetros $\hat{\theta}$ pode ser descrita por um disco q -dimensional, cujas fronteiras podem ser expressas pelo intervalo de confiança:

$$(\hat{\theta} - t_{N-q;\alpha/2} se(\hat{\theta}), \hat{\theta} + se(\hat{\theta}) t_{N-q;\alpha/2}), \quad (5.10)$$

sendo $t_{\alpha/2}$ uma estatística bilateral, com distribuição t de Student e $N - q$ graus de liberdade, calculada sob o nível de significância α , para um total de observações N de um conjunto de dados, e o erro padrão (se) de $\hat{\theta}_i, i = 1, 2, \dots, q$:

$$se(\hat{\theta}_i) = \sqrt{\frac{\text{Var}[\hat{\theta}_i]}{N - q}}. \quad (5.11)$$

Além disto, se Ξ é calculável, então bandas de predição podem ser estimadas para a função $f(\hat{\theta}, Z)$. Em outras palavras, é possível estimar curvas que limitam inferior e superiormente a curva $f(\hat{\theta}, Z)$, sendo elas definidas pela seguinte banda de confiança:

$$(f(\hat{\theta}, Z) - t_{N-q;\alpha/2} se(f(\hat{\theta}, Z)), f(\hat{\theta}, Z) + t_{N-q;\alpha/2} se(f(\hat{\theta}, Z))), \quad (5.12)$$

em que o erro padrão da resposta $f(\hat{\theta}, Z)$, de acordo com Ruckstuhl (2012) e Bates e Watts (1988), é definido como:

$$se(f(\hat{\theta}, Z)) = \frac{S(\hat{\theta})}{N - q} \|\hat{J}^T \Xi^{-1}\|_2, \quad (5.13)$$

sendo $S(\hat{\theta})$ a Soma de Quadrados dos Resíduos quando $\theta = \hat{\theta}$ e $\|w\|_2$ a norma Euclidiana de w .

Para estimar o vetor de parâmetros θ para uma realização do Modelo (3.17), isto é, para determinar $\hat{\theta}$, tal que

$$\hat{\theta}^T = [\hat{\mu}_{max}, \hat{\delta}, \widehat{K}_N, \widehat{K}_P, \widehat{K}_{iO}, \widehat{K}_O, \widehat{K}_x, \hat{\rho}, \hat{\alpha}_P, \hat{\xi}, \widehat{Y}_{X/O}, \widehat{Y}_{X/P}, \widehat{Y}_{X/N}], \quad (5.14)$$

é preciso aplicar um método de resolução ao Modelo (3.17) no instante t , a fim de obter o vetor de soluções integrais $Y_t = [O_t, P_t, N_t, X_t]$. Um procedimento para determinar $\hat{\theta}$, definido na Equação (5.14), é apresentado no Algoritmo 5.1.

Algoritmo 5.1 Estimação do vetor de parâmetros θ do Modelo (3.17)

- 22 **Passo 1:** Defina um vetor $\hat{\theta}_0$, com valores iniciais arbitrários de θ , e o vetor de condições iniciais $Y_0 = [O(0), P(0), N(0), X(0)]$;
- 23 **Passo 2:** Defina t_B como o tempo de biorremediação e $Y_{t,obs}$ como o vetor de valores observados das variáveis O, P, N e X , nesta ordem, em um tempo $t \in [0, t_B]$, sendo que cada variável possui N observações;
- 24 **Passo 3:** Determine as soluções numéricas do Modelo (3.17), com condição inicial igual ao vetor Y_0 e o vetor de parâmetros iniciais $\hat{\theta}_0$;
- 25 **Passo 4:** Calcule a matriz Jacobiana \hat{J}_0 das derivadas parciais $\frac{\partial Y_{t,k}}{\partial \theta_j}(\hat{\theta}_0)$, para $k = 1, \dots, 4$ e $j = 1, \dots, 13$, no instante $t = 0$;
- 26 **Passo 5:** Defina um nível de tolerância π , um passo h , um número máximo de iterações l_{max} e um valor inicial de *damping*, λ_0 ;
- 27 **Passo 6:** Calcule $\varepsilon_0 = Y_t - Y_{t,obs}$ e faça $l = 1$;
- 28 **Passo 7: Enquanto** $l \leq l_{max}$ **faça**
- 29 **7.1** Resolva o problema auxiliar apresentado na Equação (5.6), determinando $\hat{\theta}_{l+1}$;
- 30 **7.2** Determine Y_t a partir das condições iniciais Y_0 , utilizando o vetor de parâmetros $\hat{\theta}_{l+1}$;
- 31 **7.3** Calcule $\varepsilon_l = Y_t - Y_{t,obs}$;
- 32 **7.4** Faça $\Theta \leftarrow \hat{\theta}_{l+1}$;
- 33 **7.5** Calcule $S(\Theta) = \varepsilon^T \varepsilon$;
- 34 **7.6** Calcule $\hat{J}_l(\Theta)$;
- 35 **7.7 Se** $\|\Theta - \hat{\theta}_l\|_2 < \pi$ **então**
 └ Faça $l \leftarrow l_{max}$;
- Senão** $\lambda_{l+1} \leftarrow h\lambda_l$ e $l \leftarrow l + 1$;
- 36 **Passo 8:** Determine as soluções numéricas de Y_t , utilizando o vetor de condições iniciais Y_0 e o vetor de parâmetros Θ ;
- 37 **Passo 9: Se** $\hat{J}_l^T(\Theta)\hat{J}_l(\Theta)$ *possui inversa* **então**
- 9.1** Estime a variância do vetor de parâmetros Θ fazendo $\Xi = 2(\hat{J}_l^T(\Theta)\hat{J}_l(\Theta))^{-1}$;
- 9.2** Calcule o erro padrão e o intervalo de confiança para cada parâmetro $\Theta_j, j = 1, \dots, 13$, a partir das Equações (5.10) e (5.11), a um nível de significância $\alpha = 5\%$;
- 9.3** Calcule o erro padrão e as bandas de predição para as soluções Y_t , a um nível de significância $\alpha = 5\%$, a partir das Equações (5.12) e (5.13);
- 38 **Resultado:** O melhor conjunto de parâmetros é dado pelo vetor Θ .

Dado que o melhor vetor de parâmetros foi determinado, é importante avaliar a qualidade dos estimadores de θ . Neste trabalho, a avaliação da qualidade do estimador de θ foi baseada na estatística $S(\hat{\theta})$, a qual representa a Soma dos Quadrados dos Resíduos do Modelo (3.17) quando $\theta = \hat{\theta}$, e na análise da distribuição dos resíduos brutos.

A partir da aplicação dos resultados obtidos no Algoritmo 5.1 no Modelo (3.17), podem ser feitas inferências sobre outras propriedades do bioprocessamento, como a quantificação de seu desempenho. De acordo com Singer e Andrade (1986) e Zerbe (1979), para estimar o efeito acumulado de uma variável em relação ao tempo ou avaliar os efeitos de diferentes grupos em um experimento descrito por um modelo matemático não linear, uma estatística capaz de fornecer tais informações é a área sobre a curva.

Para determinar o potencial médio de uma variável Y qualquer (potencial de consumo de nutrientes ou potencial de geração de produtos, por exemplo) em algum momento t do intervalo de tempo $[0, t_B]$, um bom estimador é dado pela média da área sobre a curva de Y em relação ao tempo t , $\Psi(Y_t)$, como apresentado na Equação (5.15):

$$\Psi(Y_t) = \frac{1}{t} \int_0^t Y_s ds. \quad (5.15)$$

E, consoante a [Zerbe \(1979\)](#), para estimar os efeitos de diferentes tratamentos (A e B) na resposta de uma variável Y_t , propõe-se o estimador $\zeta_{A,B}(Y_t)$, tal que:

$$\zeta_{A,B}(Y_t) = \left[\int_0^t (Y_{s,A} - Y_{s,B})^2 ds \right]^{1/2}, \quad (5.16)$$

sendo $Y_{t,g}$ o valor da variável Y no Grupo g observada no tempo t , para $g = A, B$.

As estatísticas Ψ e $\zeta_{A,B}$, juntamente com os estimadores dos componentes do vetor de parâmetros θ , fornecem informações sobre a dinâmica da biorremediação, além de evidenciarem as diferenças no crescimento e metabolismo algal sob a presença ou ausência de fármacos. Neste sentido, a próxima seção se dedica a realizar experimentos computacionais, para aplicar as técnicas desenvolvidas neste Capítulo.

5.2 Simulações Computacionais

O Modelo (3.17) foi implementado computacionalmente utilizando o conjunto de dados descrito no Capítulo 4 e o Algoritmo 5.1, com o uso do pacote *FME* ([SOETAERT; PETZOLDT et al., 2010](#)), disponível em linguagem de programação *R*, no qual os valores escolhidos para o fator de *damping* λ , o passo h , o número máximo de iterações l_{max} e a tolerância π foram os padrões do próprio pacote, a saber, $\pi = 1.0 \times 10^{-5}$, $l_{max} = 100$, $h = 9.7656 \times 10^{-4}$ e $\lambda = 100$. Com estes dados, o Modelo (3.17) foi resolvido por meio do Método de Runge-Kutta de 4ª ordem, para um tempo $t_B = 10$ dias, com um passo $h_r = 0.01$, e condições iniciais iguais às médias das amostras de O , P , N e X no tempo $t_0 = 0$ dias, para ambos os Grupos A e B, de modo que A indica um efluente doméstico livre de fármacos e B se refere a um efluente doméstico com fármacos dissolvidos. As condições iniciais para θ , isto é, θ_0 , foram arbitrárias e são apresentadas na Tabela 9, na qual $u \sim N(0, 1)$.

Tabela 9 – Valores iniciais para o vetor de parâmetros θ

Parâmetro	μ_{max}	δ	K_N	K_P	K_{iO}	K_O	K_x	ρ	α_P	ξ	$Y_{X/O}$	$Y_{X/P}$	$Y_{X/N}$
Valor	0.1	u	9.0	1.5	1.0	8.3	2.0	0.01	0	0.1	0.1	0.1	1.0

Os valores estimados para o vetor de parâmetros θ , em uma realização do processo estocástico descrito pelo Modelo (3.17) (ou seja, para apenas um valor de δ), para ambos os

Grupos A e B, estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Estimativa dos parâmetros do Modelo (3.17) para dois tratamentos.

Parâmetro	Grupo A		Grupo B	
	$\hat{\theta}$	IC($\hat{\theta}$;95%)	$\hat{\theta}$	IC($\hat{\theta}$;95%)
μ_{max}	51.41	(50.49; 52.34)	2.80	(2.65; 2.94)
δ	0.26	(-3.03; 3.55)	1.02	(0.75; 1.29)
K_N	-487.57	(-517.91; -457.23)	-69.47	(-70.87; -68.07)
K_P	-53.86	(-94.62; -13.11)	-9.79	(-10.47; -9.11)
K_{iO}	-41.96	(-430.33; 346.41)	0.04	(-3.02; 3.08)
K_O	6.54	(5.96; 7.12)	7.01	(6.67; 7.35)
K_X	83.13	(77.92; 88.33)	16.56	(16.15; 16.96)
ρ	0.07	(-0.25; 0.39)	1.92	(1.38; 2.48)
α_P	0	-	3.21	(2.22; 4.20)
ξ	0.83	(0.23; 1.44)	0.64	(0.31; 0.97)
$Y_{X/O}$	0.53	(-0.72; 1.78)	25.02	(18.99; 31.06)
$Y_{X/P}$	0.20	(-0.14; 0.55)	-210.18	(-221.62; -198.74)
$Y_{X/N}$	7.15	(6.01; 8.27)	405.63	(399.31; 411.95)

Todas as estimativas dos parâmetros possuem valores bastante distintos, indicando que a presença de fármacos no biorreator modifica a dinâmica do bioprocesso. Comparando os resultados da Tabela 10, exploratoriamente, diz-se que a presença de fármacos pode ter promovido um decréscimo na velocidade máxima específica de crescimento das algas (μ_{max}), na capacidade suporte da população de *C. sorokiniana* e na taxa de transferência de oxigênio no meio de reação (ξ).

Por outro lado, a presença de fármacos dissolvidos no efluente pode ter promovido um aumento nos valores da constante de saturação de oxigênio (K_O), no fator de precipitação de fósforo (ρ) e nos rendimentos de produção de oxigênio ($Y_{X/O}$) e consumo de nitrogênio ($Y_{X/N}$). Os valores de saturação pelos nutrientes nitrogênio e fósforo (K_N e K_P), em módulo, são menores no Grupo B, o que indica possivelmente que os mecanismos de regulação metabólica da *C. sorokiniana*, durante a remoção destes nutrientes, tenham respostas em relação à saturação por nutrientes com antecedência no Grupo B, quando comparado ao Grupo A.

Observa-se também uma mudança na dinâmica do bioprocesso devido a presença de fármacos, especificamente sob os parâmetros K_{iO} e $Y_{X/P}$. Aparentemente, a presença de fármacos promove o aumento da velocidade μ em relação ao parâmetro K_{iO} , ao passo que, na ausência destes xenobióticos no meio, o oxigênio parece inibir o crescimento algal quando sua concentração é próxima de 42 mg L^{-1} , podendo frear a taxa de reprodução algal. Consoante à estimativa do parâmetro $Y_{X/P}$ e considerando apenas o valor deste parâmetro, a presença de fármacos pode promover a acumulação de fósforo no meio, diferentemente do grupo controle (Grupo A), em que a atividade das algas está relacionada com a degradação de fósforo ($Y_{X/P} > 0$).

O valor do parâmetro α_P no Grupo B representa uma medida do efeito da presença de fármacos no efluente na taxa de variação da concentração total de fósforo. Analisando a estimativa de α_P , diz-se que a presença de fármacos no efluente aumenta, em média, $3.21 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ na concentração total de fósforo no biorreator em comparação com o Grupo A.

Analisando os valores de estimados de δ na Tabela 10, espera-se que a dinâmica do Grupo B seja mais influenciada por fatores ambientais não contabilizados no Modelo (3.17) quando comparada à dinâmica do Grupo A. Possíveis razões para o valor de δ ser maior no Grupo B podem ser resumidas às interações das células algais com diferentes fármacos e seus variados metabolismos.

Para ambos os Grupos, $S(\hat{\theta})$ apresentou valores próximos de zero, sendo 0.5974 no Grupo A e 0.3858 no Grupo B, indicando que as soluções do Modelo (3.17), com os valores dos parâmetros estimados pelo Algoritmo 5.1, se aproximam bastante dos valores observados no conjunto de dados, evidenciando a possibilidade de se utilizar o modelo matemático proposto aqui como uma ferramenta para planejamento, controle e otimização da biorremediação de efluentes domésticos por *C. sorokiniana*.

Ao dividir $S(\hat{\theta})$ pelos seus respectivos graus de liberdade, obtém-se a estatística Quadrado Médio dos Resíduos (*QMR*), que permite comparar a qualidade da estimação em diferentes grupos. Para avaliar a convergência do Algoritmo 5.1, apresenta-se na Figura 4 os valores de *QMR* em cada iteração para ambos os grupos. Observa-se que os valores iniciais da Soma de Quadrados dos Resíduos eram superiores a 1500 no Grupo A e 4000 no Grupo B, devido à escolha de valores iniciais de θ distantes do valor ótimo deste parâmetro. Analisando a Figura 4, diz-se que o Algoritmo 5.1 convergiu para um minimizador da Equação (5.5) em 6 iterações para o Grupo A e 14 para o Grupo B.

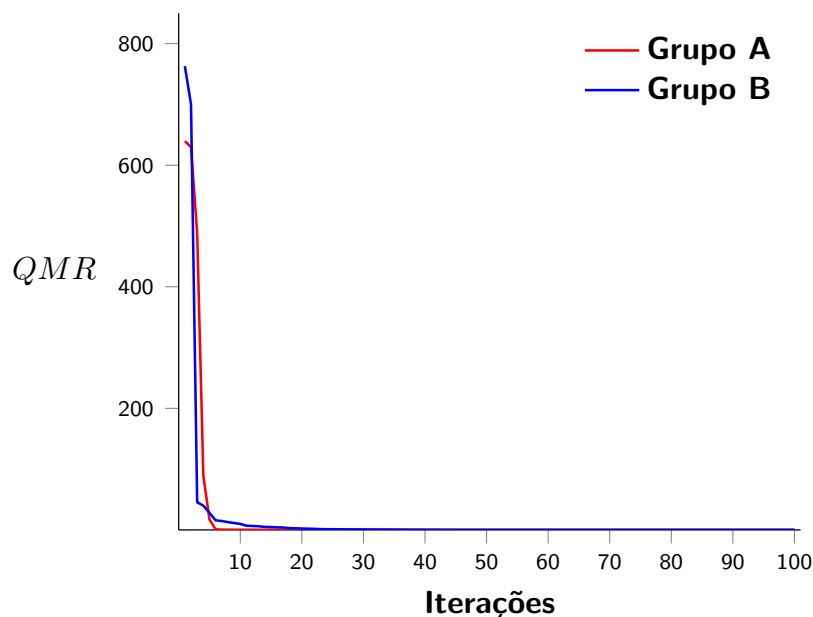


Figura 4 – *QMR* ao longo de 100 iterações do Algoritmo 5.1.

A análise da distribuição dos resíduos da estimação também é uma etapa importante para a avaliação da qualidade dos resultados obtidos. Desta forma, apresenta-se na Figura 5 as dispersões dos resíduos brutos calculados em relação aos valores observados das variáveis de estado O_t , P_t , N_t e X_t , para os Grupos A e B, respectivamente.

Nota-se, na Figura 5, que os resíduos brutos, para ambos os grupos, estão distribuídos em torno do zero, o que corrobora com a suposição feita para o desenvolvimento do MLM, ou seja, $E[\varepsilon] = 0$. Além disto, observa-se que os valores dos resíduos estão distribuídos aproximadamente entre -0.6 e 0.5, para os Grupos A e B, indicando que a diferença, em módulo, entre o valor real e o valor estimado das variáveis de estado é menor que uma unidade de concentração (mg L^{-1} ou 10^6 células L^{-1}).

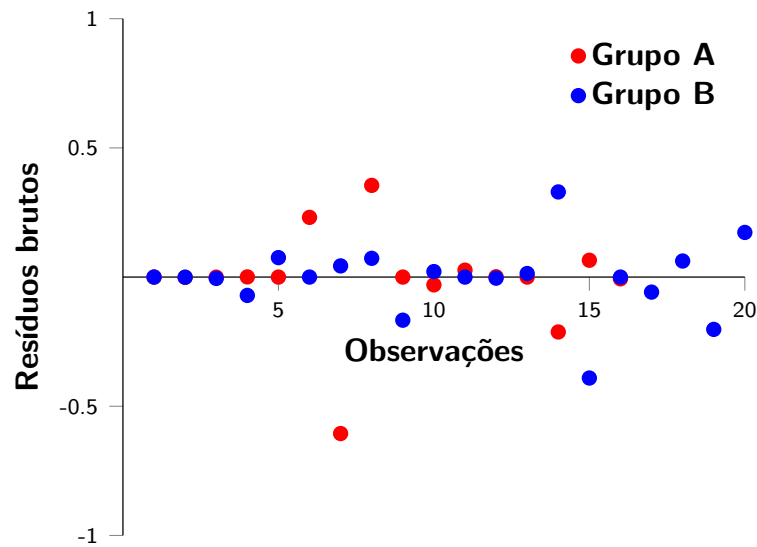


Figura 5 – Distribuição dos resíduos brutos pelas observações de O , P , N e X .

Visto que os resíduos brutos estão distribuídos em torno do zero com uma baixa dispersão e a Soma de Quadrados dos Resíduos é próxima de zero, para ambos os grupos testados, conclui-se que os valores dos parâmetros estimados pelo Algoritmo 5.1 são bons estimadores para o vetor θ e, por conseguinte, o Modelo (3.17), implementado com o conjunto de parâmetros estimados, pode ser utilizado para realizar previsões da dinâmica do bioprocessamento. Desta forma, apresentam-se nas Figuras 6-9 as soluções numéricas do Modelo (3.17) geradas com condições iniciais iguais às utilizadas no Algoritmo 5.1 e com os valores estimados de θ para os Grupos A e B.

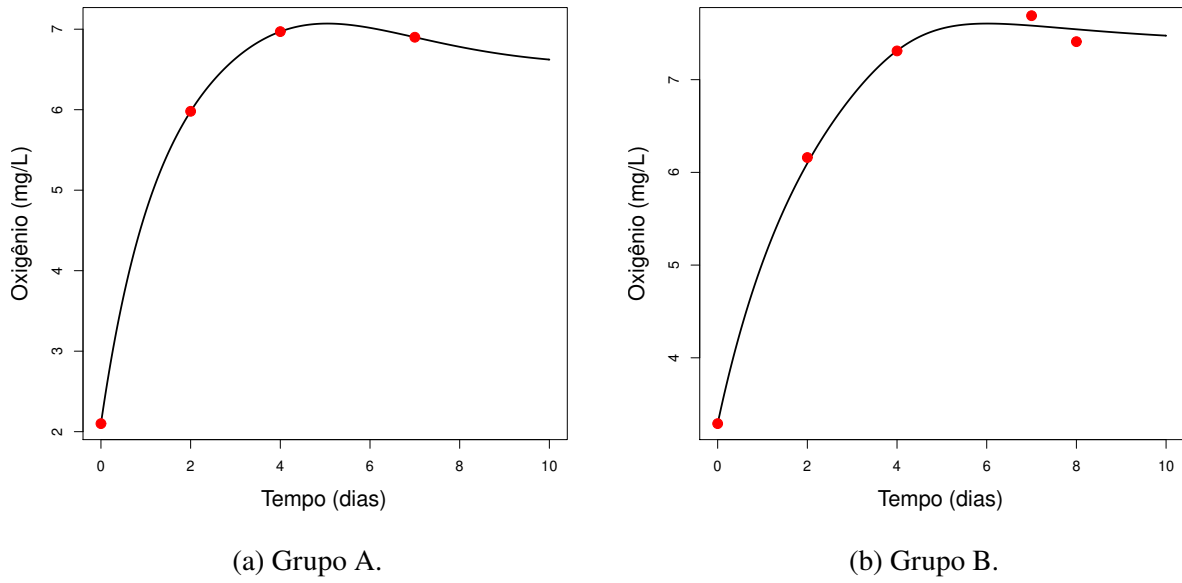


Figura 6 – Dinâmica da variável O_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de oxigênio dissolvido medidas nos fotobiorreatores.

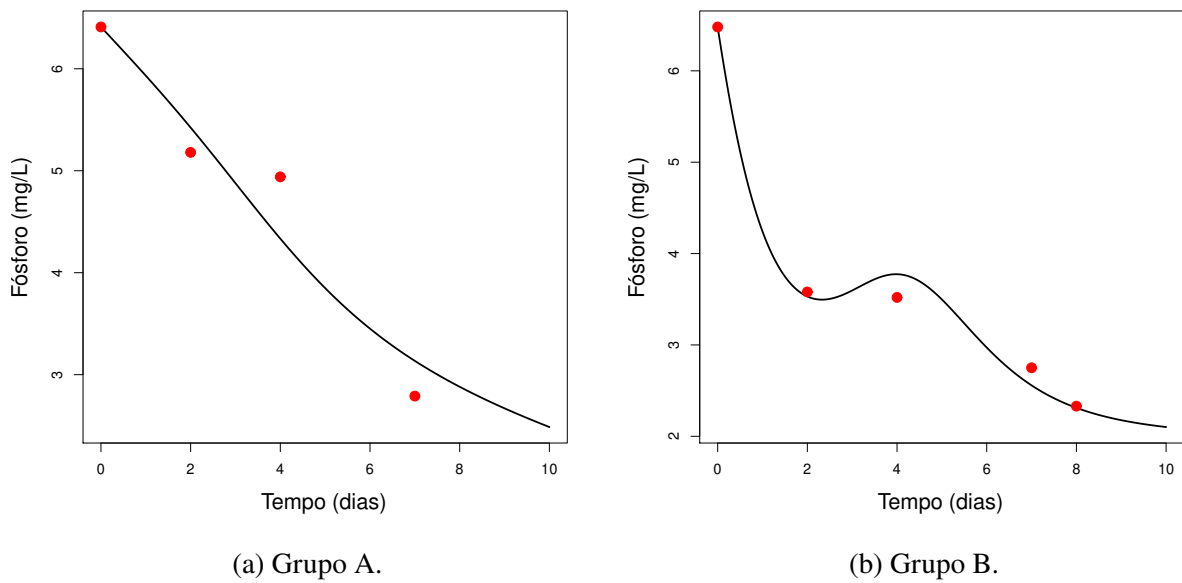


Figura 7 – Dinâmica da variável P_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações totais de fósforo medidas nos fotobiorreatores.

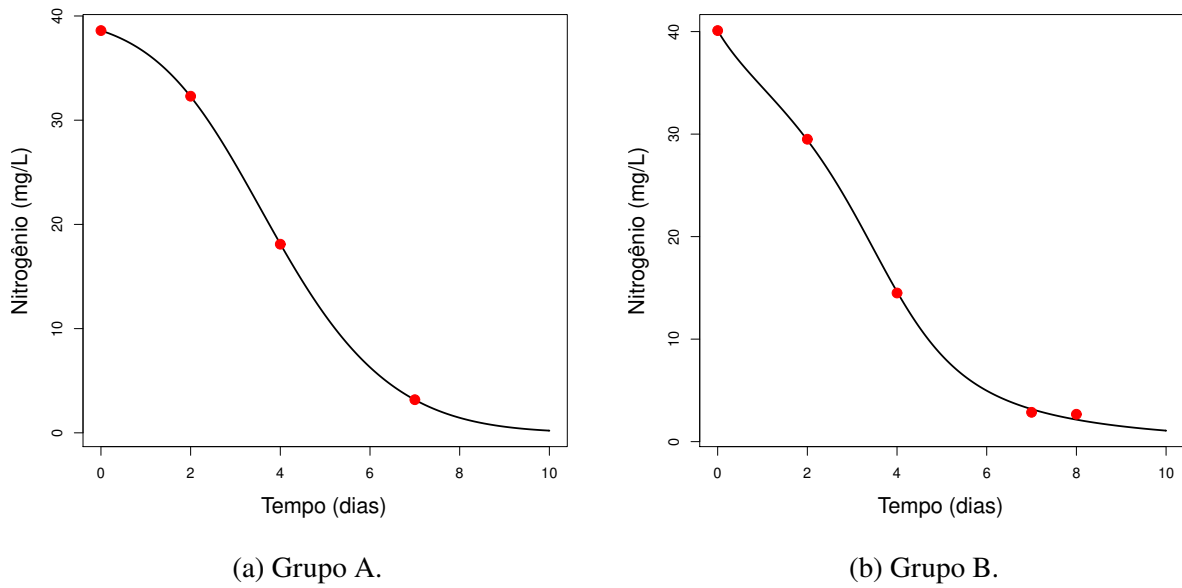


Figura 8 – Dinâmica da variável N_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações totais de nitrogênio medidas nos fotobiorreatores.

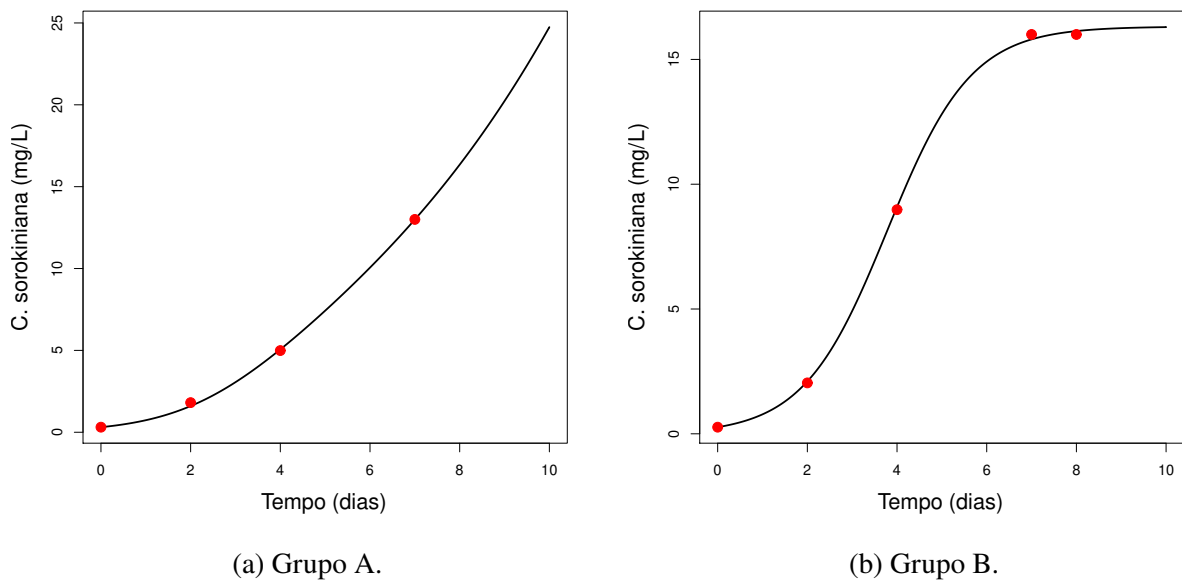


Figura 9 – Dinâmica da variável X_t para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de células algais medidas nos fotobiorreatores.

As soluções numéricas das variáveis de estado apresentadas nas Figuras 6-9 descrevem bem a dinâmica da geração de gás oxigênio, da remoção de fósforo e nitrogênio, além do crescimento da população de microalgas *C. sorokiniana*. Dentre todas as simulações apresentadas, as soluções numéricas da variável P_t foram aquelas que apresentaram *gaps* com a nuvem de pontos amostrais, provavelmente devido à estrutura de variância das observações de fósforo total durante o tempo de biorremediação.

A dinâmica da concentração de oxigênio dissolvido no fotobiorreator, Figura 6, é similar em ambos os casos. A concentração de O_t cresce rapidamente do início da biorremediação até o quarto dia, aproximadamente, e após este período, o valor de O_t tende a decrescer suavemente. Analisando os valores de K_O na Tabela 10 e o perfil das concentrações de oxigênio dissolvido nos tempos 7 e 8 dias, respectivamente para os Grupos A e B, pode-se dizer que, possivelmente, a concentração de O_t se aproxima da concentração de equilíbrio, a saber, 6.5418 mg L^{-1} para A e 7.3856 mg L^{-1} para B.

Quanto à concentração de fósforo no fotobiorreator, observou-se que, no Grupo A (Figura 7a), este nutriente foi apenas consumido, o que explica a monotonicidade da curva P_t . Já no Grupo B, o rendimento de consumo de fósforo $Y_{X/P} < 0$, indicando que, neste caso, $Y_{X/P}$ é, na verdade, uma taxa de geração de fósforo pelo metabolismo algal e principal fator de decréscimo na concentração de P_t é devido aos efeitos de precipitação, ρ .

Em relação à concentração de nitrogênio, Figura 8, para ambos os grupos testados observou-se que o perfil da concentração deste nutriente ao longo do tempo é similar, atingindo concentrações próximas de zero em torno do décimo dia do bioprocessamento. Por sua vez, o perfil da concentração de células algais ao final da batelada é distinto, uma vez que X_t , no Grupo B, se estabilizou próximo ao valor de sua capacidade suporte ($K_x = 16.3157 \times 10^6 \text{ células L}^{-1}$), ao passo que X_t continua crescendo no Grupo A, pois, neste grupo, $K_x = 128.3039 \times 10^6 \text{ células L}^{-1}$.

Apesar da maioria dos pontos amostrais estarem bem próximas às curvas obtidas pela estimação de parâmetros, é necessário calcular as bandas de predição para cada curva, a fim de visualizar se todos os pontos amostrais estão contidos em um região de confiança. As bandas de predição para as soluções numéricas de O_t , P_t , N_t e X_t , a um nível de confiança de 95%, são apresentadas nas Figuras 10-13, nas quais nota-se que todos os pontos amostrais estão dispersos entre as bandas de predição inferior e superior (pontilhadas em azul). Em outras palavras, embora a estrutura de variância dos parâmetros estimados não tenha sido determinada, as soluções numéricas de O_t , P_t , N_t e X_t , geradas com os valores dos parâmetros estimados para todos os grupos, representam uma ferramenta confiável para a realização de predições e planejamento da biorremediação de um efluente doméstico.

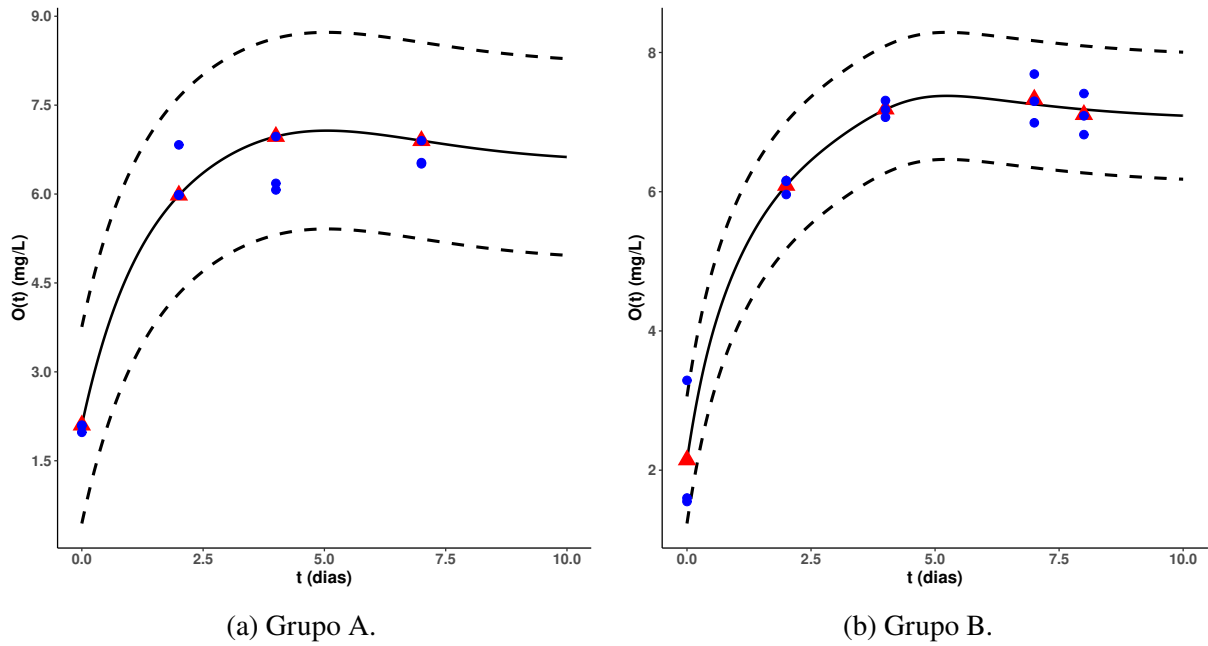


Figura 10 – Bandas de predição para a variável de estado O_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de oxigênio dissolvido medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).

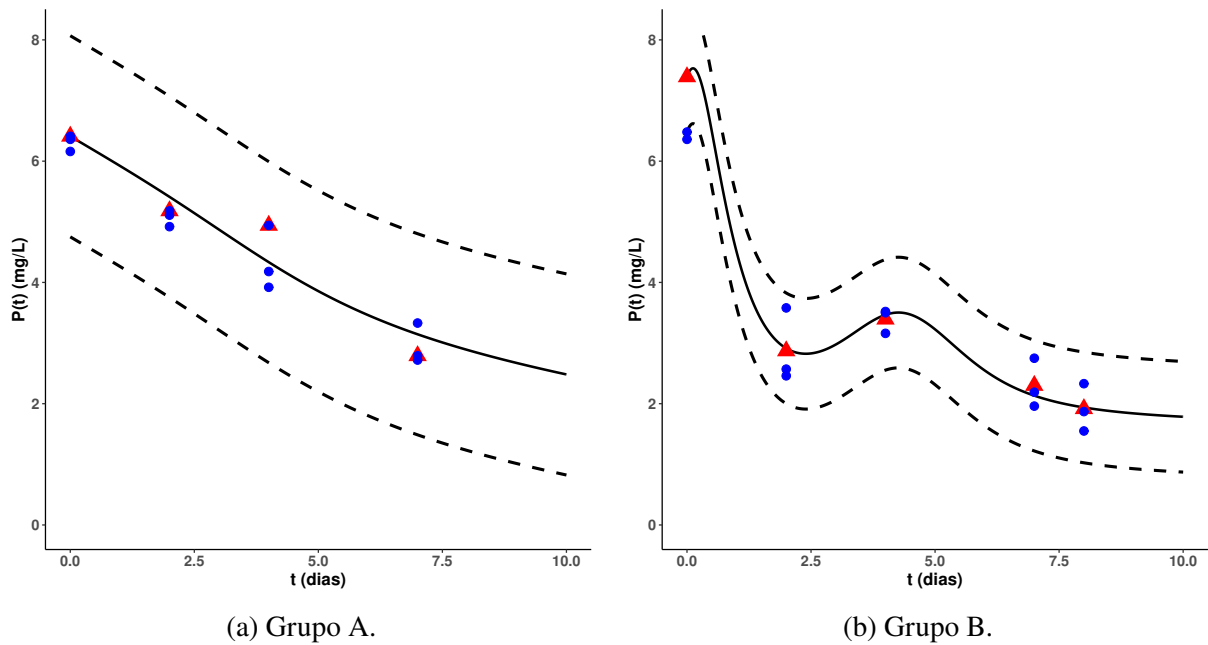


Figura 11 – Bandas de predição para a variável de estado P_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de fósforo total medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).

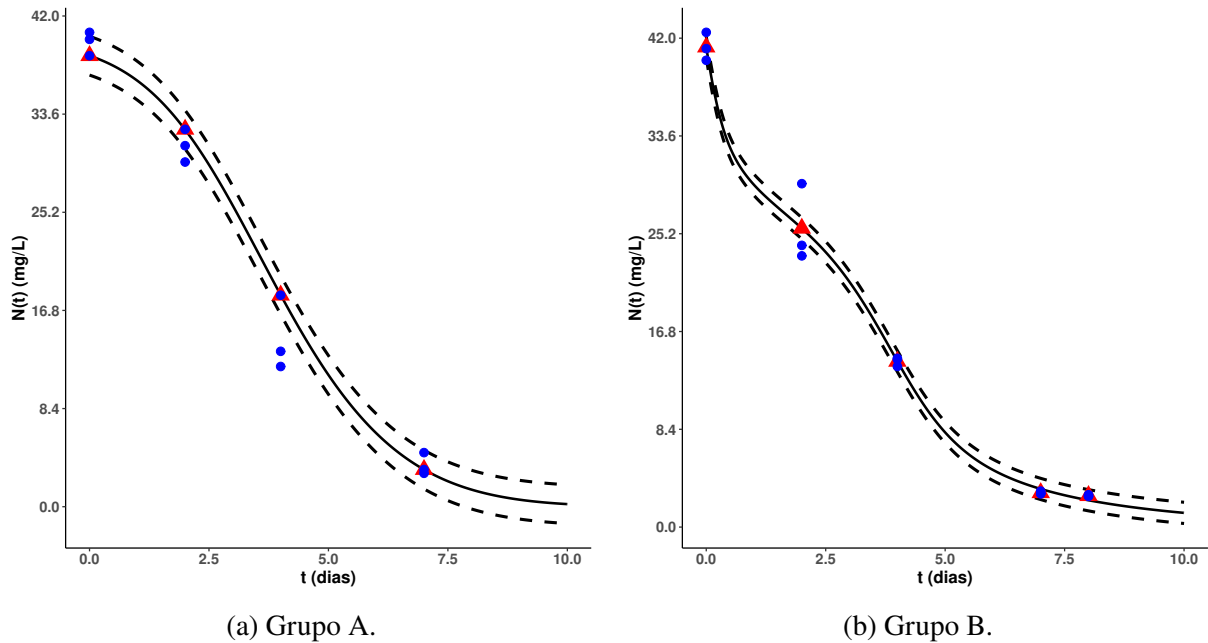


Figura 12 – Bandas de predição para a variável de estado N_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de nitrogênio total medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).

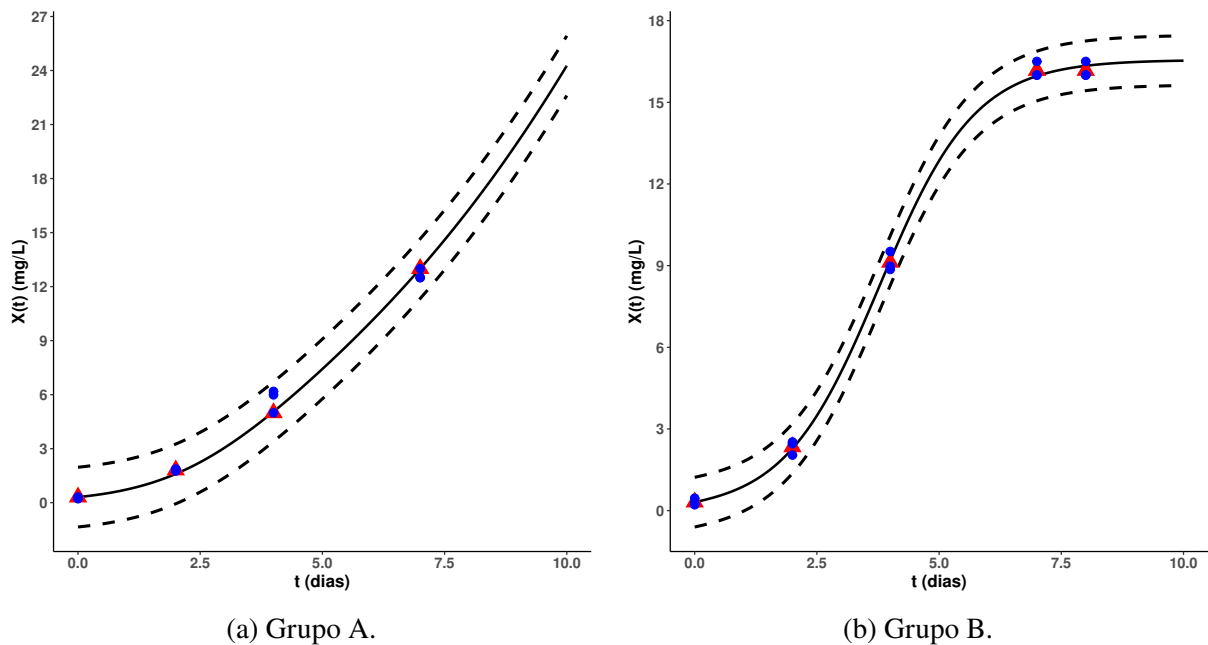


Figura 13 – Bandas de predição para a variável de estado X_t utilizando o conjunto de parâmetros estimados, para os Grupos A e B. Os pontos em vermelho indicam as médias das concentrações de células algas medidas nos fotobiorreatores e as curvas pontilhadas em azul são as bandas de predição (95% de confiança).

As bandas de predição para curvas são análogas aos intervalos de confiança para uma estimativa e sua amplitude está relacionada à estrutura de variância dos parâmetros estimados.

Observa-se nas Figuras 10, 11 e 13 que as curvas para O_t , P_t e X_t estão contidas em intervalos de predição muito amplos, abrangendo inclusive valores de concentração negativos. Todavia, isto não significa que os valores de O_t , P_t e X_t podem ser negativos, mas sim que estas variáveis possuem variâncias maiores quando comparadas à variância da variável N_t .

Por fim, calculou-se a área sobre a curva das variáveis de estado do Modelo (3.17) para quantificar as diferenças geradas pelos tratamentos A e B. A partir do cálculo desta área, foram estimados o potencial médio de uma variável Y_t , $\Psi(Y_t)$, e os efeitos dos tratamentos na resposta de Y_t durante 7 dias, $\zeta_{A,B}(Y_{[0,7]})$. Os resultados desta análise são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Medidas resumo da análise da Área Sobre a Curva de Y_t

Y_t	Grupo	t (dias)	$\Psi(Y_t)$	$\zeta_{A,B}(Y_{[0,7]})$
O_t	A	7	6.1757	18.2885
	B	8	6.7010	
P_t	A	7	4.6605	31.2207
	B	8	3.5387	
N_t	A	7	21.5925	67.5913
	B	8	17.2925	
X_t	A	7	4.9073	111.5373
	B	8	8.5780	

Observou-se que os potenciais de produção de oxigênio e crescimento celular aumentaram, em média, $0.5253 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ e $3.6707 \times 10^6 \text{ células L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente, quando havia fármacos dissolvidos no efluente doméstico. Deste modo, os fármacos no fotobiorreator exibiram efeitos promotores sob as concentrações de oxigênio dissolvido e células algais, aumentando a concentração média de oxigênio em 18.2885 unidades e a de células algais em 111.5373×10^6 unidades.

Por outro lado, as taxas de consumo de fósforo e nitrogênio reduziram, respectivamente, 1.1218 e $4.3 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Por conseguinte, os fármacos dissolvidos no efluente tiveram efeito inibitório na diminuição das concentrações de nitrogênio e fósforo, implicando em um aumento total de 67.5913 e $31.2207 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrogênio e fósforo dissolvidos no efluente, respectivamente. Em outras palavras, para este estudo de caso, os fármacos inibiram o potencial de remoção de nutrientes pelas microalgas *C. sorokiniana*, em um período de 7 dias de biorremediação.

De modo geral, o Modelo (3.17), com os parâmetros estimados neste Capítulo, conseguiu representar com fidelidade o conjunto de dados referentes à biorremediação de um efluente doméstico sob dois tratamentos, a saber, na ausência e presença de fármacos dissolvidos. As diferentes análises realizadas neste Capítulo evidenciaram o potencial do Modelo (3.17) em representar um bioprocessamento de biorremediação, permitindo que este Sistema de Equações Diferenciais seja utilizado como ferramenta para predição, planejamento, controle e otimização do tratamento de resíduos orgânicos via microalgas.

O próximo Capítulo se destina a aplicar os resultados obtidos até aqui em um modelo matemático para otimizar a remoção de fósforo durante a biorremediação.

6 Modelo de Otimização

A modelagem matemática de um bioprocesso é uma ferramenta poderosa para descrever a dinâmica do fenômeno biológico, assim como representa um potencial para o estudo do controle operacional. Além disto, quando se conhecem as leis que regem a dinâmica de um bioprocessos, é possível fazer previsões para o rendimento de determinada reação ou ainda fazer projeções baseando-se em diferentes condições iniciais.

Em se tratando de biorremediação, é de interesse do operador do bioprocessos que a carga orgânica do resíduo tratado seja minimizada e que a remoção de certos nutrientes seja máxima, a fim de evitar problemas de eutrofização. Visto que, tanto para ausência quanto presença de fármacos, os compostos nitrogenados, contabilizados em N_t , são totalmente ou quase totalmente depletados, como foi discutido nos capítulos anteriores, é preciso ainda propor uma estratégia para aumentar a remoção de fósforo no bioprocessos. Neste sentido, propõe-se nesta tese um modelo matemático para maximizar o índice de remoção de fósforo em um biorreator que carrega a biorremediação de um resíduo orgânico por uma população de *Chlorella sorokiniana* em dois diferentes tratamentos: sob ausência e presença de fármacos dissolvidos.

6.1 Maximização da remoção de fósforo no bioprocessos

A remoção de um nutriente em um bioprocessos pode ser mensurada de diversas formas, mas geralmente seus resultados são dados em porcentagem de remoção ou como uma taxa no intervalo $[0, 1]$.

Suponha que em um biorreator, no qual um bioprocessos de biorremediação é carregado em um tempo finito t no intervalo $[0, T]$ e que uma concentração inicial de fósforo P_0 é adicionada ao mosto. Se o fósforo não for removido durante o bioprocessos, a área sobre a curva de concentração de fósforo é dada por $\int_0^T P_0 dt = P_0 T$. Caso haja consumo deste nutriente, a quantidade remanescente de fósforo pode ser descrita pela integral $\int_0^T P_t dt$ e a quantidade consumida por $(P_0 T - \int_0^T P_t dt)$, conforme Figura 14.

Geometricamente, observando a Figura 14, a quantidade de fósforo removida é contabilizada pela área em azul, enquanto que a área em magenta indica o fósforo remanescente no biorreator. A união das duas áreas representa o cenário em que o fósforo não é removido neste

bioprocesso, isto é, representa uma taxa de remoção de 0%.

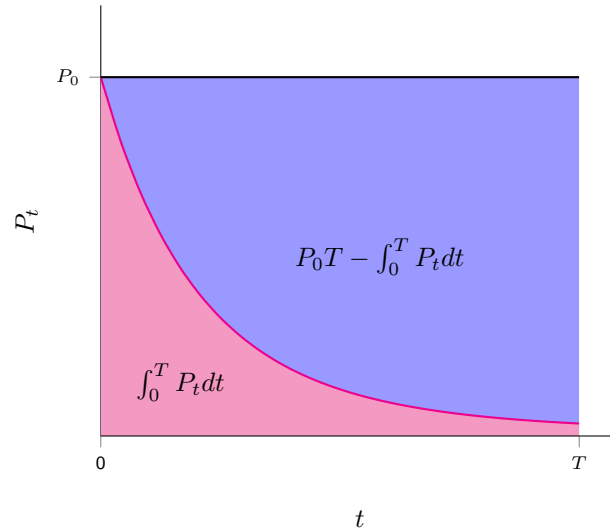


Figura 14 – Representação geométrica da métrica proposta para avaliar a remoção de fósforo.

Uma vez que P_t representa um processo estocástico, uma medida que represente a quantidade total de fósforo em um período finito de tempo pode ser dada pela norma de funções no espaço de Hilbert, isto é, $\left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}$.

Deste modo, uma métrica para avaliar quanto de fósforo foi removido durante em T instantes de tempo pode ser dada pela seguinte expressão:

$$P_0 T - \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}. \quad (6.1)$$

Para computar a taxa de remoção de fósforo, em porcentagem ou proporção, propõe-se aqui o índice de remoção R , tal que:

$$\begin{aligned} R &= \frac{P_0 T - \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}}{\left(P_0 T - \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}\right) + \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}} \\ &= \frac{P_0 T - \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}}{P_0 T} \\ &= 1 - \frac{1}{P_0 T} \left(\int_0^T P_t^2 dt\right)^{1/2}. \end{aligned} \quad (6.2)$$

Para a maximização da taxa de remoção de fósforo durante a biorremediação, propõe-se um modelo de otimização que objetiva determinar a razão inicial entre nitrogênio e fósforo, $\frac{N_0}{P_0}$, a fim de maximizar a remoção de fósforo em um bioprocesso carregado em um período finito de 0

a T instantes de tempo. É preciso salientar que a razão inicial nitrogênio/fósforo representa um importante fator no controle do crescimento algal (CHOI; LEE, 2015).

Sejam I o conjunto de todas as soluções $Y_t = [X_t, O_t, P_t, N_t]$ possíveis para o Modelo (3.17), com condições iniciais definidas por $Y_0 = [X_0, O_0, P_0, N_0]$ e as variáveis de decisão N_0 e P_0 , cuja razão $\frac{N_0}{P_0} \in [r_i, r_s]$, sendo r_i e r_s constantes reais positivas que controlam a proporção entre nitrogênio e fósforo iniciais (CHOI; LEE, 2015). Considere ainda que as concentrações iniciais de nitrogênio e fósforo devem ser superiores a um limitante inferior definido pelo operador do bioprocessamento, sendo $n_i \geq 0$ e $p_i \geq 0$ os limitantes inferiores para nitrogênio e fósforo, respectivamente.

Define-se então o seguinte Modelo de Otimização:

$$\begin{aligned}
 \max \quad & R = 1 - \frac{1}{P_0 T} \left(\int_0^T P_t^2 dt \right)^{1/2} \\
 \text{s.a.} \quad & Y_t = [X_t, O_t, P_t, N_t] \in I \\
 & r_i \leq \frac{N_0}{P_0} \leq r_s \\
 & N_0 \geq n_i, P_0 \geq p_i \\
 & 0 \leq t \leq T
 \end{aligned} \tag{6.3}$$

Para solucionar o Modelo (6.3) propõe-se aqui uma metaheurística, a saber, Algoritmo de Busca em Vizinhança Variável (*Variable Neighborhood Search* - VNS), descrita na seção a seguir.

6.2 VNS

O Algoritmo de Busca em Vizinhança Variável, conhecido como VNS, é uma metaheurística desenvolvida por Hansen e Mladenović (2001), que visa determinar soluções ótimas ou sub-ótimas a partir de uma solução inicial factível, através de buscas em vizinhanças definidas dentro do espaço de soluções.

Sejam v_0 , um vetor de soluções iniciais para o Modelo (6.3), tal que $v_0 = [X_0, O_0, P_0, N_0]$ e v_0 satisfaz as restrições impostas no problema de otimização, e $\epsilon \sim U(0, 1)$. Nas proximidades de v_0 são propostas k_{max} vizinhanças, de modo que cada vizinho seja definido como uma perturbação em um único elemento de v_0 . O Algoritmo VNS realizará um número máximo de l_{max} buscas locais em cada vizinhança \mathcal{N}_k , $k = 1, \dots, k_{max}$, visando encontrar uma solução \bar{v}_0 melhor que v_0 , isto é, visando obter $R(\bar{v}_0) > R(v_0)$, sendo R o índice de remoção de fósforo. O VNS determina um vetor v^* tal que $R(v^*)$ esteja o mais próximo possível de $R^* = \max \{R(v) | v \text{ satisfaz o Modelo (6.3)}\}$.

Neste sentido, dada uma solução factível arbitrária v_0 para o Modelo (6.3), define-se um conjunto de vizinhanças de v_0 , $\mathcal{N}_k(v_0)$, $k = 1, \dots, 4$, como:

$$\begin{aligned}
\mathcal{N}_1(v_0) &= \{\bar{v}_0 | \bar{v}_0 = [X_0, O_0, (1 + \epsilon)P_0, N_0]\}, \\
\mathcal{N}_2(v_0) &= \{\bar{v}_0 | \bar{v}_0 = [X_0, O_0, (1 - \epsilon)P_0, N_0]\}, \\
\mathcal{N}_3(v_0) &= \{\bar{v}_0 | \bar{v}_0 = [X_0, O_0, P_0, (1 + \epsilon)N_0]\}, \\
\mathcal{N}_4(v_0) &= \{\bar{v}_0 | \bar{v}_0 = [X_0, O_0, P_0, (1 - \epsilon)N_0]\}.
\end{aligned} \tag{6.4}$$

A busca pela melhor solução do Modelo (6.3) nas vizinhanças definidas pela Equação (6.4) é realizada pelo VNS, descrito no Algoritmo 6.1.

Algoritmo 6.1 Busca em Vizinhança Variável para o problema de remoção de fósforo

- 39 **Passo 1:** Defina uma solução inicial arbitrária $v_0 = [X_0, O_0, P_0, N_0]$ para o Modelo (6.3), $l_{max} \in \mathbb{N}$, tal que $l_{max} > 1$, e a estrutura de vizinhanças apresentada na Equação (6.4);
- 40 **Passo 2:** Calcule $R(v_0)$;
- 41 **Passo 3:** Faça $k_{max} = 4$ e $k = 1$;
- 42 **Passo 3:** Enquanto $k \leq k_{max}$ **faça**
- 43 **3.1** Gere aleatoriamente $\bar{v}_0 \in \mathcal{N}_k(v_0)$ e faça $l = 1$;
- 44 **3.2 Enquanto** $l \leq l_{max}$ **faça**
- 45 **3.2.1** Gere aleatoriamente $\bar{\bar{v}}_0 \in \mathcal{N}_k(\bar{v}_0)$;
- 45 **3.2.2 Se** $R(\bar{\bar{v}}_0) > R(\bar{v}_0)$ **então**
- 45 $\bar{v}_0 \leftarrow \bar{\bar{v}}_0$;
- 45 $R(\bar{v}_0) \leftarrow R(\bar{\bar{v}}_0)$;
- 46 **3.2.3** $l \leftarrow l + 1$;
- 47 **3.3 Se** $R(\bar{v}_0) > R(v_0)$ **então**
- 47 $v_0 \leftarrow \bar{v}_0$;
- 47 $k \leftarrow 1$;
- 47 **Senão**
- 47 $k \leftarrow k + 1$;
- 48 **Passo 4:** $v_0^* \leftarrow v_0$ e $R(v_0^*) \leftarrow R(v_0)$;
- 49 **Resultado:** A melhor solução obtida é v_0^* e o máximo determinado pelo algoritmo é $R(v_0^*)$.
-

A aplicação do VNS em diferentes cenários para resolução do problema descrito pelo Modelo (6.3) é abordada na próxima seção.

6.3 Experimentos computacionais

A resolução do Modelo (6.3) foi implementada em linguagem R (R Core Team, 2019) e em um computador com características descritas no Capítulo 4. Os testes computacionais foram conduzidos utilizando seis diferentes cenários, os quais estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12 – Diferentes cenários para a resolução do Modelo (6.3)

Fármacos	Estocasticidade		
	Ausência $\delta = 0$	Taxa fixa δ constante	Taxa aleatória $\delta_t \sim N(0, 1)$
Ausência (G=0)	Cenário 1	Cenário 3	Cenário 5
Presença (G=1)	Cenário 2	Cenário 4	Cenário 6

Esta estrutura de cenários foi idealizada a fim de abranger todas as possíveis aplicações do Modelo (6.3), considerando as características do meio de reação com respeito à presença/ausência de fármacos dissolvidos e possíveis ruídos no bioprocessamento. No caso de $\delta = 0$ (Cenários 1 e 2), os resultados obtidos se referem a um cenário totalmente controlado, ou seja, livre de qualquer perturbação. Quando δ assume um valor fixo, o qual é tomado aleatoriamente de uma distribuição $N(0, 1)$ (Cenários 3 e 4), os resultados obtidos dizem respeito a uma situação em que existem ruídos e o operador do bioprocessamento conhece a intensidade de tais perturbações e suas influências no biorreator. Por fim, nos Cenários 5 e 6, assume-se que $\delta_t \sim N(0, 1)$, isto é, em cada tempo $t \in [0, T]$ do bioprocessamento, δ assume um valor distinto, o que pode ser interpretado como uma situação em que o operador sabe da existência de um ruído, mas não conhece sua intensidade nem seus efeitos no sistema.

Neste sentido, o Modelo (6.3) foi resolvido através de um VNS, o qual está descrito no Algoritmo 6.1, com um número máximo de buscas locais $l_{max} = 200$, considerando os cenários apresentados na Tabela 12, a estrutura de vizinhanças apresentada na Equação (6.4) e, como limitantes inferiores para nitrogênio e fósforo, $n_i = p_i = 10^{-4}$. Considerou-se também $v_0 = [0.27, 2.06, 6.39, 39.73]$ como a solução inicial arbitrária, a qual é equivalente às concentrações iniciais médias de algas, oxigênio, fósforo e nitrogênio para os biorreatores do Grupo A. Visando calibrar os parâmetros do VNS, foram testados $l_{max} = 300$ e $l_{max} = 400$, porém, não foram notadas melhorias nos valores médios de função objetivo para $l_{max} > 200$, por isso utilizou-se número máximo de buscas locais igual a 200.

Apresentam-se na Tabela 13 as estatísticas descritivas dos resultados obtidos em 100 repetições do VNS e, na Figura 15, a convergência do VNS para um cenário. A Figura 15 ilustra a convergência do VNS para o Cenário 5, em que pode ser observado que em 8 iterações o algoritmo já havia convergido para um valor sub-ótimo (ou ótimo) da função objetivo. Além disto, o tempo computacional necessário para repetir 100 vezes o algoritmo proposto nesta tese para o Cenário 5 foi de 14.18 minutos.

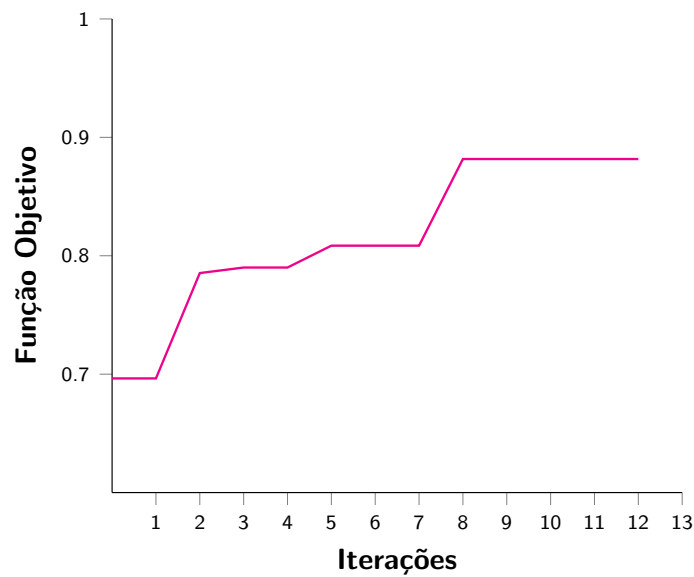


Figura 15 – Convergência do VNS: função objetivo por iterações para uma repetição no Cenário 5.

Tabela 13 – Medidas descritivas dos resultados de 100 repetições do VNS no Modelo (6.3) em seis diferentes cenários.

	Cenário	Mínimo	Mediana	Máximo	Média	Desvio Padrão
P_0	1	6.39	6.39	7.92	6.50	0.36
	2	6.39	6.39	7.34	6.40	0.10
	3	6.39	6.39	7.89	6.51	0.36
	4	7.41	7.41	7.41	7.41	0
	5	1.33	6.39	17.09	5.39	2.25
	6	7.41	7.41	7.41	7.41	0
N_0	1	39.73	39.73	237.71	99.19	74.71
	2	39.73	39.73	57.83	40.00	2.19
	3	39.73	39.73	235.43	104.65	75.91
	4	37.06	39.73	57.83	41.77	5.89
	5	39.73	39.73	285.43	91.40	73.36
	6	37.06	39.73	57.81	41.11	5.12
Remoção	1	0.71	0.71	0.88	0.77	0.07
	2	0.89	0.89	0.90	0.89	0.00
	3	0.72	0.72	0.88	0.78	0.07
	4	0.80	0.80	0.95	0.81	0.04
	5	0.70	0.74	0.88	0.77	0.06
	6	0.78	0.84	0.93	0.83	0.03
N_0/P_0 Razão	1	5.01	6.22	30.00	15.16	11.25
	2	6.22	6.22	9.05	6.25	0.23
	3	5.03	30.00	15.98	9.05	11.45
	4	5.00	5.36	7.80	5.64	0.80
	5	5.12	22.81	30.00	18.44	11.06
	6	5.00	5.36	7.80	5.55	0.69

Os valores médios de remoção (função objetivo) obtidos em 100 repetições, apresentados na Tabela 13, possuem desvios padrões baixos, indicando que os resultados foram homogêneos considerando o mesmo cenário. Quando não há fármacos dissolvidos no meio reativo, pode haver uma remoção de no máximo 88% de fósforo se a razão N_0/P_0 for, em média, 15.16, 15.98 e 18.44, respectivamente para os Cenários 1, 3 e 5, enquanto que a remoção máxima pode atingir 90%, 95% e 93% para os Cenários 2, 4 e 6, nesta ordem. A partir dos valores médios da razão N_0/P_0 , pode-se dizer que razões médias entre 5.55 e 6.25 podem promover uma maior remoção de fósforo.

Quanto aos valores de fósforo P_0 , suas médias se situam entre 5.39 e 6.51, sob ausência de fármacos, e 6.40 e 7.41, na presença de compostos farmacêuticos. Em relação às médias de nitrogênio N_0 , diz-se que os valores determinados para os cenários sob ausência de fármacos são maiores (mais que o dobro) em comparação com as médias para os cenários sob presença de compostos farmacêuticos. Constata-se ainda que os desvios padrões para os resultados de P_0 e N_0 sob ausência de fármacos são maiores que aqueles na presença de xenobióticos, indicando que os resultados para os Cenários 2, 4 e 6 são mais homogêneos consoante às concentrações P_0 e N_0 .

Em suma, os resultados apresentados mostram evidências de que a presença de fármacos pode contribuir para uma maior remoção de fósforo no biorreator. Além disto, existem diversas possibilidades de escolha de concentrações iniciais de fósforo e nitrogênio que promovam o máximo de remoção de fósforo durante o bioprocessamento, desde que a razão N_0/P_0 média seja, sob ausência e presença de fármacos, respectivamente: 15.16 e 6.25, em um biorreator totalmente controlado, 15.98 e 5.64, sob presença de ruídos, cuja intensidade e efeitos são conhecidos, e 18.44 e 5.55, quando não se conhece a intensidade e os efeitos dos ruídos no sistema.

Os resultados apresentados neste Capítulo evidenciam ainda que o Modelo (6.3) tem potencial para ser utilizado como ferramenta para planejamento ótimo da biorremediação de efluentes por *Chlorella sorokiniana*, de modo a promover a máxima redução de fósforo no meio reativo.

7 Considerações Finais e Perspectivas

Neste trabalho propôs-se o desenvolvimento de um modelo matemático para descrever a biorremediação de efluentes domésticos por uma população de microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana*, em dois cenários, a saber, na ausência e na presença de fármacos dissolvidos no efluente. Além disto, propôs-se um modelo matemático para determinar as concentrações iniciais ótimas de nitrogênio e fósforo visando maximizar a remoção de fósforo associada à biorremediação.

O Modelo (3.17) proposto nesta tese conseguiu representar bem a dinâmica das variáveis envolvidas na biorremediação de um efluente doméstico, tanto na ausência, quanto na presença de fármacos dissolvidos no meio de cultura, mostrando que tal modelo possui potencial para ser utilizado para o estudo da dinâmica e do controle do bioprocesso. O Modelo (6.3), por sua vez, conseguiu determinar condições iniciais ótimas que promovem a máxima remoção de fósforo em diferentes cenários, independente da presença de ruídos no biorreator.

Neste sentido, os modelos propostos evidenciam o potencial da metodologia desenvolvida neste trabalho para auxiliar na promoção de uma economia sustentável, da geração de fontes renováveis de energia e na recuperação de áreas ambientais contaminadas.

Como perspectivas para trabalhos futuros, cita-se:

1. Estimar os parâmetros do Modelo (3.17) para os outros conjuntos de dados disponibilizados pelo Departamento de Engenharia Civil e Ambiental (Faculdade de Engenharia - UNESP, Bauru);
2. Investigar outras metodologias para solucionar o Modelo (6.3);
3. Propor um modelo de otimização para determinar as condições iniciais que favorecem a maximização da produção de clorofila durante o bioprocessos, como uma medida auxiliar para a maximização da produção de biohidrogênio associada à biorremediação.

Referências

- ADAMS, G. O. et al. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, Citeseer, v. 3, n. 1, p. 28–39, 2015. 10
- ALLEN, E. *Modeling with Itô stochastic differential equations*. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2007. v. 22. 18
- ALMEIDA, G. et al. Programação por Metas para Ajuste Não Linear. *TEMA (São Carlos)*, scielo, v. 21, p. 249 – 259, 08 2020. ISSN 2179-8451. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2179-84512020000200249&nrm=iso>. 66
- ARASHIRO, L. T. et al. Natural pigments and biogas recovery from microalgae grown in wastewater. *ACS sustainable chemistry & engineering*, ACS Publications, v. 8, n. 29, p. 10691–10701, 2020. 4, 6
- ARDABILI, S. F. et al. Computational intelligence approach for modeling hydrogen production: a review. *Engineering Applications of Computational Fluid Mechanics*, Taylor & Francis, v. 12, n. 1, p. 438–458, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/19942060.2018.1452296>>. 2
- ASLAN, S.; KAPDAN, I. K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, v. 28, n. 1, p. 64 – 70, 2006. ISSN 0925-8574. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925857406000759>>. 6
- BALACHANDAR, G. et al. Biological hydrogen production via dark fermentation: A holistic approach from lab-scale to pilot-scale. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.09.006>>. 8
- BATES, D. M.; WATTS, D. G. *Nonlinear regression analysis and its applications*. [S.l.]: Wiley New York, 1988. v. 2. 65, 66, 67
- BENEDITO, A. dos S.; SANTOS, F. L. P. dos. A novel technique to estimate biological parameters in an epidemiology problem. In: SPRINGER. *International Work-Conference on Artificial Neural Networks*. [S.l.], 2017. p. 112–122. 66
- BERGMAN, T. L. et al. *Fundamentals of heat and mass transfer*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2011. 11, 33
- BHATTACHARYA, S. et al. On stochastic differential equations and equilibrium distribution: a conditional moment approach. *Environmental and ecological statistics*, Springer, v. 18, n. 4, p. 687–708, 2011. 34, 35, 36
- BHOWMICK, A. R. et al. A simple approximation of moments of the quasi-equilibrium distribution of an extended stochastic theta-logistic model with non-integer powers. *Mathematical Biosciences*, v. 271, p. 96–112, 2016. ISSN 0025-5564. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025556415002230>>. 42
- BRAUMANN, C. A. *Introduction to stochastic differential equations with applications to modelling in biology and finance*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2019. 18

- CARDOSO, V. et al. Hydrogen production by dark fermentation. *Chem Eng Trans*, v. 38, p. 481–486, 2014. 2, 8
- CHANDRA, R.; Venkata Mohan, S. Microalgal community and their growth conditions influence biohydrogen production during integration of dark-fermentation and photo-fermentation processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 36, n. 19, p. 12211 – 12219, 2011. ISSN 0360-3199. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319911016235>>. 8, 9
- CHELLABOINA, V.; HADDAD, W. M. A unification between partial stability and stability theory for time-varying systems. *IEEE Control Systems Magazine*, v. 22, p. 66–75, 2002. 36
- CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: high value products perspectives. *Bioresour. Technol.*, Elsevier, v. 229, p. 53–62, 2017. 1, 4, 7
- CHOI, H. J.; LEE, S. M. Effect of the n/p ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. *Bioprocess and biosystems engineering*, Springer, v. 38, n. 4, p. 761–766, 2015. 82
- CHOJNACKA, K. Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environment International*, v. 36, n. 3, p. 299 – 307, 2010. ISSN 0160-4120. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412009002396>>. 5
- CRAGG, J. Estimation and testing in time-series regression models with heteroscedastic disturbances. *Journal of Econometrics*, v. 20, n. 1, p. 135 – 157, 1982. ISSN 0304-4076. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304407682901063>>. 61
- DAS, D.; VEZIROĞLU, T. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 26, n. 1, p. 13 – 28, 2001. ISSN 0360-3199. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319900000586>>. 1, 8
- DORAN, P. M. *Bioprocess engineering principles*. Second. [S.l.]: Elsevier, 2013. 1, 4, 11, 12
- DRAPER, N. R.; SMITH, H. *Applied regression analysis*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 1998. v. 326. 53, 55, 56, 64, 65, 66
- DZIOŃEK, A.; WOJCIESZYŃSKA, D.; GUZIK, U. Natural carriers in bioremediation: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*, scielocl, v. 19, p. 28 – 36, 09 2016. ISSN 0717-3458. 1, 4
- EKER, S.; SARP, M. Hydrogen gas production from waste paper by dark fermentation: Effects of initial substrate and biomass concentrations. *International Journal of Hydrogen Energy*, Elsevier, v. 42, n. 4, p. 2562–2568, 2017. 1, 4
- EZE, V. C. et al. Kinetic modelling of microalgae cultivation for wastewater treatment and carbon dioxide sequestration. *Algal Research*, v. 32, p. 131 – 141, 2018. ISSN 2211-9264. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417309840>>. 2, 3, 15
- FARAHANI, S. S. et al. A hydrogen-based integrated energy and transport system: The design and analysis of the car as power plant concept. *IEEE Systems, Man, and Cybernetics Magazine*, IEEE, v. 5, n. 1, p. 37–50, 2019. 8
- FERGOLA, P.; TENNERIELLO, C. Partial stability of large scale systems via comparison method. *IFAC Proceedings Volumes*, v. 12, n. 16, p. 323–327, 1983. 36

- FERNANDO, I. P. S. et al. Algal polysaccharides: Potential bioactive substances for cosmeceutical applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, Taylor & Francis, v. 39, n. 1, p. 99–113, 2019. 4
- GODOS, I. D. et al. Coagulation/flocculation-based removal of algal–bacterial biomass from piggery wastewater treatment. *Bioresource technology*, Elsevier, v. 102, n. 2, p. 923–927, 2011. 5
- GRIGORIU, M. *Stochastic systems: uncertainty quantification and propagation*. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2012. 17
- GURUBEL, K. J. et al. Chapter 7 - artificial neural networks based on nonlinear bioprocess models for predicting wastewater organic compounds and biofuel production. In: ALANIS, A. Y.; ARANA-DANIEL, N.; LÓPEZ-FRANCO, C. (Ed.). *Artificial Neural Networks for Engineering Applications*. Academic Press, 2019. p. 79 – 96. ISBN 978-0-12-818247-5. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128182475000162>>. 1, 61, 62
- HANNEMANN, F. et al. Cytochrome p450 systems—biological variations of electron transport chains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1770, n. 3, p. 330 – 344, 2007. ISSN 0304-4165. P450. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416506002133>>. 1, 5, 6
- HANSEN, P.; MLADENOVIĆ, N. Variable neighborhood search: Principles and applications. *European journal of operational research*, Elsevier, v. 130, n. 3, p. 449–467, 2001. 82
- HECKE, T. V. The levenberg-marquardt method to fit parameters in the monod kinetic model. *Journal of Statistics and Management Systems*, Taylor & Francis, v. 20, n. 5, p. 953–963, 2017. 66
- JAMMAZI, C. On a sufficient condition for finite-time partial stability and stabilization: applications. *IMA Journal of Mathematical Control and Information*, v. 27, p. 29–56, 2010. 36
- KALIRAJAN, K. A test for heteroscedasticity and non-normality of regression residuals: A practical approach. *Economics Letters*, v. 30, n. 2, p. 133 – 136, 1989. ISSN 0165-1765. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165176589900505>>. 61
- KHAN, F.; SAEED, A.; ALI, S. Modelling and forecasting of new cases, deaths and recover cases of covid-19 by using vector autoregressive model in pakistan. *Chaos, Solitons & Fractals*, v. 140, p. 110189, 2020. ISSN 0960-0779. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960077920305853>>. 61, 62
- KHAN, M. A. et al. Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy. *Renewable Energy*, Elsevier, v. 129, p. 754–768, 2018. 8
- KIM, K. B. et al. Stochastic modeling of chlorophyll-a for probabilistic assessment and monitoring of algae blooms in the lower nakdong river, south korea. *Journal of Hazardous Materials*, v. 400, p. 123066, 2020. ISSN 0304-3894. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389420310554>>. 2
- KIM, S. et al. Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of chlorella sorokiniana in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, v. 144, p. 8 – 13, 2013. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413009875>>. 6, 15

- KOSOUROV, S. et al. Sustained hydrogen photoproduction by *chlamydomonas reinhardtii*: effects of culture parameters. *Biotechnology and bioengineering*, Wiley Online Library, v. 78, n. 7, p. 731–740, 2002. 1, 8
- KRUSE, O.; HANKAMER, B. Microalgal hydrogen production. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 21, n. 3, p. 238 – 243, 2010. ISSN 0958-1669. Energy biotechnology – Environmental biotechnology. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166910000546>>. 1, 4
- KWAK, H. S. et al. Synergistic effect of multiple stress conditions for improving microalgal lipid production. *Algal research*, Elsevier, v. 19, p. 215–224, 2016. 4
- KYZAS, G. Z. et al. Emerging nanocomposite biomaterials as biomedical adsorbents: an overview. *Composite Interfaces*, Taylor & Francis, v. 25, n. 5-7, p. 415–454, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09276440.2017.1361716>>. 5
- LAPIN, K. S. Partial uniform boundedness of solutions of systems of differential equations with partly controlled initial conditions. *Differential Equations*, v. 50, p. 305–311, 2014. 28
- LARSEN, C. et al. Mechanisms of pharmaceutical and personal care product removal in algae-based wastewater treatment systems. *Science of The Total Environment*, v. 695, p. 133772, 2019. ISSN 0048-9697. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719337131>>. 5
- LEE, E.; JALALIZADEH, M.; ZHANG, Q. Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*, v. 12, p. 497 – 512, 2015. ISSN 2211-9264. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926415300783>>. 2, 4, 6, 15
- LIN, J.-G.; WEI, B.-C. Testing for heteroscedasticity in nonlinear regression models. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, Taylor & Francis, v. 32, n. 1, p. 171–192, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1081/STA-120017806>>. 61
- LIN, J.-G.; WEI, B.-C. Testing for heteroscedasticity and/or autocorrelation in longitudinal mixed effect nonlinear models with ar(1) errors. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, Taylor & Francis, v. 36, n. 3, p. 567–586, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610920601001816>>. 61
- LIRAN, O. et al. Microoxic niches within the thylakoid stroma of air-grown *chlamydomonas reinhardtii* protect [fefe]-hydrogenase and support hydrogen production under fully aerobic environment. *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists, v. 172, n. 1, p. 264–271, 2016. ISSN 0032-0889. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/172/1/264>>. 6
- LIU, L.-M. et al. *Forecasting and time series analysis using the SCA statistical system*. [S.l.: s.n.], 1992. v. 1. 61
- MATHIMANI, T.; PUGAZHENDHI, A. Utilization of algae for biofuel, bio-products and bio-remediation. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, Elsevier, v. 17, p. 326–330, 2019. 4
- MOAL, M. L. et al. Eutrophication: a new wine in an old bottle? *Science of the Total Environment*, Elsevier, v. 651, p. 1–11, 2019. 1, 3
- MOOD, A. M. Introduction to the theory of statistics. McGraw-hill, 1950. 19

- MOTA, F. S. B.; SPERLING, M. von. *Projeto PROSAB - Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção*. Rio de Janeiro, Brasil: ABES, 2009. 1–428 p. 3, 6, 14, 58
- MURWANASHYAKA, T. et al. Kinetic modelling of heterotrophic microalgae culture in wastewater: Storage molecule generation and pollutants mitigation. *Biochemical Engineering Journal*, Elsevier, v. 157, p. 107523, 2020. 36
- NASR, N. et al. Application of artificial neural networks for modeling of biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 38, n. 8, p. 3189 – 3195, 2013. ISSN 0360-3199. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319912028443>>. 2
- NICOLETTI, G. et al. A technical and environmental comparison between hydrogen and some fossil fuels. *Energy Conversion and Management*, v. 89, p. 205–213, 2015. 8
- NUNES, N. S. P. et al. Analysis of functional relationships between the cell quantification variables in the microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v. 12, n. 1, 2020. 54
- OKSENDAL, B. *Stochastic differential equations: an introduction with applications*. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 2013. 17
- PENG, L. et al. A novel mechanistic model for nitrogen removal in algal-bacterial photo sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, v. 267, p. 502 – 509, 2018. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418310228>>. 15
- POLLET, B. G.; KOCHA, S. S.; STAFFELL, I. Current status of automotive fuel cells for sustainable transport. *Current Opinion in Electrochemistry*, v. 16, p. 90 – 95, 2019. ISSN 2451-9103. *Electrochemical Materials and Engineering • Sensors and Biosensors*. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451910319300651>>. 8
- R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria, 2019. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. 51, 83
- RAHMATI, M.; ALIPANAHI, Z.; MOZAFARI, M. Emerging biomedical applications of algal polysaccharides. *Current Pharmaceutical Design*, Bentham Science Publishers, v. 25, n. 11, p. 1335–1344, 2019. 4
- RANGANATHAN, A. The levenberg-marquardt algorithm. *Tutorial on LM algorithm*, v. 11, n. 1, p. 101–110, 2004. 66
- RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2008. 3, 6
- RIO-CHANONA, E. del et al. Review of advanced physical and data-driven models for dynamic bioprocess simulation: Case study of algae-bacteria consortium wastewater treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 116, 11 2018. 36
- RODGERS, J. L.; NICEWANDER, W. A. Thirteen ways to look at the correlation coefficient. *The American Statistician*, Taylor & Francis, v. 42, n. 1, p. 59–66, 1988. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00031305.1988.10475524>>. 53
- ROMAN, M.; SELIȘTEANU, D. Modeling of microbial growth bioprocesses—equilibria and stability analysis. *International Journal of Biomathematics*, World Scientific, v. 9, n. 05, p. 1650067, 2016. 36

- ROMÃO, B. et al. Biohydrogen production through dark fermentation by a microbial consortium using whey permeate as substrate. *Applied biochemistry and biotechnology*, Springer, v. 172, n. 7, p. 3670–3685, 2014. 1, 8
- RUCKSTUHL, A. Einführung in die nichtlineare regression. *Institut für Datenanalyse und Prozessdesign, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Stand: Juni, 2012.* 64, 67
- SAMPAIO, R.; LIMA, R. de Q. *Modelagem estocástica e Quantificação de Incertezas*. [S.l.]: São Carlos: Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional, 2012. 18
- SCHMIDELL, W. et al. *Biotecnologia industrial-vol. 2: engenharia bioquímica*. [S.l.]: Editora Blucher, 2001. v. 2. 4, 6, 11, 13, 15
- SEBER, G. A.; WILD, C. J. Nonlinear regression. *New Jersey: John Wiley & Sons*, v. 62, p. 63, 2003. 66
- SHAABAN, H. et al. Environmental contamination by pharmaceutical waste: assessing patterns of disposing unwanted medications and investigating the factors influencing personal disposal choices. *J Pharmacol Pharm Res*, v. 1, n. 1, p. 003, 2018. 4, 6
- SHAH, A.; SHAH, M. Characterisation and bioremediation of wastewater: A review exploring bioremediation as a sustainable technique for pharmaceutical wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, v. 11, p. 100383, 2020. ISSN 2352-801X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352801X19302607>>. 4
- SILVA, A. et al. The use of algae and fungi for removal of pharmaceuticals by bioremediation and biosorption processes: A review. *Water*, MDPI AG, v. 11, n. 8, p. 1555, Jul 2019. ISSN 2073-4441. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/w11081555>>. 5
- SILVA, M. I. d.; BORTOLI, Á. L. D. Modelagem e simulação do processo de formação do biogás. *Proceeding Series of the Brazilian Society of Computational and Applied Mathematics. São José dos Campos: SBMAC, 2017, 2018.* 2
- SINGER, J. M.; ANDRADE, D. d. Análise de dados longitudinais. *SIMPÓSIO NACIONAL DE PROBABILIDADE E ESTATÍSTICA*, Embrapa São paulo, v. 7, 1986. 61, 64, 68
- SINGH, A. K. et al. A review on standard methods for identification of bga, growth factors of bga, culture of algal biofertilizer, n2 fixation by bga, rural production technology of bga on the habitat of sidhi region (mp). 2016. 54, 57
- SIVAKUMAR, G. et al. Integrated green algal technology for bioremediation and biofuel. *Bioresource technology*, Elsevier, v. 107, p. 1–9, 2012. 4
- SLOMPO, N. D. M. et al. Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. *Journal of Environmental Management*, v. 268, p. 110693, 2020. ISSN 0301-4797. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479720306253>>. 1, 4, 5, 54
- SMIRNOVA, A.; SIRB, B.; CHOWELL, G. On stable parameter estimation and forecasting in epidemiology by the levenberg–marquardt algorithm with broyden’s rank-one updates for the jacobian operator. *Bulletin of mathematical biology*, Springer, v. 81, n. 10, p. 4210–4232, 2019. 66

SOETAERT, K.; PETZOLDT, T. et al. Inverse modelling, sensitivity and monte carlo analysis in r using package fme. *Journal of statistical software*, v. 33, n. 3, p. 1–28, 2010. 66, 67, 69

SONG, W. et al. Biohydrogen production by immobilized chlorella sp. using cycles of oxygenic photosynthesis and anaerobiosis. *Bioresource Technology*, Elsevier, v. 102, n. 18, p. 8676–8681, 2011. 8

STROGATZ, S. H. *Nonlinear dynamics and chaos with student solutions manual: With applications to physics, biology, chemistry, and engineering*. [S.l.]: CRC press, 2018. 33, 36

SULEIMAN, A. K. A. et al. From toilet to agriculture: Fertilization with microalgal biomass from wastewater impacts the soil and rhizosphere active microbiomes, greenhouse gas emissions and plant growth. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 161, p. 104924, 2020. ISSN 0921-3449. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344920302421>>. 1, 4, 5, 6

SUN, C. et al. Degradation and transformation of furfural derivatives from hydrothermal pre-treated algae and lignocellulosic biomass during hydrogen fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier, v. 131, p. 109983, 2020. 9

TELES, F. *Modelagem Matemática e Otimização da Produção de Biohidrogênio via Fermentação Escura*. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Botucatu, 2019. 2

VILLAR-NAVARRO, E. et al. Removal of pharmaceuticals in urban wastewater: High rate algae pond (hrap) based technologies as an alternative to activated sludge based processes. *Water Research*, v. 139, p. 19 – 29, 2018. ISSN 0043-1354. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135418302689>>. 5

VINÇON-LEITE, B.; CASENAVE, C. Modelling eutrophication in lake ecosystems: A review. *Science of The Total Environment*, v. 651, p. 2985 – 3001, 2019. ISSN 0048-9697. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971833777X>>. 3

VOROTNIKOV, V. I. *Partial Stability and Control*. [S.l.]: Birkhäuser Basel, 1998. 430 p. 36

WALLACE, J.; CHAMPAGNE, P.; HALL, G. Multivariate statistical analysis of water chemistry conditions in three wastewater stabilization ponds with algae blooms and ph fluctuations. *Water Research*, v. 96, p. 155 – 165, 2016. ISSN 0043-1354. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135416301737>>. 54

WEI, L.; LI, H.; LU, J. Algae-induced photodegradation of antibiotics: a review. *Environmental Pollution*, p. 115589, 2020. ISSN 0269-7491. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749120362771>>. 5

WHITE, H. A heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimator and a direct test for heteroskedasticity. *Econometrica*, [Wiley, Econometric Society], v. 48, n. 4, p. 817–838, 1980. ISSN 00129682, 14680262. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/1912934>>. 61, 66

WILT, A. de et al. Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams. *Journal of hazardous materials*, Elsevier, v. 304, p. 84–92, 2016. 5, 6

XIA, S. et al. A critical review on bioremediation technologies for cr (vi)-contaminated soils and wastewater. *Critical reviews in environmental science and technology*, Taylor & Francis, v. 49, n. 12, p. 1027–1078, 2019. 4

- XIONG, J.-Q.; KURADE, M. B.; JEON, B.-H. Can microalgae remove pharmaceutical contaminants from water? *Trends in biotechnology*, Elsevier, v. 36, n. 1, p. 30–44, 2018. 4, 5
- YACOBY, I. et al. Photosynthetic electron partitioning between [fefe]-hydrogenase and ferredoxin:nadp⁺-oxidoreductase (fnr) enzymes in vitro. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, v. 108, n. 23, p. 9396–9401, 2011. 8
- YANG, J.; LI, Q.; LI, Y. Enhanced biodegradation/photodegradation of organophosphorus fire retardant using an integrated method of modified pharmacophore model with molecular dynamics and polarizable continuum model. *Polymers*, MDPI AG, v. 12, n. 8, p. 1672, Jul 2020. ISSN 2073-4360. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/polym12081672>>. 5
- YANG, J. et al. Mathematical model of chlorella minutissima utex2341 growth and lipid production under photoheterotrophic fermentation conditions. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 3, p. 3077–3082, 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410017050>>. 36
- YAO, X. et al. A bibliometric review of nitrogen research in eutrophic lakes and reservoirs. *Journal of Environmental Sciences*, Elsevier, v. 66, p. 274–285, 2018. 3, 6
- ZAMBRANO, J. et al. A simple model for algae-bacteria interaction in photo-bioreactors. *Algal Research*, v. 19, p. 155–161, 2016. ISSN 2211-9264. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926416302570>>. 33
- ZANG, C. et al. Comparison of relationships between ph, dissolved oxygen and chlorophyll a for aquaculture and non-aquaculture waters. *Water, Air, & Soil Pollution*, Springer, v. 219, n. 1-4, p. 157–174, 2011. 54
- ZERBE, G. O. Randomization analysis of the completely randomized design extended to growth and response curves. *Journal of the American Statistical Association*, Taylor & Francis, v. 74, n. 365, p. 215–221, 1979. 68, 69
- ZHANG, L. et al. Methane yield enhancement of mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of algal biomass and food waste using algal biochar: Semi-continuous operation and microbial community analysis. *Bioresource technology*, Elsevier, v. 302, p. 122892, 2020. 4
- ZHAO, S.; YUAN, S.; WANG, H. Threshold behavior in a stochastic algal growth model with stoichiometric constraints and seasonal variation. *Journal of Differential Equations*, v. 268, n. 9, p. 5113–5139, 2020. ISSN 0022-0396. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022039619305327>>. 2
- ZOUBOULIS, A.; MOUSSAS, P. Groundwater and soil pollution: Bioremediation. In: NRIAGU, J. (Ed.). *Encyclopedia of Environmental Health*. Burlington: Elsevier, 2011. p. 1037 – 1044. ISBN 978-0-444-52272-6. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444522726000350>>. 1, 4
- ÇELİK, R. Rcev heteroscedasticity test based on the studentized residuals. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, Taylor & Francis, v. 48, n. 13, p. 3258–3268, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03610926.2018.1475566>>. 61

Apêndices

A Cálculo dos pontos de equilíbrio do modelo proposto

Este capítulo é dedicado a demonstrar os Teoremas 3.4 e 3.5. A prova de tais teoremas está descrita a seguir.

Demonstração. Os pontos de equilíbrio $E = (X_t^*, O_t^*, P_t^*, N_t^*)$ apresentados nos Teoremas 3.4 e 3.5 podem ser obtidos ao se resolver o sistema

$$\begin{cases} \dot{X}_t = 0 \\ \dot{O}_t = 0 \\ \dot{P}_t = 0 \\ \dot{N}_t = 0 \end{cases} \implies \begin{cases} (\mu_t + \delta_t)X_t(1 - X_t) = 0 \\ \mu_t X_t Y_{X/O} - \xi(K_O - O_t) = 0 \\ -\mu_t X_t Y_{X/P} - \rho P_t + \alpha_P G = 0 \\ -\mu_t X_t Y_{X/N} = 0 \end{cases}, \quad (\text{A.1})$$

para $\mu_t = \mu_{max} \frac{N_t}{N_t - K_N} \frac{P_t}{P_t - K_P} \frac{K_{i_O}}{K_{i_O} + O_t}$ e considerando dois diferentes casos: $G = 0$ e $G = 1$, e suponha que os parâmetros do Modelo (3.19) são definidos em \mathbb{R} .

Como a concentração algal X_t está presente em todas as equações do Sistema (A.1), determina-se, primeiramente, as condições em que $\dot{X}_t = 0$: $X_t^* = 0$, $X_t^* = 1$ ou $\mu_t^* = -\delta_t$, sendo μ_t^* a velocidade específica de crescimento algal no equilíbrio.

- Primeiro caso - $X_t^* = 0$:

Aplicando em $\dot{O}_t = 0$, obtém-se:

$$-\xi(K_O - O_t^*) = 0 \implies O_t^* = K_O.$$

Fazendo $X_t^* = 0$ em $\dot{P}_t = 0$:

$$-\rho P_t + \alpha_P G = 0 \implies P_t^* = \frac{\alpha_P G}{\rho}, \rho \neq 0.$$

Para que $\dot{N}_t = 0$, quando $X_t^* = 0$, μ_t^* pode assumir qualquer valor e, por conseguinte, N_t^* pode ser qualquer constante não-negativa. Deste modo, fazendo $N_t^* = N_{1,G} \in \mathbb{R}_+$, obtém-se

os seguintes pontos de equilíbrio:

$$S_1^0 = (0, K_O, 0, N_{1,0}), G = 0 \quad \text{e} \quad S_1^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, N_{1,1}\right), G = 1, \quad (\text{A.2})$$

para $\rho \neq 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $N_{1,0} > 0$, $N_{1,1} > 0$, $K_O \geq 0$. No caso em que o valor de $N_{1,G} > 0$, diz-se que o ponto S_1^G representa um equilíbrio sob concentração constante de nitrogênio e ausência de algas.

Se $N_{1,G} = 0$, então este ponto de equilíbrio representa um cenário na ausência de nitrogênio e de algas e pode ser reescrito como:

$$S_5^0 = (0, K_O, 0, 0), G = 0 \quad \text{e} \quad S_5^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right), G = 1, \quad (\text{A.3})$$

para $\rho \neq 0$, $\frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0$, $K_O \geq 0$.

- Segundo caso - $X_t^* = 1$:

Substituindo $X_t^* = 1$ em $\dot{O}_t = 0$ e realizando algumas manipulações algébricas, obtém-se:

$$O_t^* = K_O - \frac{\mu_t^* Y_{X/O}}{\xi}, \quad \xi \neq 0. \quad (\text{A.4})$$

Fazendo $X_t^* = 1$ em $\dot{P}_t = 0$ e realizando algumas manipulações algébricas, determina-se a seguinte expressão:

$$P_t^* = \frac{\alpha_P G - \mu_t^* Y_{X/P}}{\rho}, \quad \rho \neq 0. \quad (\text{A.5})$$

Para determinar os valores de O_t^* e P_t^* , substitui-se $X_t^* = 1$ em $\dot{N}_t = 0$, obtendo-se

$$-\mu_t^* Y_{X/N} = 0 \implies \mu_t^* = 0 \implies N_t^* = 0 \quad \text{ou} \quad P_t^* = 0.$$

Substituindo o valor de μ_t^* nas Equações (A.4) e (A.5), tem-se que $O_t^* = K_O$ e $P_t^* = \frac{\alpha_P G}{\rho}$, $G = 0, 1$, considerando $N_t^* = 0$. Ao fazer $P_t^* = 0$, $\mu_t^* = 0$ e, por conseguinte, $O_t^* = K_O$ e N_t^* é uma constante. Porém, a única possibilidade de P_t^* ser nulo para $X_t^* = 1$ é sob a ausência de fármacos, isto é, $G = 0$, pois quando há presença de fármacos, espera-se que $\alpha_P \neq 0$, mesmo que muito pequeno.

Desta forma, tem-se que:

$$\begin{aligned} S_2^0 &= (1, K_O, 0, N_{2,0}^*), S_3^0 = (1, K_O, 0, 0), \quad \text{para } G = 0, N_{2,0}^* > 0; \\ S_2^1 &= \left(1, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right), \quad \text{para } G = 1, \rho \neq 0. \end{aligned} \quad (\text{A.6})$$

- Terceiro caso - $\mu_t^* = -\delta$:

De $\dot{N}_t = 0$, tem-se que:

$$-\mu_t^* X_t^* Y_{X/N} = 0 \implies \delta X_t^* Y_{X/N} = 0 \implies \delta \neq 0 \text{ e } X_t^* = 0 \text{ ou } \delta = 0 \text{ e } X_t^* = c, c \in \mathbb{R}_+.$$

Fazendo $\mu_t^* = -\delta$ em $\dot{P}_t = 0$, tem-se que $P_t^* = \frac{\alpha_P G}{\rho}$, para $\rho \neq 0$, $\delta \neq 0$ e $X_t^* = 0$ ou $\delta = 0$ e $X_t^* = c$, $c \in \mathbb{R}_+$. Substituindo o valor da velocidade específica de crescimento no equilíbrio em $\dot{O}_t = 0$, tem-se que $O_t^* = K_O$, para as mesmas condições de δ e X_t^* determinadas pela resolução de $\dot{N}_t = 0$.

Para determinar o valor de equilíbrio de N_t quando $\mu_t^* = -\delta$, isola-se N_t^* na equação

$$\mu_t^* = \mu_{max} \frac{N_t^*}{N_t^* - K_N} \frac{P_t^*}{P_t^* - K_P} \frac{K_{iO}}{K_{iO} + O_t^*} = -\delta,$$

em que $O_t^* = K_O$, $P_t^* = \frac{\alpha_P G}{\rho}$. Isolando N_t^* de μ^* , obtém-se

$$N_t^* = \frac{m K_N}{m - 1}, m = -\frac{\delta}{\mu_{max}} \left(1 + \frac{K_O}{K_{iO}}\right) \left(1 - \frac{\rho K_P}{\alpha_P}\right), m \neq 1,$$

para $N_t^* \neq K_N$, $G = 1$ ou $G = 0$. Deste modo, na ausência de estocasticidade, $\delta = 0$:

$$\begin{aligned} S_4^0 &= (X_{4,0}^*, K_O, 0, 0), G = 0, \delta = 0, \\ S_4^1 &= \left(X_{4,1}^*, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, 0\right), G = 1, \rho \neq 0, \frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0, \delta = 0. \end{aligned} \quad (\text{A.7})$$

Por outro lado, sob presença de estocasticidade:

$$S_3^1 = \left(0, K_O, \frac{\alpha_P}{\rho}, \frac{m K_N}{m - 1}\right), G = 1, \rho \neq 0, \frac{\alpha_P}{\rho} \geq 0, \delta \neq 0, K_N \leq 0, \quad (\text{A.8})$$

já que, para $G = 0$, $P_t^* \rightarrow \infty$.

Neste sentido, determinaram-se todos os pontos de equilíbrio descritos nos Teoremas 3.4 e 3.5.

□