



UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
COORDENAÇÃO GERAL DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS

Gilson Gonçalves de Vasconcelos

**Desenvolvimento de Índice de Biodegradação de
Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do
Mar usando Sistema de Inferência *Fuzzy***

Recife
2015

Gilson Gonçalves de Vasconcelos

**Desenvolvimento de Índice de Biodegradação de
Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do
Mar usando Sistema de Inferência Fuzzy**

Dissertação apresentada na Pós-Graduação em
Desenvolvimento de Processos Ambientais da Universidade
Católica de Pernambuco como pré-requisito para obtenção
do título de Mestre em **Desenvolvimento de Processos
Ambientais**.

Área de Concentração: Desenvolvimento em Processos
Ambientais

Linha de Pesquisa: Modelagem, Simulação e Controle de
Processos em Biotecnologia e Meio Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Clarissa Daisy da Costa Albuquerque

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Madeiro Bernardino Junior

Recife

2015

Vasconcelos, Gilson Gonçalves

Desenvolvimento de Índice de Biodegradação de Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do Mar usando Sistema de Inferência Fuzzy /Gilson Gonçalves de Vasconcelos. Orientadora: Clarissa Daisy da Costa Albuquerque. Co-orientador: Francisco Madeiro Bernardino Junior. Recife, 2015, 90f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2015.

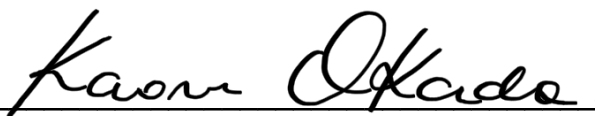
1.Lógica fuzzy 2.Biorremediação 3 *Candida lipolytica* 4.Óleo diesel 5. Planejamento fatorial. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais. Centro de Ciências e Tecnologia.

Desenvolvimento de Índice de Biodegradação de Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do Mar usando Sistema de Inferência Fuzzy

Gilson Gonçalves de Vasconcelos

Examinadores:

Prof^a. Dra. Clarissa Daisy da Costa Albuquerque
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP
Orientadora



Prof^a Dra. Kaoru Okada
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP



Documento assinado digitalmente
NORMA BUARQUE DE GUSMAO
Data: 30/09/2021 17:57:25-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^a. Dra. Norma Buarque de Gusmão
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Defendida em: 18 / 05 / 2015

Coordenadora: Clarissa Daisy da Costa Albuquerque

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Profa. Clarissa Daisy, por fazer parte dos seus projetos de pesquisa, pelos ensinamentos transmitidos tanto nas disciplinas ministradas quanto na elaboração desta dissertação, e pela orientação firme e persistente na condução deste trabalho.

Agradeço a meu co-orientador, Prof. Francisco Madeiro, pela colaboração na elaboração da dissertação.

Agradeço a Universidade Católica de Pernambuco, tanto ao seu corpo administrativo que permitiu a flexibilidade de horário possibilitando a minha participação no Programa de Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais (MDPA), assim como a estrutura propiciada pelos órgãos acadêmicos, a exemplo do NPCIAMB, órgão que tem a eficiente gestão da Profa. Galba Takaki, e que possibilita o desenvolvimento dos projetos de pesquisa originados no MDPA, além de um grupo de docentes tão integrado e preparado.

Agradeço a minha família pelo apoio e suporte emocional que permitiu uma participação equilibrada no mestrado.

Agradeço a oportunidade de participar de um grupo discente tão coeso e colaborativo.

Sumário

AGRADECIMENTOS	iii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	v
LISTA DE TABELAS	vi
1 Capítulo I	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo Geral	3
1.2.2 Objetivos Específicos	3
1.3 Revisão da Literatura	4
1.3.1 Petróleo	4
1.3.2 Remediação de ambientes contaminados por petróleo e derivados	6
1.3.3 Principais fatores envolvidos na biodegradação de petróleo e derivados	9
1.3.4 Sistemas de Inferência Fuzzy (SIF) para processos de biorremediação	15
1.3.5 Índice de Qualidade Global	26
1.4 Referências	28
2. Capítulo II	37
3. Capítulo III	75

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1	Princípio da degradação aeróbia de hidrocarbonetos por microrganismos	11
Figura 2	Funções de pertinência para a variável pH	18
Figura 3	Sistema de inferência <i>fuzzy</i>	26
Quadro 1	Frações típicas do petróleo	06
Quadro 2	Propriedades algébricas para conjuntos <i>fuzzy</i>	20
Quadro 3	Funções de pertinência	22

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1.	Ocorrências envolvendo óleo diesel no Brasil (2001-2010)	07
-----------	--	----

RESUMO

Um índice *fuzzy* para avaliação da qualidade (baixíssimo, baixo, médio, alto e altíssimo) da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar é proposto pela primeira vez. O índice combina informações de um indicador biológico – o rendimento do crescimento da biomassa, de um indicador químico – a variação do potencial hidrogeniônico (pH) e de um indicador físico - a variação da tensão superficial e fornece classificações quali e quantitativa da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar, que podem ser usadas para monitoramento, otimização e controle de processo. Para avaliar o desempenho do índice, um estudo de caso de um processo de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar foi conduzido, empregando dados de doze ensaios de um planejamento fatorial completo 2^3 , tendo como variáveis independentes o pH inicial, a concentração inicial de biomassa e a concentração inicial de óleo diesel e como variáveis respostas a variação do pH, a variação da biomassa e a variação da tensão superficial. Dos ensaios analisados com o índice de biodegradação, cerca de 50% foi classificado como tendo qualidade média, 8,3% baixa, 8,3% baixa/média e 33,3% baixíssima. Os resultados obtidos foram consistentes com os esperados por especialistas e validaram o uso do índice como ferramenta simples, eficaz e econômica para avaliação qualidade de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar, porque além de usar parâmetros que não requer equipamentos sofisticados para sua obtenção, o que representa menos custo, também é um bom descritor da qualidade da biodegradação obtida. O índice desenvolvido tem potencial de aplicação a processos de biodegradação de petróleo e derivados em rios, lagos e solos.

Palavras chaves: lógica *fuzzy*, biorremediação, *Candida lipolytica*, óleo diesel, planejamento fatorial.

ABSTRACT

A fuzzy index for state/quality assessment (very low, low, medium, high and very high) of petroleum hydrocarbon biodegradation and derivatives in seawater is first proposed. The index combines information of a biological indicator - the yield of biomass growth, a chemical indicator - the variation hydrogenionic potential (pH) and a physical indicator - the variation of the surface tension and provides quantitative and qualitative classification of hydrocarbon biodegradation of petroleum and derivatives in seawater, which can be used for monitoring, optimization and process control. To evaluate the performance of the index, a case study of a process of diesel oil biodegradation by *Candida lipolytica* UCP 0988 in seawater was conducted, using data of twelve assays of a full factorial design 2^3 , having as independent variables the initial pH, the initial biomass concentration and the initial concentration of diesel oil as responses variables the variation of pH, the variation of the biomass and the variation of the surface tension. From assays analyzed with the biodegradation index about 50% was rated as having medium quality, 8.3% low, 8.3% low / medium and 33.3% very low. The results were consistent with those expected by experts and validated the use of the index as a simple, effective and economical tool for quality assessing of petroleum hydrocarbon biodegradation and derivatives in seawater. The index developed has potential for application in the oil biodegradation processes and derivatives in rivers, lakes and soils.

1 Capítulo I

1.1 Introdução

A contaminação de hidrocarbonetos resultantes das atividades relacionadas com a indústria petroquímica é um dos maiores problemas ambientais da atualidade oriundos de descargas acidentais, pois estas substâncias apresentam características cancerígenas e poluentes orgânicos neurotóxicos (DAS; CHANDRAN, 2011).

Segundo Dindar *et al.* (2013), a cada ano são derramados, no mundo, oito milhões de toneladas de petróleo no ambiente e isto é uma ameaça grave e uma preocupação geral, então a recuperação dos locais poluídos tornou-se uma questão importante a nível mundial.

Os vazamentos podem ter origem em atividades relacionadas com as refinarias de petróleo, nas descargas acidentais de produtos petrolíferos e em alguns fenômenos naturais, o que pode acarretar danos em relação ao meio ambiente (JAIN; BAJPAI, 2012; LEE *et al.*, 2012). Outras causas são a exploração, produção, refino e armazenamento de petróleo e produtos petrolíferos, assim como os vazamentos e derrames acidentais de navios e petroleiros que ocorrem regularmente durante o transporte (JAIN; BAJPAI, 2012).

A frequente e grande quantidade de petróleo bruto e derivados lançados ao mar, que causam a poluição marinha, representa uma ameaça substancial aos ecossistemas, acarretando custos ambientais e sócio-econômicos importantes (McGENITY, 2014).

A aplicação de dispersantes químicos em derrames de petróleo pode ser uma resposta efetiva de mitigação, especialmente quando grandes derrames ocorrem no oceano e a recuperação mecânica não é facilmente exequível. A recuperação mecânica remove o óleo derramado diretamente a partir do ambiente impactado, enquanto a dispersão química facilita a remoção de óleo, porque o transforma em pequenas gotículas discretas de óleo em um grande volume de coluna de água, então o óleo disperso é removido, principalmente, por degradação ou biodegradação microbiana (PERSONNA *et al.*, 2014)

O processo de biodegradação atua sobre os produtos petrolíferos liberados no ambiente, mas a ocorrência deste fenômeno depende da biodegradabilidade inerente do poluente, assim como da presença da microbiota adequada ao local (CHEMLAL et al., 2013).

A biorremediação é uma tecnologia que tem demonstrado bons resultados para o tratamento de locais contaminados, uma vez que é eficaz em termos de custos e pode conduzir a completa mineralização (DAS; CHANDRAN, 2011).

A inteligência artificial, através da lógica *fuzzy*, tem sido usada frequentemente para tratar as incertezas dos dados e a subjetividade dos problemas ambientais, e pode-se encontrar na literatura vários estudos que foram realizados para criação de índices de qualidade de água (LERMONTOV *et al.*, 2009; SOROUGH; MOUSAVI; GHARECHAH, 2011; GARCIA *et al.*; 2012; PEREIRA; OCAZONEZ; TOMAZ, 2012; GHARIBI *et al.*, 2012).

A abordagem de lógica *fuzzy* já foi aplicada para controle e monitoramento de processos biotecnológicos, incluindo processos de biodegradação. Esta abordagem é semelhante à forma de raciocínio humano, ou seja, a base de regras de decisão de um sistema de inferência *fuzzy* é projetada e fundamentada em regras *if-then*, planejadas por especialistas, que modelam o pensamento humano (ALEXIEVA *et al.*, 2008; OSIRO; LIMA-JUNIOR; CARPINETTI, 2014).

A construção de um índice de qualidade, baseado na Lógica *Fuzzy*, com a finalidade de medir a qualidade do processo de biorremediação de petróleo e derivados em água do mar, é de fundamental importância para avaliação do referido processo.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um índice de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar usando sistema de inferência *fuzzy* (IBDHCAM-f1).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Implementar um sistema de inferência *fuzzy* para determinação do IBDHCAM-f1
- Validar o IBHCAM-f1 usando dados experimentais de processos de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988, em água do mar, suplementada com fontes de nitrogênio e fósforo.

1.3 Revisão da Literatura

1.3.1 Petróleo

O petróleo é a fonte de energia predominante e os combustíveis que são extraídos dele são usados nos meios de transporte: automóveis; ônibus, caminhões, navios, aviões. O petróleo bruto e processado é transportado em mar e terra em grandes quantidades e as descargas para os oceanos são, geralmente, da ordem de vários milhões de toneladas por ano tanto em razão de acidentes, quanto por limpeza e/ou manutenção dos meios utilizados para estas finalidades (CONNELL *et al.*, 1997). Além de servir como base para a fabricação da gasolina e do óleo diesel, principais combustíveis para automóveis e veículos de transporte de cargas e de passageiros, vários outros produtos, como gás natural, GLP (Gás Liquefeito de Petróleo), nafta, querosene, lubrificantes, são derivados do petróleo.

O petróleo além de se impor como principal elemento da matriz energética, com o advento da petroquímica, também passou a ser utilizado para produzir centenas de compostos, tais como: plásticos, borrachas sintéticas, tintas, corantes, adesivos, solventes, detergentes, explosivos, produtos farmacêuticos e cosméticos (THOMAS, 2004).

Às misturas de hidrocarbonetos que podem ser encontradas no estado sólido, líquido ou gasoso é dado o nome de Petróleo (do latim *petra* = rocha e *oleum* = óleo). Existe uma grande variedade de compostos de carbono e hidrogênio quimicamente agrupados em séries, onde as mais comuns são as parafinas, as olefinas e os hidrocarbonetos aromáticos (ROSA, CARVALHO e XAVIER, 2011).

A exploração de petróleo, como produto na sociedade moderna, teve início em 1859, quando começou a exploração comercial nos Estados Unidos, em razão da descoberta do Coronel Drake, em Tittusville, Pensilvânia (THOMAS 2004).

O Petróleo é formado por uma combinação complexa de hidrocarbonetos (alifáticos, naftênicos e aromáticos) e sua composição tem principalmente: alcanos; alcanos ramificados; cicloalcanos e aromáticos; que representam entre 50 e 90% de sua constituição. A sua composição química é muito variada e depende da variedade de matéria orgânica da qual se originou (CONNELL *et al.*, 1997).

A recuperação primária é usada quando a pressão do poço (reservatório subterrâneo) permite que o óleo seja extraído sem qualquer ajuda externa sendo apenas controlado o seu fluxo, através de uma rede de transporte tubular para o

local de armazenamento e processamento. A recuperação secundária é necessária quando a pressão do poço cai e é preciso usar o recurso de injeção de fluidos para aumentar a pressão do reservatório, e pôr fim a recuperação terciária é obtida através de métodos de recuperação térmica de petróleo, que é feita através da injeção de vapor ou da queima *in-situ* para aquecer o óleo envolvente, assim como o uso de surfactantes para alterar tensão superficial entre a água e o óleo do reservatório (TENNYSON, 1998; TZIMAS *et al.*, 2005).

O petróleo é constituído de centenas de compostos químicos e é praticamente impossível fazer a separação em componentes puros ou em misturas de composição conhecida, então, normalmente, ele é separado em frações pela faixa de ebulição dos compostos, conforme Quadro 1 (THOMAS, 2004).

Quadro 1 – Frações típicas do petróleo (Fonte: THOMAS, 2004)

Fração	Temperatura de ebulição (°C)	Composição aproximada	Usos
Gás residual Gás liquefeito de petróleo – GLP	Até 40	C ₁ – C ₂ C ₃ – C ₄	Gás combustível, Gás combustível engarrafado, uso doméstico e industrial
Gasolina	40 – 75	C ₅ – C ₁₀	Combustível de automóvel, solvente
Querosene	175 – 235	C ₁₁ – C ₁₂	Iluminação, combustível de aviões a jato
Gasóleo leve	235 – 305	C ₁₃ – C ₁₇	Diesel, fornos.
Gasóleo pesado	305 – 400	C ₁₈ – C ₂₅	Combustível, matéria-prima p/lubrificantes.
Lubrificantes	400 – 510	C ₂₆ – C ₃₈	Óleos lubrificantes
Resíduo	Acima de 510	Acima de C ₃₈	Asfalto, piche, impermeabilizantes.

O óleo diesel é composto principalmente por alcanos, mas também inclui uma pequena quantidade (4% do seu conteúdo) de compostos aromáticos (WOLICKA *et al.*, 2009), e faz parte dos hidrocarbonetos na faixa de 9 a 11 átomos

de carbono e a sua faixa de destilação está em torno de 200°C (BAIRD; CANN, 2011).

De acordo com dados da CETESB (2014), os primeiros registros de incidentes envolvendo poluição por óleo no Brasil estão relacionados com transporte marítimo, no litoral sudeste, entre 1960/1980 e foram os que liberaram maiores volumes de petróleo ao mar (6.000 m³). Nos anos seguintes, as ocorrências passaram a acontecer também em oleodutos, em terminais e refinarias de várias partes do país e com volumes menores. No período de 2001 a 2010, quatro incidentes envolvendo óleo diesel merecem destaque. A Tabela 1 apresenta informações sobre causa/fonte, data, área atingida e volume vazado de cada um deles.

Tabela 1. Ocorrências envolvendo óleo diesel no Brasil - 2001-2010 (CETESB 2014)

Fonte/Causa	Data	Local/áreas atingidas	Vol. vazado estimado
Rompimento de oleoduto	fev/2001	Mato Grosso Córrego Caninana	4 .000 m ³ de óleo diesel
Transporte marítimo Embarcação empurradora NORSUL	jan/2008	Baía de S. Francisco (SC) Praias e costões	116.000 L de diesel/lubrificante
Transporte Aquaviário Vazamento de embarcação	jan/2009	Acre Rio Purus	25.000 L óleo diesel
Transporte Aquaviário Naufrágio de embarcação	jun/2009	Rio Negro (AM)	5.000 L de óleo diesel

1.3.2 Remediação de ambientes contaminados por petróleo e derivados

Os processos de remediação de ambientes contaminados por petróleo e derivados podem ser classificados quanto ao método e o local a ser utilizado.

Em relação ao local temos o tratamento *in situ* que é feito onde ocorreu a contaminação, enquanto no tratamento *ex situ* o material é tratado fora do local (PEREIRA JR; GOMES e SORIANO, 2009). No tratamento *ex situ*, como os resíduos são removidos a partir de suas posições originais, a maior parte do local pode ser recuperada rapidamente (MESANIA, JENNINGS, 2000).

No processo de remediação, podem ser usados métodos físicos, químicos ou biológicos (biorremediação). Em termos práticos, na ocorrência de um incidente

como derramamento ou vazamento de óleo, as primeiras providências a serem tomadas são de natureza física, geralmente, remoção mecânica (PEREIRA JR; GOMES; SORIANO, 2009).

A extração de vapor de solo, um desses métodos físicos, pode deixar resíduos orgânicos e inorgânicos não-voláteis, assim como ao se bombear e tratar águas subterrâneas também podem ser deixadas fontes insolúveis (MESANIA; JENNINGS, 2000).

Após a utilização dos métodos físicos, podem ser utilizados produtos químicos (surfactantes químicos) para dispersão do óleo. Os surfactantes químicos são moléculas anfipáticas, que podem ser obtidas por processos químicos (produtos sintéticos), usadas pela indústria do petróleo na limpeza de derramamentos e na recuperação de ambientes contaminados por petróleo, mas estes produtos, além de não serem biodegradáveis, podem ser tóxicos ao meio ambiente (TONINI; REZENDE; GRATIVOL, 2010).

As técnicas biotecnológicas são utilizadas em um terceiro momento, após as intervenções de origem físico-químicas, para a biotransformação do material restante, podendo chegar à mineralização, fenômeno caracterizado pela conversão dos hidrocarbonetos em gás carbônico (CO_2) e água (PEREIRA JR; GOMES; SORIANO, 2009).

Sonawdekar (2012) afirma que a técnica de biorremediação está se tornando cada vez mais popular na limpeza de áreas contaminadas, porque oferece a possibilidade de destruir ou tornar inofensivos vários contaminantes, inclusive petróleo e seus derivados, usando atividade biológica natural a custos relativamente baixos.

Segundo Dindar *et al.* (2013), é importante, para o futuro dos países em desenvolvimento, melhorar o conhecimento sobre os efeitos da remediação da poluição relacionada ao petróleo, quanto ao uso sustentável do meio ambiente, em razão dos efeitos nocivos sobre o próprio ambiente e aos seres humanos em geral.

A biorremediação é obtida pelo uso de processos naturais no qual organismos vivos, normalmente plantas ou microrganismos, são usados para remover substâncias químicas nocivas e contaminação do meio ambiente

(GAYLARDE; BELLINASSO; MANFIO, 2005; BAIRD; CANN, 2011; CAO; XIONG; LUND, 2013). Um grande número de microrganismos (bactérias, fungos e algumas microalgas) são capazes de utilizar hidrocarbonetos de petróleo como a única fonte de carbono e energia (DAS; CHANDRAN; 2011).

Na biodegração é importante que sejam conhecidas as características do local contaminado, antes de ser iniciado o tratamento. Para tanto, informações básicas, como concentração de óleo residual, densidade populacional dos microrganismos que degradam petróleo e o potencial de biodegradação, devem ser consideradas em relação ao local, para permitir que se tente alcançar as condições ótimas de biodegradação. A população microbiana, na maioria dos estudos de campo, é um fator fundamental para que sejam obtidos bons resultados, principalmente porque a mesma pode ser afetada pelas condições ambientais e composição dos hidrocarbonetos (BENTO *et al.*, 2005).

A atenuação natural, também conhecida como biorremediação intrínseca, é constituída por processos físicos, químicos e biológicos, que reduzem a concentração de contaminantes sem qualquer intervenção humana, ou seja, o processo de biodegradação ocorre de forma natural devido a adaptação da microbiota nativa à presença do contaminante, que através de processos químicos e físicos (oxidação, lixiviação, volatilização), conduz a redução da concentração do poluente. É uma opção quando a taxa de ocorrência natural de biodegradação do contaminante é mais rápida do que a taxa de migração dos contaminantes (MARQUES, 2010; SONAWDEKAR, 2012).

O bioestímulo procura acelerar as taxas de reação de biodegração pela estimulação do crescimento de degradadores endógenos, aceleração esta que é obtida pelo suprimento de oxigênio, adição de nutrientes ou de outros co-substratos, com o objetivo de incentivar o crescimento e a atividade das bactérias existentes no solo ou na água (PEREIRA JR; GOMES; SORIANO, 2009; DAS; CHANDRAN, 2011; SONAWDEKAR, 2012). O nitrogênio e o fósforo são exemplos de nutrientes que podem ser adicionados porque, ao ocorrer um grande derramamento de petróleo no ambiente, a oferta de carbono é aumentada dramaticamente, e a disponibilidade de nitrogênio e fósforo, geralmente, se torna o fator limitante para a degradação do óleo (DINDAR *et al.*, 2013).

O bioaumento está relacionado à adição de microrganismos exógenos ao ambiente para degradar os contaminantes. Esta técnica é mais usada em tratamentos *ex-situ*, onde é possível controlar as condições de crescimento e atuação dos microrganismos adicionados. Nos tratamentos que ocorrem no local da contaminação este método não tem sido muito bem sucedido, porque ainda não foram desenvolvidos mecanismos de biorremediação que tenham domínio completo sobre os organismos introduzidos em um ambiente externo (PEREIRA JR; GOMES; SORIANO, 2009; DAS; CHANDRAN; 2011, SONAWDEKAR, 2012).

1.3.3 Principais fatores envolvidos na biodegradação de petróleo e derivados

A efetividade da estratégia de biorremediação depende de um grande número de fatores (oxigênio; disponibilidade de nutrientes; temperatura, pH etc.) que podem afetar as atividades microbianas, inclusive a sua capacidade de degradar. O desempenho do processo pode envolver o bioestímulo, através da adição de nutrientes e oxigênio para estimular a população microbiana e/ou o bioaumento através da inoculação da mistura de consórcios bacterianos (KERR e CAPONE, 1988; TACCARI *et al.*, 2012).

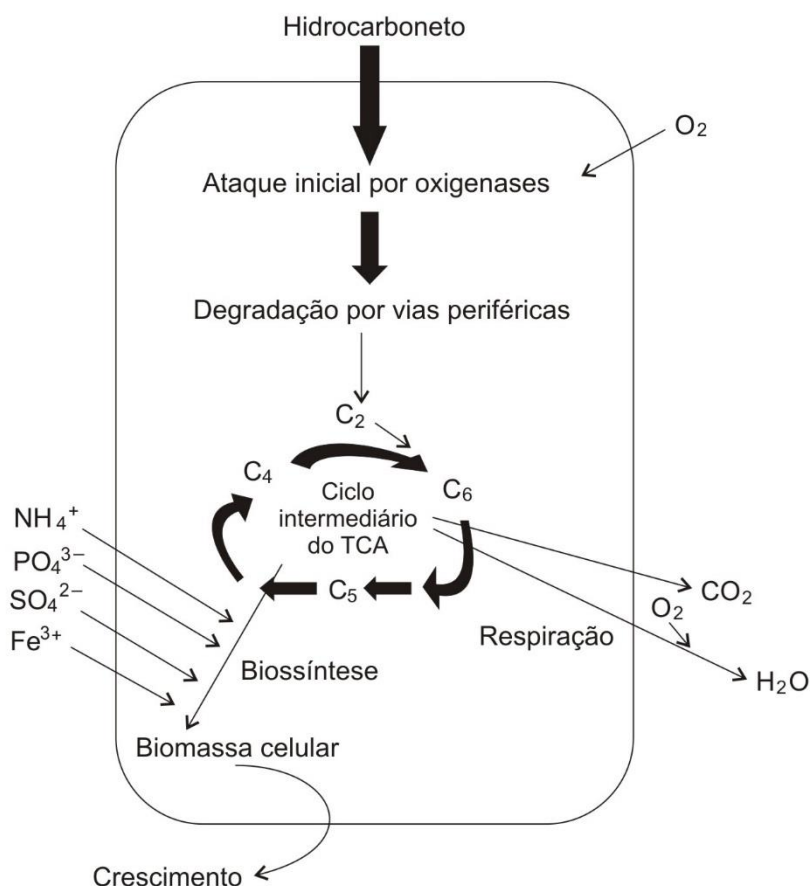
Segundo Sonawdekar (2012), para a biorremediação ser eficaz, os organismos devem ser metabolicamente ativos e devem produzir diferentes enzimas necessárias para a biodegradação, processo este que pode ser executado em condições aeróbicas ou de forma anaeróbica de acordo com a escolha do microrganismo.

A degradação mais rápida e completa da maioria de poluentes orgânicos ocorre sob condições aeróbicas. A Figura 1 mostra o princípio fundamental da degradação aeróbica de hidrocarbonetos (FRITSCHE; HOFRICHTER, 2000). O ataque intracelular inicial de poluentes orgânicos é um processo oxidativo e a ativação, bem como a incorporação de oxigênio é a reação enzimática chave, catalisada por oxigenases e peroxidases. As vias de degradação periféricas convertem os poluentes orgânicos, passo a passo, em intermediários do metabolismo central, por exemplo, do ciclo intermediário do ácido tricarboxílico (*Tricarboxylic Acid Cycle* -TCA).

A Biossíntese de biomassa celular ocorre a partir dos metabólitos precursores centrais, por exemplo, acetil-CoA, succinato, piruvato. Os açúcares necessários para várias biossíntese e crescimento são sintetizados por gliconeogênese (síntese de glicose a partir de não-carboidratos) (DAS; CHANDRAN, 2011).

A degradação de hidrocarbonetos de petróleo pode ser mediada por sistema enzimático específico. Outros mecanismos envolvidos são: (1) ligação de células microbianas aos substratos e (2) produção de biosurfactantes (HOMEL, 1990). O mecanismo de absorção relacionado à adesão de células a gotas de óleo é ainda desconhecido, mas a produção de biosurfactantes tem sido bem estudada (DAS; CHANDRAN, 2011).

Figura 1: Princípio da degradação aeróbica de hidrocarbonetos por microrganismos (Fonte: DAS; CHANDRAN, 2011).



Os processos de biodegradação são tipicamente não-lineares e variantes no tempo. Para determinar a extensão de um processo de degradação, dados

qualitativos e quantitativos de variáveis que caracterizam a dinâmica do processo devem ser monitorados, coletados, analisados e processados. Como muitas das variáveis podem ser estimadas por meio de análises laboratoriais dispendiosas, um mínimo de variáveis representativas deve ser selecionado para modelagem e caracterização do processo, tais como: temperatura, biomassa, pH, salinidade, tensão superficial e atividade de emulsificação (BASTIN; DOCHAIN, 1990; HONDA *et al.*, 2000).

1.3.3.1 Temperatura

A temperatura é um importante fator físico na biodegradação e tem um papel importante na natureza e extensão do metabolismo microbiano dos hidrocarbonetos, porque afeta diretamente a química dos poluentes assim como afeta a fisiologia e diversidade da microbiota. A temperatura afeta as taxas de reações bioquímicas, as taxas de muitos deles dobram para cada 10°C de aumento da temperatura, e acima de uma certa temperatura as células morrem. Em baixas temperaturas, a viscosidade do óleo aumenta enquanto a volatilidade dos hidrocarbonetos tóxicos de baixo peso molecular é reduzida, retardando o início da biodegradação (ATLAS, 1995; MARGESIN; SCHINNER, 2001; VENOSA; ZHU, 2003; DAS; CHANDRAN, 2011, THAPA; KUMAR; GHIMIRE, 2012).

A biodegradação de hidrocarbonetos pode ocorrer em um intervalo amplo de temperatura, entretanto a taxa de biodegradação, geralmente, diminui com a redução da temperatura. A biodisponibilidade e a solubilidade das substâncias hidrofóbicas menos solúveis, tais como os hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos policíclicos, são dependentes da temperatura. As maiores taxas de degradação, normalmente, acontecem no intervalo de 30 a 40°C para solos, entre 20 e 30°C em água doce e entre 15 e 20°C em água do mar (MARGESIN; SCHINNER, 2001; DAS; CHANDRAN, 2011).

Os principais fatores que limitam a biodegradação de poluentes de petróleo no mar são as baixas temperaturas da água, a escassez de nutrientes minerais (especialmente nitrogênio e fósforo), o esgotamento do oxigênio dissolvido em áreas anteriormente não poluídas, a escassez de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos e os componentes recalcitrantes e tóxicos do óleo (JAIN; BAJPAI, 2012).

1.3.3.2 Biomassa

A biomassa tem uma fisiologia que pode influenciar os processos de sorção, em que as bactérias podem alterar as suas proteínas de superfície celular em resposta ao meio ambiente, propiciando o crescimento de bactérias, em diferentes meios e condições de crescimento, podendo ocasionar alterações nas propriedades superficiais (STRINGFELLOW; ALVAREZ-COHEN, 1999).

A viabilidade de cada processo de biodegradação depende da concentração de biomassa, da densidade populacional e das atividades enzimáticas microbianas, assim como da estrutura molecular, da concentração do contaminante, e do tipo de transformação microbiana que ocorre (BOOPATHY, 2000).

O aumento da concentração de biomassa é um dos principais fatores que indicam a eficiência de um processo de biodegradação de hidrocarbonetos, porque o crescimento da biomassa microbiana resulta da utilização do hidrocarboneto pelo microrganismo para se alimentar e se reproduzir, principalmente se o hidrocarboneto é usado como única fonte de carbono (DAS; CHANDRAN; 2011, SONAWDEKAR, 2012; NIKOLOPOULOU *et al.*, 2013).

Para Pereira Jr, Gomes; Soriano (2009), a produção de biossurfactantes ou bioemulsificantes, que aumenta a taxa de consumo de substrato oleoso, acarreta o aumento da taxa de biodegradação e, conseqüentemente, da biomassa microbiana.

1.3.3.3 pH (Potencial Hidrogeniônico)

A presença de microrganismos com capacidades metabólicas adequadas é um requisito importante para manter a biodegradação de hidrocarbonetos e as taxas de crescimento dos microrganismos elevadas, mas para isto também é necessário que sejam asseguradas: concentrações adequadas de oxigênio; presença de nutrientes e que o pH esteja em torno da neutralidade, pH = 7,0 (DAS; CHANDRAN, 2011).

No processo de biorremediação, a maioria dos microrganismos envolvidos encontram o ambiente mais favorável para o seu crescimento no pH que se situa na faixa entre 6,0 e 8,0, ficando em torno de 7,0 o valor ótimo, enquanto os fungos são mais tolerantes a condições ácidas (PEREIRA JR; GOMES; SORIANO, 2009).

A mineralização de hidrocarbonetos é favorecida por valores de pH próximo ao neutro (entre 6,0 e 8,0), entretanto a biodegradação também ocorre em aquíferos naturais com valores de pH entre 4,5 a 5,0 (MARGESIN; SCHINNER, 2001).

1.3.3.4 Salinidade

A salinidade é uma medida do "nível de sal" na água do mar. As medidas de salinidade são obtidas por medições da condutividade elétrica através da razão entre a condutividade da água do mar e um material de referência IAPSO (International Association for the Physical Sciences of the Oceans), tendo em vista que a condutividade elétrica da água do mar também é altamente dependente da temperatura e tem uma ligeira dependência da pressão (PAWLOWICZ, 2013).

A biodegradação de petróleo é afetada pelas alterações de salinidade, principalmente em ambientes estuarinos onde foi identificado como fator importante, porque regulamenta as atividades microbianas, inclusive a mineralização de xenobióticos. Nestes ambientes, os organismos marinhos se misturam com as formas de água doce, afetando a população microbiana, porque os organismos de água doce podem sobreviver por longos períodos na água do mar, mas poucos conseguem se reproduzir, enquanto as espécies marinhas têm faixa de salinidade ideal entre 2,5-3,5‰ e crescem pouco ou quase nada em salinidade inferior a 1,5-2,0‰ (KERR; CAPONE, 1988; VENOSA; ZHU, 2003).

Segundo Pereira Jr, Gomes; Soriano (2009) a alta salinidade afeta negativamente a atividade microbiana e os fungos resistem menos às condições de alta salinidade do que as bactérias, ou seja, em ambientes costeiros, a biorremediação é afetada pela alta concentração salina.

1.3.3.5 Tensão superficial

A tensão superficial está relacionada à contração da superfície de um líquido que tem como tendência resistir a uma força externa e é uma propriedade fundamental que tem significativa influência no estudo de processos de biorremediação. O efeito observado é o de que o líquido tem uma força que traz para o seu interior a sua superfície como uma membrana elástica esticada (BUSH, 2004).

Os surfactantes são compostos que reduzem a energia livre do sistema, substituindo as moléculas de massa de maior energia na interface e são usados com o objetivo de reduzir as tensões superficiais, aumentar a solubilidade, o poder de detergência, a capacidade de absorção de líquidos e a capacidade de formação de espuma, ou seja, todos os surfactantes têm uma propriedade comum que é a redução da tensão superficial do líquido (ZHANG; MILLER, 1992; MULLIGAN, 2005).

O crescimento de microrganismos degradadores de petróleo ocorre quase exclusivamente na interface óleo-água. Por esta razão a área de superfície do óleo é importante, porque a dispersão de hidrocarbonetos na coluna de água, na forma de emulsões de óleo em água aumenta a área de superfície do óleo, o que proporciona uma maior facilidade para o ataque microbiano. A formação de emulsões de óleo em água, que permite o aumento da população microbiana e a produção de biosurfactantes, é um processo importante na eliminação de hidrocarbonetos por bactérias e fungos (VENOSA; ZHU, 2003).

1.3.3.6 Atividade de emulsificação

A emulsificação é caracterizada pela incorporação da água ao óleo, formando um novo composto (mousse: emulsão de óleo em água), que é relativamente mais resistente a outros processos de intemperização, porque aumenta de duas a três vezes o volume do composto que contém o óleo (mousse), cuja composição varia de 30 a 80% de água, tem densidade próxima à da água do mar e forma *tar balls* – pelotas de óleo (SOUZA, 2009).

Cirigliano e Carman (1984) verificaram que as culturas de *Candida lipolytica*, quando cultivadas na presença de substratos de carbono, imiscíveis em água, produziam uma atividade de emulsificação capaz de estabilizar emulsões óleo-em-água e que alguns microrganismos que tem a capacidade de utilizar hidrocarbonetos também são capazes de emulsionar estes hidrocarbonetos durante o processo de degradação dos mesmos.

O indicador indireto de atividade de emulsificação permite a avaliação de um processo de remediação ou de biorremediação, ou seja, ele é um dos indicadores da efetividade de um surfactante ou de um biosurfactante produzido

por bactérias, leveduras ou fungos em um processo de biorremediação (GRIFFIN, 1949; DAVIES, 1957).

1.3.4 Sistemas de Inferência Fuzzy (SIF) para processos de biorremediação

Os processos biotecnológicos de remediação têm se tornado cada vez mais uma alternativa viável nos tratamentos de ambientes contaminados, onde se incluem águas superficiais ou subterrâneas e solos, assim como efluentes industriais em aterros ou áreas de contenção por ser ecologicamente mais adequado e eficaz em relação aos processos físico-químicos apenas (GAYLARDE *et al.*, 2005).

Os Sistemas de Inferência *Fuzzy* (SIF), por sua vez, tem a capacidade de trabalhar com um grande número de variáveis indiretas e de pouca precisão em problemas ambientais complexos (GHARIBI *et al.*, 2012).

O uso de técnicas *fuzzy* permite a redução de perdas de informações em razão de sua capacidade de utilização de graus de pertinência para cada classe de geo-objetos (GABRIEL FILHO *et al.*, 2009).

1.3.4.1 Lógica Fuzzy

A lógica *fuzzy* (lógica difusa ou lógica nebulosa) foi sugerida por Zadeh (1965) como uma ferramenta para a modelagem de sistemas, muito mais parecida com o pensamento humano que os métodos analíticos anteriores. Ela une as áreas qualitativa e quantitativa da modelagem e foi desenvolvida para modelar sistemas complexos sob condições incertas e imprecisas. Nas últimas décadas, tem havido um crescente interesse na aplicação de lógica *fuzzy* em modelagem e controle de sistemas complexos, porque ela é conceitualmente fácil de entender e é um método bem sucedido para a modelagem de funções não-lineares baseadas em linguagem natural. Os sistemas que foram desenvolvidos com base na lógica *fuzzy* são capazes de confrontar com problemas ambientais complexos, tais como os efeitos de indicadores sobre a qualidade da água, onde um grande número de indicadores pode influenciar os resultados (YONGTING 1996; McBRATNEY; ODEH, 1997; CHAU, 2006; LERMONTOV *et al.*, 2009; RAHMANIAN *et al.*, 2011; GHARIBI *et al.*, 2012; SEGUÍ *et al.*, 2013; ZUNIGA; CASTILLA; AGUILAR, 2014).

1.3.4.1.1 Conjuntos *fuzzy*

Segundo Tanscheit (2000), na teoria clássica dos conjuntos quando se tem um conjunto A em um universo X , os elementos do universo X podem pertencer ou não ao conjunto A e isto pode ser representado da seguinte forma:

$$f_A(x) = \begin{cases} 1 & \text{se e somente se } x \in A \\ 0 & \text{se e somente se } x \notin A \end{cases} \quad (1)$$

Em um conjunto *fuzzy* é usada uma ampliação desta definição, ou seja, em lugar de uma dicotomia (pertencer ou não ao conjunto A), um número pode assumir qualquer valor no intervalo $[0,1]$. O conjunto *fuzzy* A é composto por pares ordenados constituídos por um número x no universo X e a sua respectiva função de pertinência

$$\mu_A(x) : x \rightarrow [0,1] , \quad (2)$$

que pode ser descrito da seguinte forma:

$$A = \{ \mu_A(x) / x \} \quad x \in X \quad (3)$$

e quanto maior for a proximidade de $\mu_A(x)$ de 1 (um) maior será o grau de adesão (pertinência) de x em A , assim como o número zero indica que não existe pertinência alguma em relação a x (ZADEH, 1965; TANSCHUIT, 2000).

A função de pertinência tem algumas semelhanças com uma função de probabilidade quando X é um conjunto discreto (ou com uma função de densidade de probabilidade quando X é um processo contínuo), mas existem diferenças substanciais entre estes conceitos, porque um conjunto *fuzzy* é de natureza não estatística (ZADEH, 1965).

1.3.4.1.2 Variáveis linguísticas

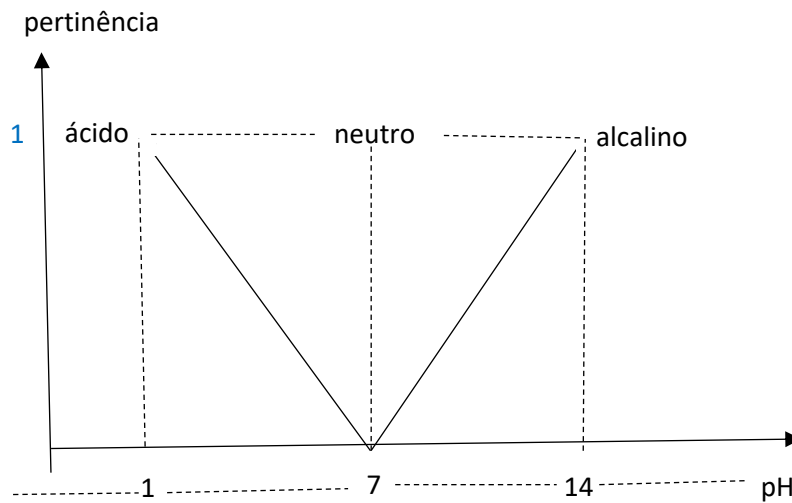
Os conjuntos *fuzzy* podem ser usados para representar variáveis linguísticas, em que os valores são números *fuzzy* definidos em termos linguísticos, ou seja, na lógica *fuzzy* as variáveis linguísticas têm como conteúdo os nomes de conjuntos *fuzzy*. Podemos considerar, como exemplo, o pH, que é uma medida da acidez ou alcalinidade de uma solução aquosa, uma variável indireta muito usada para verificar os níveis alcançados na biorremediação, como uma variável linguística que pode assumir os seguintes valores: ácida, neutra e alcalina. Os

valores desta variável podem ser descritos através de conjuntos *fuzzy*, representados por funções de pertinência, de acordo com a figura 2 (TANSCHKEIT 2000; ZUNIGA; CASTILLA; AGUILAR 2014), que descreve, no intervalo de variação considerado de 1 a 14), através da função triangular:

$$f(x, a, b, c) = \begin{cases} 1, & x < a \\ \frac{a - x}{a - b}, & a \leq x < b \\ \frac{x - c}{b - c}, & b \leq x < c \\ 1, & x \geq c \end{cases} \quad (4)$$

o comportamento da variável pH, onde o “pH = 1” (mais ácido) representa o “a”, o “pH = 7” (neutro) representa o “b” e o “pH = 14 (mais alcalino) representa o “c”.

Figura 2 – Função de Pertinência para a variável pH
(Fonte: BIONDI NETO *et al.*, 2006)



1.3.4.1.3 Definições e operações em conjuntos *fuzzy*

O conjunto *fuzzy* A, no universo X, é vazio se e somente se a sua função de pertinência for igual zero para todo o universo X (TANSCHKEIT 2000).

$$A = \emptyset \Leftrightarrow \mu_A(x) = 0 \quad \forall x \in X \quad (5)$$

A igualdade entre dois conjuntos *fuzzy* ($A=B$) ocorre se e somente se $\mu_A(x) = \mu_B(x)$ para todo x em X , o que, por simplificação, passaremos a escrever como $\mu_A = \mu_B$ (ZADEH 1965).

O conjunto A' é o complementar de um conjunto *fuzzy* A se e somente se (ZADEH 1965)

$$\mu_{A'} = 1 - \mu_A. \quad (6)$$

O conjunto A é um subconjunto de B ou A está contido em B ($A \subset B$) se e somente se (ZADEH 1965)

$$A \subset B \Leftrightarrow \mu_A(x) \leq \mu_B(x). \quad (7)$$

A união de dois conjuntos *fuzzy* A e B e as respectivas funções de pertinência $\mu_A(x)$ e $\mu_B(x)$ é um conjunto *fuzzy* C , escrito como $C = A \cup B$, em que a função de pertinência está relacionada com as funções de pertinência de A e de B (ZADEH 1965):

$$\mu_C(x) = \text{Max} [\mu_A(x), \mu_B(x)], \quad x \in X \quad (8)$$

ou

$$\mu_C(x) = \mu_A(x) \vee \mu_B(x) \quad (9)$$

ou

$$\mu_C(x) = \mu_A(x) + \mu_B(x) - \mu_A(x) \cdot \mu_B(x). \quad (10)$$

A interseção de dois conjuntos *fuzzy* A e B e as respectivas funções de pertinência $\mu_A(x)$ e $\mu_B(x)$ é um conjunto *fuzzy* C , escrito como $C = A \cap B$, em que a função de pertinência está relacionada com as funções de pertinência de A e de B (ZADEH 1965):

$$\mu_C(x) = \text{Min} [\mu_A(x), \mu_B(x)], \quad x \in X \quad (11)$$

ou

$$\mu_C(x) = \mu_A(x) \wedge \mu_B(x) \quad (12)$$

ou

$$\mu_C(x) = \mu_A(x) \cdot \mu_B(x). \quad (13)$$

Por uma questão de generalização, também foram definidos os operadores de base axiomática, que tem por base os conceitos de norma triangular norma-t e co-norma-t (ou norma-s) (ZADEH, 1965; TANSCHKEIT, 2000; OSIRO; LIMA-JUNIOR; CARPINETTI, 2014).

- norma-t (operação binária $\rightarrow *$): $[0,1] \times [0,1] \mid \forall x, y, z, w \in [0,1]$ deve satisfazer as seguintes propriedades:
 - . Comutatividade: $x * y = y * x$ (14)
 - . Associatividade: $(x * y) * z = x * (y * z)$ (15)
 - . Monotonicidade: se $x \leq y, w \leq z$, então $x * w \leq y * z$ (16)
 - . Condições de contorno: $x * 0 = 0$ e $x * 1 = x$ (17)
- co-norma-t (operação binária $\rightarrow \oplus$): $[0,1] \times [0,1] \mid \forall x, y, z, w \in [0,1]$ deve satisfazer as seguintes propriedades:
 - . Comutatividade: $x \oplus y = y \oplus x$ (18)
 - . Associatividade: $(x \oplus y) \oplus z = x \oplus (y \oplus z)$ (19)
 - . Monotonicidade: se $x \leq y, w \leq z$, então $x \oplus w \leq y \oplus z$ (20)
 - . Condições de contorno: $x \oplus 0 = 0$ e $x \oplus 1 = x$ (21)

1.3.4.1.4 Propriedades

Ao serem usados os operadores *max* e *min* para a união e a interseção fuzzy, respectivamente, podem-se inferir as seguintes propriedades algébricas (Quadro 2) para os conjuntos fuzzy (TANSCHKEIT, 2000):

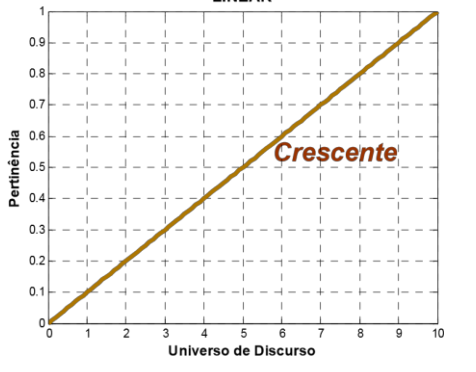
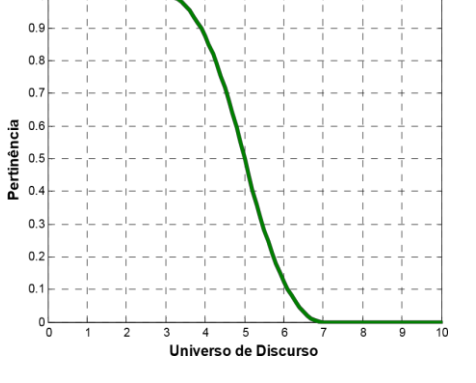
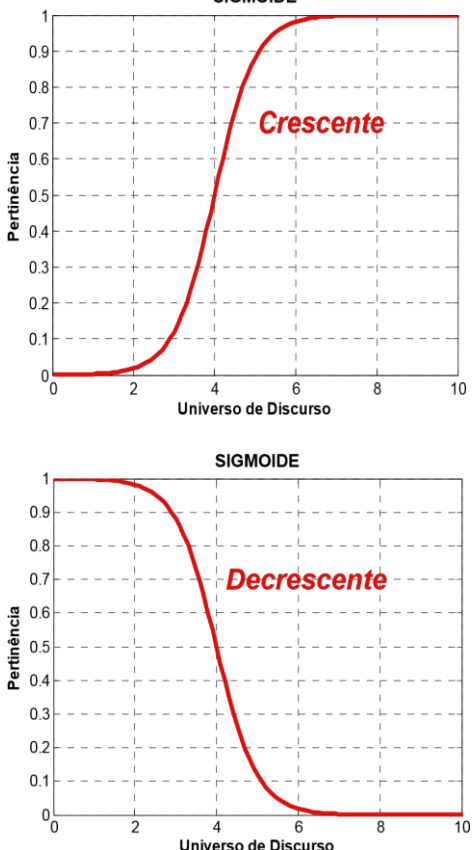
Quadro 2 – Propriedades algébricas para Conjuntos Fuzzy (Fonte: TANSCHKEIT 2000)

N.	Propriedade
01	Involução: $(A')' = A$
02	Indempotência: $\begin{cases} A \cap A = A \\ A \cup A = A \end{cases}$
03	Comutatividade: $\begin{cases} A \cap B = B \cap A \\ A \cup B = B \cup A \end{cases}$
04	Associatividade: $\begin{cases} (A \cap B) \cap C = A \cap (B \cap C) \\ (A \cup B) \cup C = A \cup (B \cup C) \end{cases}$
05	Distributividade: $\begin{cases} A \cap (B \cup C) = (A \cap B) \cup (A \cap C) \\ A \cup (B \cap C) = (A \cup B) \cap (A \cup C) \end{cases}$
06	Absorção: $\begin{cases} A \cap (A \cup B) = A \\ A \cup (A \cap B) = A \end{cases}$
07	Lei Transitiva: se $A \subset B$ e $B \subset C \Rightarrow A \subset C$
08	Lei de Morgan: $\begin{cases} (A \cap B)' = A' \cup B' \\ (A \cup B)' = A' \cap B' \end{cases}$

1.3.4.1.5 Tipos de funções de pertinência

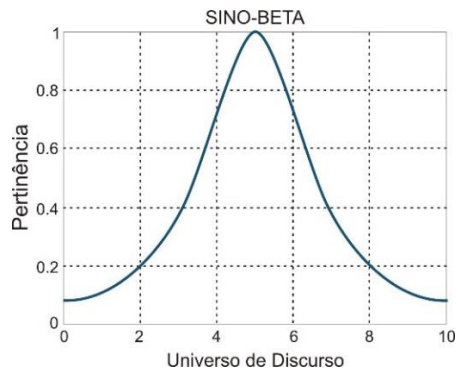
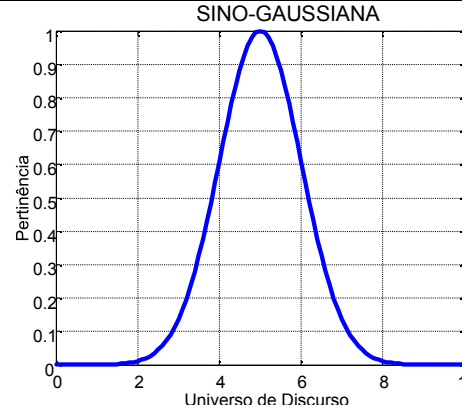
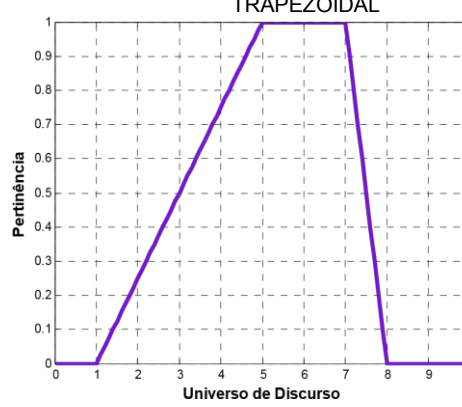
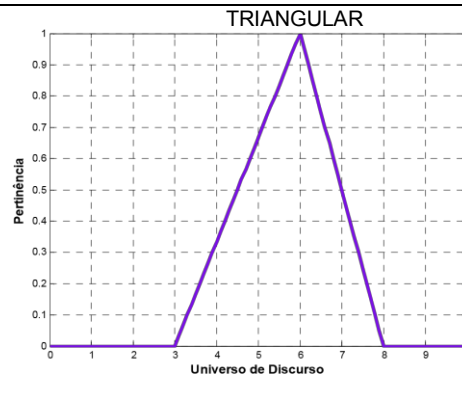
A representação de uma função *fuzzy* de pertinência pode ser feita de várias formas e as mais usuais são: linear; curva Z; sigmoide; pi; beta; gaussiana; trapezoidal e triangular, representadas na Quadro 3 (BIONDI NETO *et al.*, 2006; GARCIA *et al.*, 2012).

Quadro 3 – Funções de Pertinência (Adaptado de BIONDI NETO *et al.*, 2006)

Tipo	Função	Gráfico
Linha	$f(x, a) = ax$	
Curva Z	$f(x, a, b) = \begin{cases} 1, & x < a \\ 1 - 2 \left(\frac{x-a}{b-a} \right), & a \leq x < \frac{a+b}{2} \\ 2 \left(\frac{b-x}{b-a} \right), & \frac{a+b}{2} \leq x < b \\ 0, & x \geq b \end{cases}$	
Sigmóide	Crescente: $f(x, a, c) = \frac{1}{1 + e^{-a(x-c)}}$ Decrescente: $1 - f(x, a, c)$	

continua ...

... continuação

Sino-Beta	$f(x, a, b, c) = \frac{1}{1 + \left \frac{x - c}{a} \right ^{2b}}$	
Sino-Gaussiana	$f(x, \sigma, c) = e^{-\frac{(x-c)^2}{2\sigma^2}}$	
Trapezoidal	$f(x, a, b, c, d) = \begin{cases} 0, & x < a \\ \frac{x-a}{b-a}, & a \leq x < b \\ 1, & b \leq x < c \\ \frac{d-x}{d-c}, & c \leq x < d \\ 0, & x \geq d \end{cases}$ $f(x, a, b, c, d) = \max\left(\min\left(\frac{x-a}{b-a}, 1, \frac{d-x}{d-c}\right), 0\right)$	
Triangular	$f(x, a, b, c) = \begin{cases} 0, & x < a \\ \frac{x-a}{b-a}, & a \leq x < b \\ \frac{c-x}{c-b}, & b \leq x < c \\ 0, & x \geq c \end{cases}$ $f(x, a, b, c) = \max\left(\min\left(\frac{x-a}{b-a}, \frac{c-x}{c-b}\right), 0\right)$	

1.3.4.1.6 Relações fuzzy

Nas relações fuzzy ocorre a generalização do conceito de relação, uma vez que representam o grau da associação entre os elementos de dois ou mais conjuntos fuzzy. Em termos formais, considerando dois universos X e Y , a relação fuzzy R é definida como uma função de pertinência

$$\mu_R(x,y) \in [0,1] \mid x \in X \text{ e } y \in Y$$

que dá origem a um conjunto fuzzy que é o produto cartesiano de X por Y (TANSCHKEIT, 2000).

1.3.4.1.7 Proposições fuzzy

Tomando-se por base:

- as variáveis linguísticas x e y nos universos X e Y , respectivamente;
- os conjuntos fuzzy A e B nos universos X e Y , respectivamente;
- Proposições fuzzy: $\begin{cases} x \text{ é } A \\ y \text{ é } B \end{cases}$

Usando “e” para conectar estas proposições teremos: $(x \text{ é } A) \text{ e } (y \text{ é } B)$; que pode ser expressa por uma relação fuzzy $R_{A \text{ e } B}$ e a função de pertinência é expressa por $\mu_R(x,y) = \mu_A(x) * \mu_B(y)$, o conectivo “e”, geralmente é representado pela norma-t, enquanto o conectivo “ou” é representado pela co-norma-t. A declaração condicional fuzzy “se-então” descreve a dependência do valor de uma variável linguística em relação a outra, que também são denominadas como **regras linguísticas** que podem ter a seguinte forma **se x é A então y é B** . Esta frase também é conhecida como implicação e é representada pela relação $R_{A \rightarrow B}$ e expressa pela função de pertinência: $\mu_{A \rightarrow B}(x,y) = f_{\rightarrow}(\mu_A(x), \mu_B(y))$ (TANSCHKEIT, 2000).

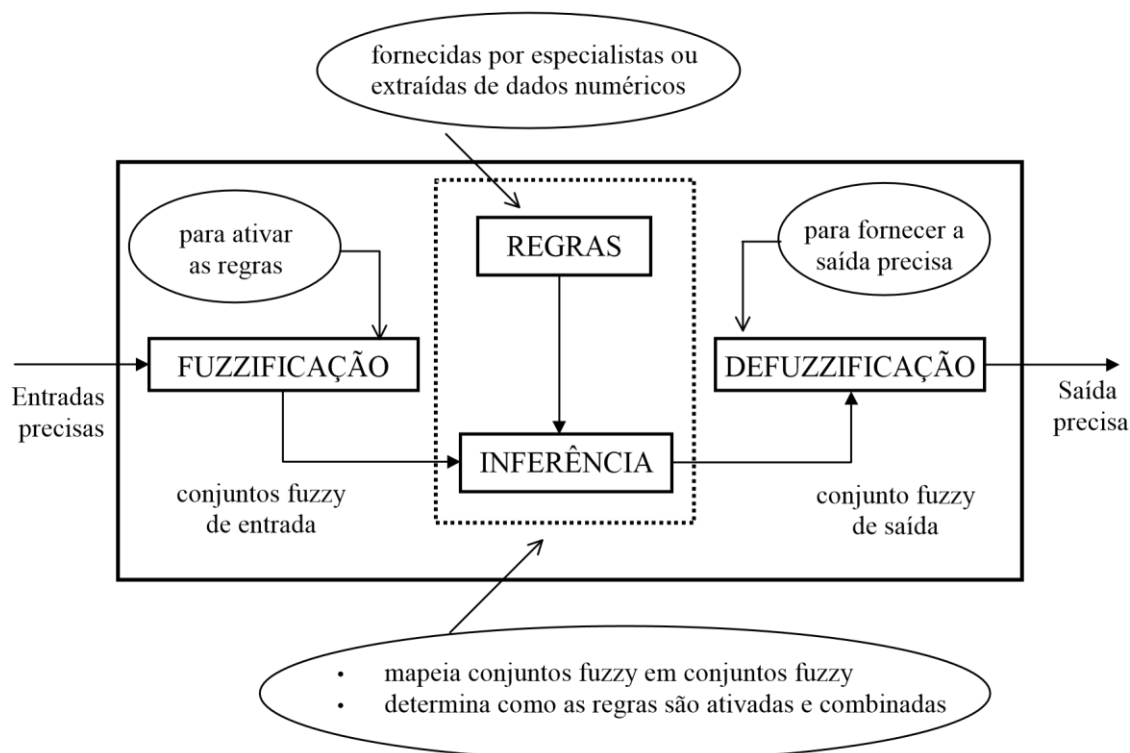
1.3.4.2 SIF (Sistema de Inferência Fuzzy)

Em geral, os sistemas de inferência fuzzy (SIF) envolvem três grandes passos: fuzificação (funções de pertinência), inferência fuzzy (regras de inferência) e defuzificação. Em um SIF, cada variável ou entrada tem um domínio que é chamado seu universo de discurso, e cada subconjunto neste espaço é expresso por termo linguístico, tal como "baixo", "moderado" e "elevado". As relações entre as variáveis são então definidas por regras se-então. Finalmente, um método de

defuzificação é usado para encontrar o melhor valor *crisp*, em outras palavras, uma variável de saída *fuzzy* tem de ser convertida em um valor numérico, o que é feito por defuzificação (ROSS, 2010; GHARIBI *et al.*, 2012), ou seja, um SIF (Figura 3) pode ser representado por quatro módulos básicos (TANSCHKEIT, 2000):

- Base de Conhecimento ou Regras: Conjunto de proposições/regras geralmente propostas por um especialista onde as variáveis antecedentes/consequentes são variáveis linguísticas;
- Base de dados: Define as funções de pertinência dos conjuntos e realiza operações de inferência a partir da base de regras montadas para o sistema;
- Fuzificação: Utilizam-se funções de pertinência estabelecidas inicialmente para o mapeamento das entradas em graus de pertinência para os conjuntos *fuzzy* determinados para a variável;
- Defuzificação: Retorna em valores *crisp* o resultado difuso obtido.

Figura 3 – Sistema de Inferência *Fuzzy* (Fonte: TANSCHIT, 2000).



A inferência pode ser definida como a passagem, através de regras válidas, do antecedente (SE) ao consequente (ENTÃO) relacionados ao que está se estudando dentro de um universo de análise. Na lógica *fuzzy*, a passagem é feita através da interação, definidas nas regras de inferência, das variáveis linguísticas de entrada (SE), que irá produzir um conjunto de dados de saída (ENTÃO). As regras são aplicadas aos conjuntos *fuzzy* através das variáveis linguísticas e são obtidas através das operações entre os conjuntos (GARCIA *et al.*, 2012). A defuzzificação é a última etapa. A entrada para o processo de defuzzificação é o conjunto *fuzzy* de saída agregado que engloba uma gama de valores de saída, que deve ser defuzzificado para dar origem a um único valor *crisp* que corresponderá ao índice. Neste estudo, são usados os métodos:

- “centroide”, que consiste na obtenção do centro de gravidade do conjunto consequente obtido pela composição das regras, para defuzzificar as saídas (BIONDE NETO *et al.*, 2006; SOROUGH, MOUSAVI, GHARECHAH, 2011);
- “menor dos máximos”, que seleciona o valor correspondente ao menor valor de pertinência entre os máximos;

- “média dos máximos”, que calcula o valor correspondente a média dos valores de pertinência máximos;
- “maior dos máximos”, que seleciona o valor correspondente ao maior valor de pertinência entre os máximos (ROSS, 2010).

1.3.5 Índice de Qualidade Global

Segundo Whittaker *et al.* (2015), no âmbito da avaliação do mercado, o primeiro índice foi criado em 1707, quando uma cesta de bens de mercado foi utilizada para comparar os preços entre regiões, enquanto o índice de preços ao consumidor remonta a 1823.

Os índices de qualidade podem ser usados como ferramentas para monitorar a qualidade de uma determinada substância ou processo de forma simples e mais compreensível para os gestores, políticos e tomadores de decisão (TZIRITIS; PANAGOPOULOS; ARAMPATZIS, 2014).

Um índice de qualidade deve se basear em avaliações que utilizem técnicas eficientes e de fácil interpretação pelos usuários. Para uma avaliação precisa e robusta da qualidade de uma determinada substância, é necessário a utilização de técnicas que envolvam um número apropriado de parâmetros associados as suas interações (GABRIEL FILHO *et al.*, 2009; GHARIBI *et al.*, 2012).

Vários índices foram desenvolvidos para integrar os dados coletados sobre a qualidade da água, como o WQI (*Water Quality Index*) desenvolvido nos Estados Unidos, que agrega apenas os aspectos quantitativos do que foi levantado (SOROUSH MOUSAVI, GHARECHAH, 2011).

Mesmo havendo índices baseados em outras técnicas, a lógica *fuzzy*, proposta por Zadeh (1965), incorpora a possibilidade de se trabalhar com dados reais tanto no aspecto quantitativo quando qualitativo e se apresenta como alternativa aos métodos matemáticos tradicionais, porque introduz variáveis linguísticas, que possibilitam o tratamento das incertezas e a consideração dos aspectos qualitativos. Os índices de qualidade estão sendo cada vez mais utilizados para fornecerem uma avaliação integrada do desenvolvimento de aspectos ambientais e o acompanhamento de seus efeitos nos programas de monitoramentos (ROVEDA *et al.*, 2011).

Para Pereira, Ocazonez e Tomaz (2012), os índices de qualidade de água (IQA) convencionais tem na incapacidade de lidar com a incerteza e a subjetividade a sua deficiência mais crítica, e daí surge a necessidade de serem utilizadas técnicas mais apropriadas para gerenciar a importância das variáveis de qualidade da água, de interpretação de limites aceitáveis para cada parâmetro e que o método usado para integrar os diferentes parâmetros seja claro e objetivo. Neste contexto, a lógica *fuzzy* e os conjuntos *fuzzy* estão sendo cada vez mais testados, como metodologia alternativa, em problemas ambientais reais.

Os sistemas baseados em regras *fuzzy* constituem-se em alternativa eficaz de obtenção de um eficiente IQA, porque já foi usado com êxito para modelar, com sucesso, sistemas dinâmicos em outros campos da ciência e da engenharia. As limitações, as complexidades dos modelos determinísticos e as aproximações presentes nos métodos tradicionais usados para cálculo de índices de qualidade serviram de motivação para o desenvolvimento de métodos que utilizam inteligência artificial, como o Sistema de Inferência *Fuzzy* (SIF), que tem a capacidade de integrar e representar valores imprecisos e vagos relativos à qualidade de uma determinada substância (LERMONTOV et al, 2009).

O Sistema de Inferência *Fuzzy* (SIF) é um instrumento que permite a classificação de qualidade de uma substância de forma eficaz com base em informações imprecisas. Um índice difuso (baseado na lógica *fuzzy*), no intervalo de 0 a 100, baseado em um SIF, pode ser proposto para avaliar a qualidade da água, daí pode-se inferir que pode ser usado também para verificar a qualidade de um procedimento como a biorremediação, avaliando alguns parâmetros indiretos relativos às substâncias após a realização do referido procedimento (SOROUSH MOUSAVI, GHARECHAH, 2011).

Referências

ALBUQUERQUE, C. D. C., 2006. Processo de produção de bioemulsificante por *Candida lipolytica*: otimização, ampliação de escala e desenvolvimento de softsensor baseado em redes neurais artificiais. Campinas. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, 340.

ALBUQUERQUE, C. D. C., FILETI, A. M. F.; CAMPOS- TAKAKI, G. M. Optimizing the medium components in bioemulsifiers production by *Candida lipolytica* with response surface method. **Canadian Journal of Microbiology**, v.52, n. 6, p. 575-583, 2006.

ALBUQUERQUE, C. D. C.; CAMPOS- TAKAKI, G. M.; FILETI, A. M. F. On-line biomass estimation in biosurfactant production process by *Candida lipolytica* UCP 988. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v.35, p.1425–1433, 2008.

ALEXIEVA, Z.; GERGINOVA, M.; ZLATEVA, P.; MANASIEV, J.; IVANOVA, D.; DIMOVA, N. Monitoring of aromatic pollutants biodegradation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, p.233–240, 2008.

ARAÚJO, A. M.; GONÇALVES, C.; NASCIMENTO, E. M.; MOREIRA JR, J.; SILVA, J. C.; OLIVEIRA, M. A.; BRISA, P.; PIRES, P. H.; MACHADO, E. C. Protocolo para biorremediação de águas contaminadas por petróleo e derivados. **E-xacta**. Editora UniBH. v. 7 n. 1, p. 55-63, 2014.

ATLAS, R.M. Bioremediation of petroleum pollutants. **International Biodeterioration and Biodegradation**. v.35, p.317-327, 1995.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. (Trad.: GRASSI, M. T. et al). 4. Ed. Bookman, Porto Alegre, RS. 2011.

BASTIN, G.; DOCHAIN, D. On-line estimation and adaptive control of bioreactors, Elsevier, Amsterdam, 1990.

BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O.; OKEKE, B. C.; FRANKENGERGER, W. T. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural

attenuation, biostimulation and bioaugmentation. **Bioresource Technology**, 96, p. 1049–1055, 2005.

BIONDI NETO, L.; COELHO, P, H. G.; AMARAL, J. L. M.; MELLO, M. H. C. S. Minicurso de sistema especialista nebuloso. **XXXVII Simpósio Brasileiro de Pesquisa Operacional**. Goiânia, GO 2006.

BOOPATHY, R. Factors limiting bioremediation technologies. **Bioresource Technology** 74, p. 63-67, 2000

BUSH, J. W. M. Surface tension module. Department of Mathematics, MIT. Lecture 1: The definition and scaling of surface tension. 2004.

CAO, X.; XIONG, Y.; LUND, J. The effects of micro-algae characteristics on the bioremediation rate of Deepwater Horizon crude oil. **Journal of Emerging Investigators**. Century High School, Rochester, MN, 17/jun/2013.

CHAU, K.W. A review on integration of artificial intelligence into water quality modelling. **Marine Pollution Bulletin**. v.52, p.726–733, 2006.

CHEMLAL, R.; ABDI, N.; LOUNICI, H; DROUICHE, N.; MAMERI, N. Modeling and qualitative study of diesel biodegradation using biopileprocess in sandy soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 78, p. 43-48, 2013

CIRIGLIANO, M. C.; CARMAN, G. M. Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolyticat*. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 747-750. 1984.

CETESB – Breve história do petróleo no Brasil e em São Paulo e principais acidentes. Disponível em:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.cetesb.sp.gov.br%2Fuserfiles%2Ffile%2Femergencias-quimicas%2Fpanorama-geral%2F3_Principais%2520Acidentes%2520no%2520Brasil%2520.doc&ei=EADIU6HHHqmD8QHh-4D4Bg&usg=AFQjCNE5AsFrCAJy3mYIE9naQk0WE8EC8Q&bvm=bv.72676100,d.b2U&cad=rja

Acesso em Setembro de 2014.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. Editora da UNICAMP. Campinas, SP 1997

CONNELL, D. W.; HAWKER, D. W.; WARNE, M. S. J.; VOWLES, P. P. Basic Concepts of environmental chemistry. CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 1997.

DAS, N.; CHANDRAN, P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. **Biotechnology Research International**, p.1-13, 2011.

DAVIES, J. T. A quantitative kinetic theory of emulsion type. I. Physical Chemistry of the emulsifying agent. **2nd International Congress Surface Activity**. Butterworths. London, 1957.

DINDAR, E.; SAGBAN, F. O. T. S.; BASKAYA, H. S. Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil. **J. BIOL. ENVIRON. SCI.**, 7(19), 39-47, 2013.

FRITSCH, W., HOFRICHTER, M. Aerobic degradation by microorganism. In Environmentql Process-Soil Decontamination. J.Klein Ed., p.146-155, Willey-VCH, Weinhein, Germany. 2000.

GABRIEL FILHO, L. R. A.; CREMASCO, C. P.; GABRIEL, L. R. A.; ROMANINI, P. A.; GABRIEL, J. E. F.; GABRIEL, L. R. A. Determinação das funções de pertinência dos índices de qualidade da água e de substâncias tóxicas e organolépticas. **Colloquium Exactarum**, v. 1, n. 1, p 46-55, 2009.

GARCIA, H. L., SILVA, V. L., MARQUES, L. P., GARCIA, C. A. B., CARVALHO, F. O. Avaliação da qualidade da água utilizando a teoria *fuzzy*. **SCIENTIA PLENA**, v. 8, n. 7, 2012.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASO, M. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos, **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 34, p. 36-43, 2005.

GHARIBI,H.; SOWLAT,M.H.; MAHVI, A.H.; MAHMOUDZADEH, H.; ARABALIBEIK, H.; KESHAVARZ, M.; KARIMZADEH,N.; HASSANI, G. Development of a dairy cattle drinking water quality index (DCWQI) based on *fuzzy* inference systems. **Ecological Indicators**, v.20, p.228–237, 2012.

GOGOI, B.K.; DUTTA, N.N.; GOSWAMI, P.; MOHAN, T.R.K. A case study of bioremediation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil at a crude oil spill site. **Adv EnvironRes**; 7:767–82. 2003.

GRIFFIN, W. C. Classification of surface-active agents by “HLB”. Atlas Powder Company. Wilmington, Del. 1949.

HARAYAMA, S.; KISHIRA, H.; KASAY, Y.; SHUTSUBO, K. Petroleum biodegradation in marine environments. **J. Molec. Microbiol. Biotechnol.** 1(1):63-70. 1999.

HARRIS, D. C. Análise química quantitativa. Editora LTC – Livros Técnicos e Científicos. 8 ed. Rio de Janeiro 2012.

HENRIQUES, M. L. O. M. Otimização de processo de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em Água do Mar. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - UNICAP, 165. 2013

HENRIQUES, M. L. O. M.; SILVA, A. M., JARA, A. M. A. T., ANTUNES, A. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; ALBUQUERQUE, C. D. C., Bioemulsifier/biosurfactant production by *Candida lipolytica* UCP 0988 in acid or alkaline seawater with low oxygenation. In: IV International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology. Torremolinos, Málaga, Spain. 14-16 September 2011. p.562. 2011.

HOMEL, R.K. Formation and phylogenetic role of biosurfactants. *Journal of Applied Microbiology*, v.89, n.1, 158-179, 1990.

HONDA, H.; KOBAYASHI, T. *Fuzzy* control of bioprocess in Japan. **Biotechnology Annual Review.** v.5, p.1–23, 2000.

HOROWITZ, A.; GUTNICK, D. ROSENBERG, E. Sequential growth of bacterial on crude oil. **Applied Microbiology.** v.30, p.10-19, 1975

JAIN, P. K.; BAJPAI, V. Biotechnology of bioremediation – a review. **International Journal of Environmental Sciences.** Vol. 3, N. 1, p. 535-549. 2012.

KAYANI, A. L. T.; NAGA SIREESHA, G.; ADITYA, A. K. G.; GIRIJA SANKAR, G.; PRABHAKAR, T. Production optimization of Rhamnolipid biosurfactant by *Streptomyces coelicoflavus* (NBRC 15399T) using Plackett-Burman design. **European Journal of Biotechnology and Bioscience** 1 (5): 07-13. 2014.

KERR, R. P.; CAPONE, D. G. The effect of salinity on the microbial mineralization of two polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments. **Marine Environmental Research** 26, p. 181-198, 1988.

KING, P. J.; MAMDANI, E. H. The application of *fuzzy* control systems to industrial processes. **Automatica**, v.13, p. 235-242, 1977.

LEAHY, J.G.; COLWELL, R. R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbiological Reviews**, v. 54, p.305-315, 1990.

LEE, Y.; WOO, S. G.; CHOI, E.; AHN, Y.; PARK, J.; LEE, M.; YANG, J. Bench-scale ex situ diesel removal process using a biobarrier and surfactant flushing. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry** 18: 882–887. 2012

LERMONTOV, A.; YOKOYAMA, L.; LERMONTOV, M.; AUGUSTA, M., MACHADO, S., River quality analysis using *fuzzy* water quality index: Ribeira do Iguape river watershed, Brazil. **Ecol. Indic.** v.9, p.1188–1197, 2009.

LIU, C; LIU, H. Rhodococcus erythropolis strain NTU-1 efficiently degrades and traps diesel and crude oil in batch and fed-batch bioreactors. **Process Biochemistry**. Taipei, Taiwan. n. 46, p. 202-209, 2011.

LUNA, J. M.; RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Characterisation, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n. 102, p 202-209. 2013.

MARQUES, R. T. M. Monitoramento do processo de atenuação natural de um solo contaminado com diesel comercial. **Série Anais XVIII JIC UFSC**. 2010

MARGESIN, R.; SCHINNER F. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in Alpine soils. **Appl Environ Microbiol**; 63:2660–4. 1997.

MARGESIN, R.; SCHINNER F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. **Appl Microbiol Biotechnol**; 56:650–663. 2001.

McBRATNEY, A.B.; ODEH, I.O.A. Application of *fuzzy* in soil science: *fuzzy* logic, *fuzzy* measurements and *fuzzy* decisions. **Geoderma** 77, p. 85-113. 1997.

McGENITY, T. J. Hydrocarbon biodegradation in intertidal wetland sediments. **Current Opinion in Biotechnology**, 27:46–54, 2014

MESANIA, F. A.; JENNINGS, A. A. Modeling soil pile bioremediation. **Environmental Modelling & Software**, v.15, p. 411-424, 2000.

MIRANDA, R. C.; SOUZA, C.S.; BARROS GOMES, E; LOVAGLIO,R.B.; CARLOS EDISON LOPES, C.E.; SOUSA, M.F.V.Q., Biodegradation of diesel oil by yeasts Isolated from the vicinity of Suape port in the state of Pernambuco – Brazil. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v.50, p.147-152, 2007.

MUKHERJI, S.; JAGADEVAN, S.; MOHAPATRA,G.; VIJAY, A.,. Biodegradation of diesel oil by an Arabian Sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field. **Bioresource Technology**, v.95, p.281–286, 2004.

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution** 133: 183–198. 2005

NIKOLOPOULOU, M., PASADAKIS, N. NORF, H. KALOGERAKIS, N. Enhanced ex situ bioremediation of crude oil contaminated beach sand by supplementation with nutrients and rhamnolipids. **Marine Pollution Bulletin** n. 77 p. 37–44, 2013.

OSIRO, I., LIMA-JUNIOR, f. r., CARPINETTI, L. C. R. A *fuzzy* logic approach to supplier evaluation for development. **International Journal of Production Economics**, v. 153, p 95-112, 2014.

PAWLOWICZ, R. Key Physical Variables in the Ocean: Tempera Density. **Nature Education**. 4(4):13 2013.

PEREIRA JUNIOR, N.; GOMES, E. B.; SORIANO, A. U. Biodegradação em hidrocarbonetos. **Séries em Biotecnologia**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 4, p.1-75, 2009.

PEREIRA, A. A.; OCAZIONES, C.; TOMAZ, C. Avaliação da qualidade da água: proposta de novo índice alicerçado na lógica *fuzzy*. **Biosci. J.**, v. 28, n. 4, p. 667-677, Uberlândia July/Aug. 2012.

PERSONNA, Y. R.; KING, T.; BOUFADEL, M. C., ZHANG, S.; KUSTKA, A. Assessing weathered Endicott oil biodegradation in brackish water. **Marine Pollution Bulletin**; 86, P. 102–110, 2014

PRINCE, R.C.; McFARLIN, K.M.; BUTLER, J.D.; ERIC J. FEBBO, E.J.; WANG, F.C.Y.; NEDWED, T.J. The primary biodegradation of dispersed crude oil in the sea. **Chemosphere** v. 90, p. 521–526, 2013.

RAHMANIAN, B.; PAKIZEH, M.; ESFANDYARI, M.; FAZLOLLAH, H; MASKOOKI, A., 2011. Fuzzy modeling and simulation for lead removal using micellar-enhanced ultrafiltration (MEUF). **Journal of Hazardous Materials** v. 192, p. 585–592, 2011

ROBARDS, K; HADDAD, P.R.; JACKSON, P.E. Principles and practice of modern chromatographic methods. **Academic Press Inc.** San Diego, CA, 1997.

ROSA, A. J.; CARVALHO, R. S.; XAVIER, J. A. D. **Engenharia de reservatórios de petróleo**. Ed Interciência. Rio de Janeiro, RJ, 2011.

ROSS, T. J. **Fuzzy logic with engineering applications**. Ed Wiley, 3ª Edição, 2010

ROVEDA, J. A. F.; ARASHIRO, L. T.; SILVERIO, J. M.; ROVEDA, S. R. M M.; ROSA, A.H. Índice fuzzy de qualidade das águas brutas para fins de abastecimento público. UNESP- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Engenharia Ambiental - Campus Sorocaba- SP. 2011.

SEGUÍ, X.; PUJOLASUS, E.; BETRÒ, S.; ÀGUEDA, A.; CASAL, J.; OCAMPO-DUQUE, W.; RUDOLPH, I.; BARRA, R.; PÁEZ, M.; BARÓN, E.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D.; DARBRA, R. M. Fuzzy model for risk assessment of persistente organic pollutants in aquatic ecosystems. **Environmental Pollution** v. 178, p. 23-32, 2013.

SILVA, J. F. Biodegradação de querosene por *Candida lipolytica* UCP 0988 em Água do Mar. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) - UNICAP, 180. 2012.

SILVA, J.F.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; ALBUQUERQUE, C.D.C., Kerosene biodegradation and biosurfactant production in sea water by the haloalkalitolerant yeast *Candida lipolytica* UCP 0988. In: **IV International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology**. Torremolinos, Málaga, Spain. 14-16 September 2011. p.562. 2011.

SONAWDEKAR, S. Bioremediation: A boon to hydrocarbon degradation. International Journal of Environmental Sciences, Volume 2, No 4, 2012

SOARES, E. V.; SOARES, H. M. V. M. Cleanup of industrial effluents containing heavy metals: a new opportunity of valorising the biomass produced by brewing industry. **Appl Microbiol Biotechnol** 97:6667–6675, 2013

SOROUSH, F; MOUSAVI, S.F.; GHARECHAHI, A. A fuzzy industrial water quality index: case study of Zayandehrud river system. UST, **Transaction of Civil and Environmental Engineering** v. 35, No. C1, p. 131-136, 2011.

SOUZA, F. A. S. D.; SALGUEIRO, A.A.; ALBUQUERQUE, C. D. C. Production of bioemulsifiers by *Yarrowia lipolytica* in sea water using diesel oil as the carbon source. **Brazilian Journal of Chemical Engineering** v. 29, n. 01, p. 61 - 67, 2012.

SOUZA, F.A.S.D. Biodegradação de óleo diesel em água do mar. 2009.

STRINGFELLOW, W. T.; ALVAREZ-COHEN, L. Evaluating the relationship between the sorption of PAHs to bacterial biomass and biodegradation. **Wat. Res.** Vol. 33, No. 11, p. 2535-2544, 1999.

TACCARI, M.; COMITINI, F.; CASUCCI, C.; CIANI, M. Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial community. **International Biodeterioration & Biodegradation**, n. 66. p. 39-46. 2012.

TANSCHKEIT, R. **Sistemas Fuzzy**. Rio de Janeiro:DEE-PUC, 2000 35p.Apostila.

TENNYSON, M. E. Growth history of oil reserves in major California oil fields during the twentieth century. **Cap. H de Geologic, Engineering, and Assessment Studies of Reserve Growth. U.S. Geological Survey Bulletin 2172-H** Ed. DYMAN, T.S., SCHMOKER, J.W., e VERMA MAHANDRA. 1998.

THAPA, B. KUMAR KC, A. GHIMIRE, A. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. **KATHMANDU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE, ENGINEERING AND TECHNOLOGY** VOL. 8, No. I, pp 164-170. FEBRUARY, 2012

THOMAS, J. E. **Fundamentos de engenharia de petróleo**. Interciência. 2. Ed. Rio de Janeiro. 2004.

TONINI, R. M. C. W. REZENDE, C. E. GRATIVOL, A. D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão. **Oecologia Australis**. 14(4):1025-1035. Dezembro, 2010.

TZIMAS, E., GEORGAKAKI, A., GARCIA CORTES, C, PETEVES, S.D.; Enhanced oil recovery using carbon dioxide in the european energy system. **Report EUR 21895 EM**. Institute for Energy. Petten, Netherlands. 2005.

TZIRITIS, E.; PANAGOPOULOS, A.; ARAMPATZIS, G. Development of an operational index of water quality (PoS) as a versatile tool to assist groundwater resources management and strategic planning. **Journal of Hydrology**, n. 517, p. 339-350. 2014.

US EPA (United States Environmental Protection Agency). Guidelines for the Bioremediation of Marine shorelines and freshwater wetlands. 2001.

VENOSA, A. D.; ZHU, X. Biodegradation of crude oil contaminating marine shorelines and freshwater wetlands. **Spill Science & Technology Bulletin**, Vol. 8, No. 2, pp. 163–178, 2003.

WHITTAKER, G.; BARNHART, B.; FARE, R; GROSSKOPF, S. Application of index number theory to the construction of a water quality index: Aggregated nutrient loadings related to the areal extent of hypoxia in the northern Gulf of Mexico. **Ecological Indicators** 49, p. 162–168, 2015.

WOLICKA, D., SUSZEK, A., BORKOWSKI, A., BIELECKA, A. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. **Bioresource Technology** v.100, p.3221-3227. 2009.

YONGTING, C. *Fuzzy* quality and analysis on *fuzzy* probability. **Fuzzy sets and systems** 83, p 283-290. 1996

ZADEH, L.A. *Fuzzy* sets. **Inf. Control** ., v.8, p.338–353, 1965.

ZADEH, L. A. A new direction in AI – toward a computational theory of perceptions, **AI Magazine** 22 (1), p. 73–84, 2001

ZHANG, Y.; MILLER, R. M. Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas* Rhamnolipid surfactant (biosurfactant). **Applied and Environmental Microbiology**, Oct. 1992, p. 3276-3282, 1992.

ZUNIGA, K. V., CASTILLA, I., AGUILAR, R. M. Using *fuzzy* logic to model the behavior of residential electrical utility customers. **Applied Energy**, 115, p. 384-393, 2014.

Capítulo II

Desenvolvimento de Índice de Biodegradação de Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do Mar usando Lógica Fuzzy

Gilson Gonçalves de Vasconcelos¹, Rivaldo Cassimiro Jr¹., Fabiane Seger², Francisco Madeiro¹,
Galba Maria de Campos Takaki^{1,2}, Clarissa Daisy da Costa Albuquerque^{1,2*}

¹Programa de Pós-Graduação (Mestrado) em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, CEP:50050-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

²Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Universidade Católica de Pernambuco, CEP:50050-590, Recife, Pernambuco, Brasil

Manuscrito a ser submetido ao Periódico *Expert Systems with Applications*

Resumo

Um índice fuzzy para avaliação da qualidade (baixíssimo, baixo, médio, alto e altíssimo) da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar é proposto. O índice combina informações de um indicador biológico - o rendimento do crescimento da biomassa, de um indicador químico - a variação do potencial hidrogeniônico (pH) e de um indicador físico - a variação da tensão superficial e fornece classificações quali e quantitativa da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar, que podem ser usadas para monitoramento, otimização e controle de processo. Para avaliar o desempenho do índice, um estudo de caso de um processo de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar foi conduzido, empregando dados de doze ensaios de um planejamento fatorial completo 2^3 , tendo como variáveis independentes o pH inicial, a concentração inicial de biomassa e a concentração inicial de óleo diesel e como variáveis respostas a variação do pH, o rendimento da biomassa e a variação da tensão superficial. Os resultados obtidos foram consistentes com os esperados por especialistas e validaram o uso do índice como ferramenta simples e eficaz para avaliação qualidade de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar. O índice

desenvolvido tem potencial de aplicação a processos de biodegradação de petróleo e derivados em rios, lagos e solos.

Palavras chaves: Sistema de inferência *fuzzy*, biorremediação, petroderivados, planejamento de experimentos, monitoramento, otimização e controle de qualidade.

1. Introdução

A poluição de oceanos e mares por petróleo e derivados é uma preocupação mundial. A biorremediação tem desempenhado um importante papel no tratamento de contaminação por hidrocarbonetos, uma vez que é mais eficiente e econômica que os métodos físicos e químicos e menos poluente que os métodos químicos (Atlas e Bartha, 1972; Bao *et al.*, 2012; Beolchini *et al.*, 2010; Brakstad e Lodegen; 2005, Wang *et al.*, 2011).

Um grande número de gêneros bacterianos e fúngicos possui a capacidade de degradar compostos orgânicos poluentes. A biodegradação é definida como a redução da complexidade de compostos químicos, catalisada biologicamente (Alexander, 1994). Baseia-se em dois processos: crescimento e co-metabolismo. No crescimento, um poluente orgânico é utilizado como única fonte de carbono e energia. Este processo resulta em uma degradação completa (mineralização) de poluentes orgânicos. Co-metabolismo é definido como o metabolismo de um composto orgânico na presença de um substrato de crescimento que é utilizado como fonte primária de carbono e energia. A mais rápida e completa degradação, da maioria dos poluentes, é realizada em condições aeróbicas (Fritsche e Hofrichter, 2005).

Os microrganismos degradadores de poluentes orgânicos predominantes na zona de áreas contaminadas são espécies quimio-organotróficas, que são capazes de usar um grande número de recursos naturais e compostos xenobióticos como fontes de carbono e como

doadores de elétrons para a geração de energia. Embora muitos microrganismos sejam capazes de metabolizar poluentes orgânicos, uma única espécie microbiana não possui capacidade enzimática para degradar todos, ou mesmo, a maior parte dos compostos orgânicos em um ambiente poluído. Comunidades microbianas mistas tem um maior potencial biodegradativo, porque informação genética de mais de um microrganismo é necessária para degradar as misturas complexas de compostos orgânicos presentes em áreas contaminadas. O potencial genético e certos fatores ambientais, tais como temperatura, pH e fontes disponíveis de nitrogênio e fósforo, por conseguinte, parecem determinar a taxa e a extensão da degradação (Atlas e Bartha, 1972; Das e Chandran, 2011; Fritsche e Hofrichter, 2005).

A qualidade da biodegradação de hidrocarbonetos é um parâmetro intrínseco ao ambiente da contaminação, podendo ser definido através da avaliação e composição de diversas qualidades relacionadas com diferentes variáveis físicas, químicas e biológicas componentes do processo (Atlas e Bartha, 1972; Vismara, 1995; Enea e Salemi, 2001).

Para determinar a qualidade e a extensão de um processo de degradação, dados qualitativos e quantitativos de variáveis que caracterizam a dinâmica do processo devem ser monitorados, coletados, analisados e processados. Como muitas das variáveis só podem ser estimadas por meio de análises laboratoriais dispendiosas, um mínimo de variáveis representativas deve ser selecionado para modelagem e caracterização do processo (Bastin e Dochain, 1990; Honda e Kobayashi, 2000; Alexieva *et al.*, 2008).

A concentração de biomassa, o pH, a tensão superficial, a atividade de emulsificação, a atividade enzimática e a concentração de gás carbônico encontram-se entre as variáveis mais usadas no monitoramento de processos de biodegradação devido à simplicidade, eficiência e custo de suas determinações analíticas (Bao *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2009; Khorasani *et al.*, 2014; Mariano *et al.*, 2008; Miranda *et al.*, 2007; Albuquerque *et al.*, 2008; Moraes e

Tornisielo, 2009; Pirôllo *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2012). O monitoramento da extensão e da eficiência da biodegradação pode também ser realizado por meio de determinações analíticas mais complexas e com custo e efetividade superiores, como as análises usando cromatógrafos acoplados a detector de ionização de chama e/ou a espectrômetro de massa (Bao *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2009, Kaczoreck *et al.*, 2010, Kumari e Abrahan., 2011; Mariano *et al.*, 2008; Mukherji *et al.*, 2004; Whang *et al.*, 2009). Por maior que seja a sofisticação instrumental das determinações analíticas destas e de outras variáveis envolvidas em bioprocessos, a incerteza não pode ser evitada, devendo ser cuidadosamente analisada para que se possa explicar sua real contribuição no processo investigado.

Devido a imprecisão inerente das determinações analíticas de variáveis de bioprocessos e da frequente falta de informações quantitativas, a teoria *fuzzy* fornece uma abordagem útil para avaliação de qualidade de processos de biodegradação de petróleo e derivados. De acordo com Zadeh (1965) um dos principais objetivos da lógica *fuzzy* é a formalização/mecanização da notável habilidade humana para tomar decisões em um ambiente de imprecisão, incerteza, parcialidade de informação e parcialidade de verdade. A teoria *fuzzy* é uma das teorias de incerteza que abandona a lógica aristotélica (Zadeh, 1965) dos dois valores (0 para verdade absoluta ou 1 para falsidade absoluta) e define conjuntos *fuzzy* como aqueles cujos limites não são precisos mas difusos, ou seja, cujo graus de pertinência ou verdade variam continuamente de 0, para falsidade absoluta, a 1, para verdade absoluta.

Para serem analisadas as descrições de variações espaciais e temporais de processos de biodegradação de hidrocarbonetos devem envolver múltiplos parâmetros. Entretanto, mesmo que variáveis como concentração de biomassa, pH e tensão superficial sejam utilizadas, individual ou conjuntamente, para monitoramento e análise da qualidade de processos de biodegradação, não há registro na literatura consultada de proposta e/ou

desenvolvimento de índice(s) de classificação da qualidade/estado de processos de biodegradação de hidrocarbonetos, envolvendo, simultaneamente duas ou mais destas variáveis. Neste tipo de processo, abordagens estatísticas clássicas são difíceis de serem usadas para construção de índices de qualidade global de processos de biodegradação, desde que estes índices devem representar uma qualificação descritiva ou numérica resultante da integração de diferentes tipos de variáveis físicas, químicas e biológicas, que são frequentemente expressos em unidades não comparáveis.

A modelagem *fuzzy* é uma das mais poderosas técnicas para estimar relações de entrada e saída em sistemas não-lineares complexos (Sadiq *et al.*, 2004). Os modelos baseados em lógica *fuzzy* tornam-se apropriados para lidar com bases de conhecimentos que resultam da caracterização de sistemas naturais heterogêneos e complexos. A abordagem *fuzzy* permite tratar com a heterogeneidade, ambiguidade e incertezas das propriedades microbianas. O interesse no raciocínio *fuzzy* reflete a constatação crescente de que métodos clássicos de avaliação – baseado sobre modelos lógicos booleanos de classes mutuamente exclusivas – falham para incorporar a natureza inexata de muitas fontes de dados (Burrough, 1989; Tscherko *et al.*, 2007). Métodos de classificação *fuzzy* têm sido usados com sucesso na construção de índices de qualidade de água (Lermontov *et al.*, 2009; Gharibi *et al.*, 2012; Mourhir *et al.*, 2014), índice de qualidade solo (Tscherko *et al.*, 2007) e de índices de classificação de riscos (Segui *et al.*, 2013; Sadiq e Husain, 2005) e impactos ambientais (Enea e Salemi, 2001). No presente trabalho, um sistema de inferência *fuzzy* foi usado para desenvolver um índice simples, eficaz e econômico para avaliar a qualidade global da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados, porque as variáveis usadas não dependem de equipamentos sofisticados para sua obtenção e são as mais usadas no monitoramento da biodegradação de hidrocarbonetos. A proposta do índice, denominado IBDHCAM_f1. A validação preliminar do mesmo foi realizada por especialistas, através da

análise de resultados da aplicação do índice para avaliação da qualidade de ensaios de planejamentos experimentais de processos de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar, abrangendo um largo intervalo de condições experimentais e de níveis de degradação.

2. Materiais e métodos

2.1 Sistemas de Inferência Fuzzy (SIF)

A lógica *fuzzy* (lógica difusa ou lógica nebulosa) foi proposta por Zadeh (1965) como uma ferramenta para a modelagem de sistemas, muito mais parecida com o pensamento humano que os métodos analíticos anteriores. Ela une as áreas qualitativa e quantitativa da modelagem e foi desenvolvida para modelar sistemas complexos sob condições incertas e imprecisas (Gharibi *et al.*, 2012). A lógica *fuzzy* é um tipo de lógica multi-valorada capaz de lidar com a incerteza e a imprecisão de conhecimentos e dados e é uma alternativa a lógica aristotélica (Segui *et al.*, 2013). Zadeh (1965) introduziu o conceito em que números são associados a variáveis para representar incertezas. Um número *fuzzy* descreve a relação entre uma quantidade incerta x e uma função de pertinência que varia entre 0 e 1 (Sadiq *et al.*, 2004; Rahmanian *et al.*, 2011).

Inferência *fuzzy* é o processo de mapeamento de uma dada entrada em uma saída usando lógica *fuzzy*. O processo de inferência *fuzzy* envolve três importantes conceitos: funções de pertinência, operações lógicas e regras de inferência (Zadeh, 1965; Carbajal-Hernández *et al.*, 2012). A forma mais comum de implementar a lógica *fuzzy* é através de sistemas de inferência *fuzzy*.

Em geral, um sistema de inferência Mamdani envolve as seguintes etapas: fuzificação, avaliação de regras de inferência e defuzificação. A fuzificação corresponde à transformação dos dados de entrada iniciais em suas respectivas variáveis linguísticas. O objetivo da inferência é relacionar as variáveis entre si, através de regras pré-estabelecidas, do tipo se(agregação)-então(composição). Esta etapa envolve a definição das proposições, a análise das regras e a criação da região resultante. A defuzificação corresponde à transformação dos resultados linguísticos em um valor *crisp* (valor numérico preciso). Os métodos mais utilizados para defuzificação das saídas são: (i) o menor dos máximos – *smallest of maxima* ou *som* - que seleciona o valor correspondente ao menor valor de pertinência entre os máximos; (ii) a média dos máximos – *mean of maxima* or *mom* – que calcula o valor correspondente à média dos valores de pertinência máximos; (iii) o maior dos máximos – *largest of maxima* ou *lom* – que seleciona o valor correspondente ao maior valor de pertinência entre os máximos e (iv) o centroide – *centroid* – que calcula o centro de gravidade da área sob as funções de pertinência combinadas. Maiores detalhes sobre fundamentos teóricos e aplicações de lógica *fuzzy* podem ser obtidos em Ross (2010).

2.2. Desenvolvimento de Índice de Qualidade para Biodegradação de Hidrocarbonetos

As principais etapas do desenvolvimento do índice *fuzzy* de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar (IBDHCAM_f1) encontram-se descritas a seguir:

2.2.1 Critérios de seleção e importância das variáveis de entrada

Considerando que um índice de biodegradação de hidrocarbonetos deve representar de forma simples, eficaz e confiável, a qualidade da biodegradação em um determinado tempo e espaço - usando um número suficiente e representativo de variáveis físicas, químicas e biológicas - selecionou-se o rendimento do crescimento microbiano (RBio) e as variações relativas percentuais do potencial hidrogeniônico (dpH) e da tensão superficial (dT_S) como entradas para o SIF_IBDHCAM_f1 (Fig.1). Na seleção das referidas variáveis considerou-se também o fato de elas serem frequentemente citadas pela literatura como indicadores indiretos de processos de biodegradação de hidrocarbonetos. O tempo e o custo das determinações analíticas destas variáveis foram também determinantes na seleção das mesmas.

A conversão de substrato em biomassa reflete o rendimento do crescimento microbiano relativamente ao substrato limitante (fonte de carbono e energia) usado para biossíntese celular e este é determinado calculando o quociente entre a biomassa total formada na fase estacionária e a massa de substrato limitante utilizada. O substrato limitante (petróleo e derivados) é usado para biossíntese do material celular (crescimento) e para produção de energia de manutenção. A concentração do substrato limitante influencia a taxa específica de crescimento microbiano. A taxa de crescimento depende do potencial genético do microrganismo, da composição do meio de cultura e das condições de crescimento (temperatura, pH, disponibilidade de água, disponibilidade de oxigênio). Em situações de indisponibilidade ou baixa disponibilidade (concentrações baixas) da fonte de carbono, tanto a taxa de crescimento quanto o rendimento do crescimento são afetados. Para uma dada estirpe microbiana, o fator de rendimento em ATP depende das condições ambientais e é uma medida da eficiência com que a célula utiliza para crescimento (i.e, síntese de nova biomassa) a energia que produz. Pode ser calculado como o quociente entre a biomassa produzida e a energia de manutenção, em moles de ATP, gasta para renovação de

macromoléculas (proteínas, RNA), expulsão ativa de metabólitos tóxicos, manutenção de gradiente eletroquímicos de íons e do pH intracelular em níveis ótimos. Quanto mais afastadas das condições ótimas, maiores são os gastos de energia para manutenção (Madigan *et al.*, 2010).

O pH é um fator químico que afeta diretamente a atividade microbiana, devido aos efeitos dos íons H^+ na permeabilidade celular e na atividade enzimática, e, indiretamente, pela influência na disponibilidade de macro e micronutrientes e na solubilidade do alumínio e demais metais pesados, que podem ser tóxicos aos microrganismos (Jacques *et al.*, 2007). A variação de pH, normalmente, está relacionada com a produção/inibição de ácidos orgânicos como produtos intermediários do(s) processo(s) de biodegradação de petróleo e derivados (Miranda *et al.*, 2007; Araújo *et al.*, 2014).

A redução da tensão superficial facilita a atuação dos microrganismos no consumo dos hidrocarbonetos, aumentando as atividades de biorremediação/biodegradação (Bush, 2004; Zhang e Miller, 1992; Mulligan, 2005; Venosa e Zhu, 2003). Os biossurfactantes são metabólitos produzidos por uma grande variedade de bactérias, leveduras e fungos filamentosos e possuem características de detergência, emulsificação, solubilização, diminuição da tensão superficial e interfacial e dispersão de fases (Desai e Banat, 1997; Ron e Rosenberg, 2001; Nitschke e Pastore, 2002; Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011). Estes produtos alteram a hidrofobicidade e aumentam a dispersão de compostos imiscíveis em água, aumentando a degradação microbiana. (Ron e Rosenberg, 2001; Mariano *et al.*, 2007, Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011).

2.2.2 Fuzificação

A fuzificação das variáveis linguísticas de entrada e saída é feita através de conjuntos *fuzzy* e funções de pertinência. As variáveis RBio, dpH, dTS foram definidas por cinco conjuntos *fuzzy*, associados a funções de pertinências triangulares e expressos pelos seguintes termos linguísticos: *baixíssima*, *baixa*, *média*, *alta* e *altíssima*. A variável IBDHCAM_f1 também foi definida por cinco conjuntos *fuzzy*, associados a funções de pertinências triangulares, expressos pelos termos linguísticos *baixíssimo*, *baixo*, *médio*, *alto* e *altíssimo*. As funções de pertinências triangulares das variáveis RBio, dpH, dTS e IBDHCAM_f1 estão ilustradas nas Figs. 2 e 3 e foram construídas usando os parâmetros a , b e c especificados na Tabela 1.

2.2.3 Construção e avaliação das regras de inferência

As regras *fuzzy* consistem em argumentos expressos como números *fuzzy* indicando possíveis valores de variáveis de entrada. As respostas das regras são as possíveis classificações de qualidade da biodegradação (Tscherko *et al.*, 2007). A quantidade e a qualidade das regras de inferência determinam o desempenho e a robustez do SIF. O número total de regras requeridas para modelar um SIF é m^n , sendo m o número de variáveis linguísticas de entrada e n o número de termos linguísticos (Mourhir *et al.*, 2014). No presente trabalho, 125 regras de inferência baseadas no conhecimento e na experiência de especialistas em processos de biodegradação de hidrocarbonetos foram estabelecidas (Anexo 1). Cada regra traduz o julgamento dos especialistas expresso em termos linguísticos, sendo, portanto, um fator de ponderação qualitativo e subjetivo (Lermontov *et al.*, 2009). Convém ressaltar que os números de variáveis e de termos linguísticos do SIF_IBDHCAM-f1 foram especificados - seguindo o princípio da parcimônia (Lark, 2001) - que recomenda o desenvolvimento do modelo mais simples capaz de fornecer uma

descrição adequada das principais características dos dados. A saída de cada regra *fuzzy* foi calculada usando o operador *fuzzy* de interseção (AND).

2.2.4 Agregação

A entrada do processo de agregação é uma lista de funções de saída truncadas retornada por cada regra. A saída do processo de agregação é uma função de pertinência *fuzzy* que tem de ser defuzificada (Ross, 2010; Ocampo *et al.*, 2006; Carbajal-Hernández *et al.*, 2012). O procedimento de agregação usa o operador *fuzzy* OR para fazer a união de todas as saídas truncadas.

2.2.5 Defuzificação

Os quatro métodos de defuzificação mais citados na literatura, *som*, *mom*, *lom* e *centroid* foram usados para defuzificar as saídas do SIF_IBDHCAM_f1. A entrada para o processo de defuzificação foi obtida por agregação, usando união *fuzzy*, de todas as contribuições de regras individuais, sendo a saída um valor numérico preciso para o IBDHCAM_f1, no intervalo entre 0 e 1

2.2.6 Ambientes de Desenvolvimento Integrado (ADI) Técnico-Científico

O IBDHCAM_f1 foi desenvolvido e executado no ADI *Matlab*® R2010a, versão 7.10.0.499 (*The MathWork*TM, USA) usando o *Fuzzy Logic Optimization Toolbox*. As análises e gráficos estatísticos foram realizados usando o Statistica versão 8 (StatsoftInc., USA).

2.3. Avaliação do desempenho do IBDHCAM_f1

Para avaliar o desempenho do IBDHCAM_f1 um estudo de caso foi conduzido com dados de planejamento experimental de processo de biodegradação de óleo diesel em água do mar.

Estudo de Caso

Doze ensaios de processo de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar foram avaliados usando o IBDHCAM_f1. Foram utilizados como parâmetros de entrada para as funções de pertinência do SIF_ IBDHCAM_f1, dados de rendimento de biomassa, variação de pH e variação de tensão superficial obtidos a partir de resultados de planejamento fatorial completo 2³, com 4 repetições no ponto central, para investigar os efeitos e as interações do pH, da concentração celular inicial (inóculo) e do volume inicial de óleo diesel sobre variações de concentração de biomassa, pH e tensão superficial de cultivos livres de células de *Candida lipolytica* UCP 0988. Os experimentos do planejamento fatorial foram realizados a 28°C e 200 rpm, durante 120 horas, em Erlemeyer de 500 mL, com volume útil de 250 mL, contendo água do mar estéril, suplementada com sulfato de amônio e fosfato monobásico de potássio. Nas condições, a levedura *C. lipolytica* UCP 0988 revelou comportamento halo-ácido tolerante, apresentando habilidade de utilizar óleo diesel em concentrações de 10, 30 ou 50% (v/v) em água do mar hipersalina (salinidade superior a 35‰), ácida (pH 5 e 3) ou extremamente ácida (pH 1).

3. Resultados e Discussão

Devido ao pioneirismo do IBDHCAM_f1, sua validação só pode ser feita através de sua aplicação eficaz na classificação da qualidade de ensaios de processos reais de

biodegradação petróleo e derivados em água do mar e pela obtenção de resultados consistentes respaldados pela experiência de especialistas e/ou pela literatura. Um índice de biodegradação - para ser útil para monitoramento e tomada de decisões - deve sintetizar, em um único número, informações de um número suficiente de variáveis significativas do processo. Nas tabelas 2 e 3 são apresentados, respectivamente, os resultados quantitativos e qualitativos da aplicação do IBDHCAM_f1 para avaliar os estados da biodegradação de óleo diesel nos 12 ensaios do planejamento experimental, realizado por Seger *et al.* (2013).

Para cada ensaio experimental, valores percentuais do rendimento de biomassa, da variação de pH e da variação de tensão superficial foram usados como entradas para o SIF_IBDHCAM_f1. Após a fuzificação das variáveis linguísticas de entrada e de saída e do processo de inferência usando 125 regras proposta por especialistas, os conjuntos *fuzzy* resultantes foram defuzificados, para obter o IBDHCAM-f1, usando os métodos *som*, *mom*, *lom* e *centroid*.

Como pode ser observado os valores do IBDHCAM-f1 fornecidos pelos métodos *mom* e *centroid* não apresentam diferença estatisticamente significativa entre si, nem em relação à média dos quatro métodos. Na literatura geralmente se utiliza apenas um dos quatro métodos, sendo o método do *centroid* o mais popular (Gharibi *et al.*, 2012; Rhamanian et al., 2011; Ross, 2010; Segui *et al.*, 2013). Entretanto, este método calcula o centro da área sob a curva da função *fuzzy* de saída, e seu escore restringe o resultado de saída do centro de baixíssimo (3.0) e do centro de altíssimo (97), sendo necessário normalizar o resultado de saída (Carbajal-Hernández *et al.*, 2012). Portanto, no presente trabalho, sugere-se que os valores calculados usando os métodos *som*, *mom* e *lom*, sejam usados como limites *fuzzy* do índice IBDHCAM-f1.

A análise dos resultados quantitativos e qualitativos do IBDHCAM-f1 apresentados nas tabelas 2 e 3 mostram que : (i) usando *som* - cerca de 50% dos ensaios apresentou estado

de biodegradação médio, cerca de 8,3% apresentou estado de biodegradação baixo/médio, cerca de 8,3% apresentou estado de biodegradação baixo e cerca de 33,3% dos ensaios apresentou estado de biodegradação baixíssimo; (ii) usando *mom* - cerca de 58,3% dos ensaios apresentou estado de biodegradação médio, cerca de 41,7% dos ensaios apresentou estado de biodegradação baixo e (iii) usando *lom* - cerca de 8,3% dos ensaios apresentou estado de biodegradação médio/alto, cerca de 50% dos ensaios apresentou estado de biodegradação médio, cerca de 25% dos ensaios apresentou estado de biodegradação médio/baixo, cerca de 8,3% dos ensaios apresentou estado de biodegradação baixo/médio e cerca de 8,3% dos ensaios apresentou estado de biodegradação baixo. Os escores quantitativos do IBDHCAM-f1 (Tabela 2) revelam de forma simples, clara, objetiva e econômica, os diferentes estados dos ensaios de biodegradação, podendo ser usados para monitorar e comparar a qualidade da biodegradação dos ensaios do planejamento, interna e externamente ao longo do tempo.

Os valores obtidos para o IBDHCAM-f1, usando o método de defuzificação *som* são os mais rigorosos e os que melhor refletem a opinião dos especialistas sobre os estados de biodegradação dos 12 ensaios analisados. Dos quatro métodos de defuzificação, dos resultados dos 12 ensaios do planejamento, são apresentados a seguir apenas os resultados do ensaio 4, pois o mesmo apresentou o maior rendimento de biomassa, ou seja, maior coeficiente de conversão de óleo diesel (substrato) em biomassa, acompanhado de variações de pH e de tensão superficial significativas, obtendo o maior IBDHCAM_f1 usando o método *som*.

Na Fig. 4 encontram-se ilustradas as superfícies de regras do modelo *fuzzy* para o IBDHCAM_f1 (usando *som*) em função de: (a) rendimento de biomassa e variação de pH, (b) rendimento de biomassa e variação de tensão superficial e (c) variação de pH e variação

de tensão superficial. As superfícies de resposta mostram como as mudanças nas diferentes variáveis de entrada e correspondentes interações afetam os valores do IBDHCAM_f1.

Na Fig. 5 são apresentadas **telas da interface do editor de regras** do toolbox de lógica fuzzy do Matlab com: (i) as regras de 1 a 30 (Fig.5a) e de 97 a 125 (Fig.5b) da base de regras, (ii) o IBDHCAM_f1 defuzificado pelo método *som* (quarta coluna da linha anterior a Regra 1 da Fig. 5a e quarta coluna da linha posterior a regra 125 da Fig. 5b) após a aplicação das 125 regras da base as variáveis RBio, dpH e dTS do ensaio 4 e também as saídas fuzificadas de cada regra (quarta coluna da Fig.5).

Para avaliar os efeitos do pH inicial, da concentração inicial de biomassa e da concentração inicial de óleo diesel sobre a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar, analisou-se o planejamento fatorial 2^3 executado por Seger (2013) usando como variável resposta o IBDHCAM_f1 (defuzificado pelo método *som*).

A utilização do IBDHCAM_f1 como variável resposta reflete muito melhor o estado geral e a complexidade dos ensaios de biodegradação do planejamento que as variáveis respostas - pH final, tensão superficial final, atividade de emulsificação final e concentração final de biomassa – analisadas individualmente, pois sintetiza os efeitos simultâneos de todas elas.

Conforme [se](#) pode observar no diagrama de Pareto de efeitos padronizados, ilustrado na Fig. 6, o aumento do pH e o aumento da concentração inicial de biomassa exerceram efeitos positivos estatisticamente significativos sobre o aumento do IBDHCAM_f1.

Por outro lado, o aumento da concentração de óleo diesel, a interação do pH com o diesel e a interação da concentração inicial de biomassa com o diesel exerceram efeitos negativos estatisticamente significativos sobre o aumento do IBDHCAM_f1.

Teste de curvatura foi realizado e indicou a proximidade das condições iniciais ótimas do pH, da concentração de biomassa e da concentração de óleo diesel, sugerindo a necessidade de realização de planejamento central composto para ajuste de modelo de segunda ordem

que permita a maximização do IBDHCAM_{fl}, ou seja a identificação das condições iniciais de pH, de concentração de biomassa e de concentração inicial de óleo diesel que maximizam a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar.

De uma maneira geral, os ensaios do planejamento apresentaram biodegradação com classificação variando de baixíssima a média, resultados considerados consistentes com os esperados pelos especialistas, haja vista a utilização de cultura pura, as condições adversas e a curta duração dos ensaios realizados. Uma grande vantagem do índice proposto é que além da classificação do estado da biodegradação como baixíssimo, baixo, médio, alto e altíssimo, ele classifica os ensaios quantitativamente usando uma escala de 0 a 100%. Da forma como foi proposto e implementado, o IBDHCAM-fl permite tanto a comparação do estado de biodegradação de diferentes ensaios de um mesmo processo de biodegradação, quanto a comparação com ensaios de outros processos de biodegradação, pois considera as principais variações microbiológicas, químicas e físicas ocorrendo nos sistemas investigados.

4. Conclusão

O IFQGBD é o primeiro índice desenvolvido para avaliar estado/qualidade/extensão de processos de biodegradação de hidrocarbonetos em água do mar usando lógica fuzzy. É um índice simples, eficaz, confiável e econômico, desenvolvido a partir de um indicador biológico - o rendimento da biomassa microbiana; um indicador químico – a variação do potencial hidrogeniônico (pH) e de um indicador físico – a variação da tensão superficial. Apesar ter sido aplicado apenas a processo de biodegradação de óleo diesel em água do mar por *C.lipolytica* UCP 0988, o IBDHCAM_{fl} tem potencial para ser aplicado com sucesso em outros processos de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados. O

IBDHCAM_f1 foi desenvolvido seguindo o princípio da parcimônia que recomenda o desenvolvimento do modelo mais simples capaz de fornecer uma descrição adequada das principais características dos dados analisados. Apesar de apenas um número suficiente de variáveis representativas e termos linguísticos terem sido inicialmente usado na modelagem do IBDHCAM_f1, a metodologia desenvolvida permite o aumento da complexidade do índice, pela inserção de novas variáveis que contribuam para aumentar a confiabilidade e eficiência do mesmo. É importante ressaltar as principais vantagens do IBDHCAM_f1 são justamente sua simplicidade, eficácia, confiabilidade, expansibilidade e portabilidade. Entretanto, só novos estudos de casos e desenvolvimentos de novos índices ratificarão a validação feita no presente trabalho de forma mais ampla e definitiva. O IBDHCAM_f1 pode ser usado no monitoramento, otimização e controle de processos de biodegradação, para resolver problemas de incerteza e ambiguidade linguísticas inerentes aos mesmos, fornecendo resultados qualitativos e quantitativos que podem ser interpretados de forma simples, clara, objetiva e econômica por especialistas e sistemas computacionais.

Agradecimentos

Os autores agradecem a UNICAP, ao CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

Referências

- Albuquerque, C. D. C.; Campos- Takaki, G. M.; Fileti, A. M. F. 2008. On-line biomass estimation in biosurfactant production process by *Candida lipolytica* UCP 988. J. Ind. Microbiol. Biotech, 35, 1425–1433.
- Alexander, M. Biodegradation and Bioremediation. San Diego, CA: Academic Press, 1994.
- Alexieva, Z.; Gerginova, M.; Zlateva, P.; Manasiev, J.; Ivanova, D.; Dimova, N. 2008. Monitoring of aromatic pollutants biodegradation. Biochem. Eng. J. 40, 233–240.
- Araújo, A. M.; Gonçalves, C.; Nascimento, E. M.; Moreira JR, J.; Silva, J. C.; Oliveira, M. A.; Brisa, P.; Pires, P. H.; Machado, E. C. Protocolo para biorremediação de águas contaminadas por petróleo e derivados. E-xacta, 7, 55-63, 2014.
- Atlas, R.M., Bartha, R., 1972. Degradation and mineralization of petroleum in seawater: limitation by nitrogen and phosphorus. Biotechnol. Bioeng, 14, 309–318.

Bao, M. T., Wang, L. N., Sun, P. Y., Cao, L. X., Zou, J., Li, Y. M., 2012. Biodegradation of crude oil using an efficient microbial consortium in a simulated marine environment. *Mar. Poll. Bull.*, 64, 1177–1185.

Bastin, G.; Dochain, D. *On-line Estimation and Adaptive Control of Bioreactors*, Elsevier, Amsterdam, 1990.

Beolchini, F., Rocchetti, L., Regoli, F., Dell'Anno, A., 2010. Bioremediation of marine sediments contaminated by hydrocarbons: experimental analysis and kinetic modeling. *J. Hazard. Mater.*, 182, 403–407.

Brakstad, O.G., Lodeng, A.G.G., 2005. Microbial diversity during biodegradation of crude oil in seawater from the North Sea. *Microb. Ecol.* 49, 94–103.

Burrough, P.A., 1989. Fuzzy mathematical methods for soil survey and land evaluation. *J. Soil Sci.* 40, 477-492.

Bush, J. W. M. 2004. Surface Tension Module. Department of Mathematics, MIT. Lecture 1: The definition and scaling of surface tension.

Carbajal-Hernández, J.J., Sánchez-Fernández, L.P.S., Carrasco-Ochoa, J.A. 2012. Immediate water quality assessment in shrimp culture using fuzzy inference systems. *Exp. Sys. Appl.* 39, 10571, 10582.

Das, N.; Chandran, P. 2011. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotech. Res. Int.*, 1-13.

Desai, J.D. ; Banat, I.M. 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potencial. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 47-64.

Enea, M., Salemi, G. 2001. Abordagem fuzzy para avaliação de impacto ambiental. *Ecolog. Modell.* 135, 131-142.

Enea, M.; Salemi, G. Fuzzy approach to the environmental impact evaluation. *Ecological Modelling* 135, pp. 131–147, 2001.

Fritsche, W.; Hofrichter, M. Aerobic degradation of recalcitrant organic compounds by microorganisms. In *Environmental Biotechnology – Concepts and Applications*. H-J. Jördening, J. Winter, Eds., p. 203-228, Wiley_VCH, Weinheim, Germany, 2005.

Gharibi, H.; Sowlat, M.H.; Mahvi, A.H.; Mahmoudzadeh, H.; Arabalibeik, H.; Keshavarz, M.; Karimzadeh, N.; Hassani, G., 2012. Development of a dairy cattle drinking water quality index (DCWQI) based on fuzzy inference systems. *Ecol. Ind.*, 20, 228–237.

Gomes, E.B.G., Soriano, A.U., Miranda, R.C.M., Sousa, M.F.V.Q., Pereira Jr., N., 2009. Biodegradation of Stored jet Fuel by a *Nocardia* sp. Isolated from Contaminated Soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52, 1279-1284

Honda, H.; Kobayashi, T. 2000. Fuzzy control of bioprocess in Japan. *Biotech. Ann. Rev.* 5, 1–23.

Jacques, R.J.S.; Bento, F.M.; Antonioli, Z.I. & Camargo; F.A.O. 2007. Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. *Ciência Rural* 37, 1192-1201.

Kaczoreck, M. Urbanowicz, M., Olszanowski, A., 2010. The influence of surfactants on cell surface properties of *Aeromonas hydrophila* during diesel biodegradation. *Coll. Surf. B: Biointer.* 81,363-368.

Khorasani, A.C., _Mashreghi, M., Yaghmaei, S., 2014. Optimization of biomass and biokinetic constant in Mazut biodegradation by indigenous bacteria BBRC10061. *J Environ Health Sci Eng.* 2014; 12: 98.

Kumari, M., Abrahan, J., 2011. Biodegradation of diesel oil using yeast *Rhodospirium torulodes*. *Res.J.Environ.Toxicol.*, 5, 369-377.

Lark, R.M. 2001. Some tools for parsimonious modelling and interpretation of within-field variation of soil and crop systems. *Soil Tillage Research*, 58, 99-111.

Lermontov, A.; Yokoyama, L.; Lermontov, M.; Machado, M.A S., 2009. River quality analysis using fuzzy water quality index: Ribeira do Iguape river watershed, Brazil. *Ecol. Indic.* 9, 1188–1197.

Madigan, M.T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P.V.; Clark, D.P. *Microbiologia de Brock*. 12ª Ed. Editora Artmed. Porto Alegre, RS. 2010.

Mandani, E.H., Assilian, S. 1975. An experiment in linguistic synthesis with a fuzzy logic controller. *Int.J.Man Mach. Stud.*7, 1-13.

Mariano, A. P.; Angelis, D. F.; Bonotto, D. 2007. Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel. *Eng. Sanit. Ambient.*12, 296-304.

Mariano, A.P., Bonotto, D.M., de Angelis, D.F., Pirrôlo, M.P.S., Contiero, J., 2008. Biodegradability of commercial and weathered diesel oil. *Braz.J.Microbiol.*, 39,133-142.

Miranda, R. C., Souza, C.S., Barros Gomes, E., Lovaglio,R.B., Lopes, C.E., Sousa, M.F.V.Q., 2007. Biodegradation of diesel oil by yeasts isolated from the vicinity of Suape port in the state of Pernambuco. *Braz. Arch. Biol. Tech.*, 50, 147-152.

Morais, E.B., Tornisielo, S.M., 2009. Biodegradation of oil refinery residues using mixed culture of microorganisms isolated from a landfarming . *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52, 1571-1578.

Mourhir, A., Rachidi, T., Karim, M., 2014. River water quality index for Morocco using a fuzzy inference system. *Environ. Sys. Res.* 3, 1-12.

Mukherji, S., Jagadevan, S., Mohapatra, G., Vijay, A., 2004. Biodegradation of diesel oil in arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field. *Biores. Tech.* 95, 281-286.

Mulligan, C. N. 2005. Environmental applications for biosurfactants. Environ. Poll. 133, 183–198.

Nitschke, M.; Pastore, G.M. 2002. Biossurfactantes: Propriedades e Aplicações. Química Nova, 25, 772-776.

Ocampo, W., Ferré, N., Domingo, J., Schuhmacher, M. 2006. Assessing water quality in rivers with fuzzy inference systems: A case of study. Environ. Inter. 32,733–742.

Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G.A., Piotrowska-Seget, Z., Cameotra, S.S. 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. IJMS, 1, 633-654.

Pirôllo, M.P.S.; Mariano, A.P.; Lovaglio, Costa; R.B S.G.V.A.O.; Walter, V.; Hausmann, R; Contiero, J., 2008. Biosurfactant synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* LBI isolated from a hydrocarbon-contaminated site. J. of Appl. Microbiol., 105, 1484–1490.

Rahmanian, B., Pakizeh, M., Esfandyari, M., Heshmatnezhad, F. 2011. Fuzzy modelling and simulation for lead removal using micellar-enhanced ultrafiltration (MEUF). J. Harz.Mat, 192, 585-592.

Ron, E.Z., Rosenberg, E. 2001. Natural roles of biosurfactants. Environ. Microbiol., 3, 229-236.

Ross, T. J.; Fuzzy Logic with Engineering Applications, 3th ed., New York, 2010.

Sadiq, R., Al-Zahrani, M.A., Sheikh, A.K., Husain,T., Farooq, S., 2004. Performance evaluation of slow sand filters using fuzzy rule-based modeling, Environ. Model. Soft. 19,507-515.

Sadiq, R., Husain, T., 2005. A fuzzy – based methodology for an aggregative environmental risk assessment: a case study of drilling waste. Environ.Modell.Soft. 20, 33-46.

Seger, F.; Paiva, A.B; Correia, M.A.B; Henriques, M.L.O.M.F; Campos-Takaki, G.M., Albuquerque, C.D.C. 2013. Biodegradação de óleo diesel em água do mar extremamente ácida. Relatório Final de Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica- Universidade Católica de Pernambuco. (Artigo em preparação para ser submetido ao periódico Biodegradation).

Seguí, X.; Pujolasus, E.; Betrò, S.; Àgueda, A.; Casal, J.; Ocampo-Duque, W.; Rudolph, I.; Barra, R.; PÁEZ, M.; Barón, E.; Eljarrat, E.; Barceló, D.; Darbra, R. M. 2013.Fuzzy model for risk assessment of persistente organic pollutants in aquatic ecosystems. Environ. Poll. 178, 23-32,

Souza, F. A. S. D.; Salgueiro, A. A.;. Albuquerque, C. D. C., 2012. Production of bioemulsifiers by *Yarrowia lipolytica* in sea water using diesel oil as the carbon source. Braz. J. Chem. Eng., 29, 61 - 67.

Takagi, T., Sugeno, M. 1985. Fuzzy Identification of systems and its applications to modeling and control. IEE Trans. Sys.Man Cybern. Part B. Cybern.15, 116-132.

Wettler-Tonini, R. M. C.; Rezende, C. E.; Gravitol, A. D. 2010. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão. *Oecologia Australis*, 14, 1027-1035.

Tscherko, D., Kandeler, E., Bárdossy, A., 2007. Fuzzy classification of microbial biomass and enzyme activities in grassland soils. *Soil Biol. Biochem*, 39, 1799-1808.

Venosa, A. D.; Zhu, X. 2003. Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands. *Spill Sci.Tech. Bull.*, 8, 163–178.

Vismara, R. 1995. *Ecologia Applicata*. Hoepli, Milan.

Wang, X.B., Chi, C.Q., Nie, Y., Tang, Y.Q., Tan, Y., Wu, G., Wu, X.L., 2011. Degradation of petroleum hydrocarbons (C6–C40) and crude oil by a novel *Dietzia* strain. *Bioresour. Technol.* 102, 7755–7761.

Whang, L.M., Liu, P.-W., Ma, C.-C., Cheng, S.-S., 2009. Application of rhamnolipid and surfactin for enhanced diesel biodegradation-Effects of pH and ammonium addition. *J. Hard. Mat*, 164, 1045-1050.

Zadeh, L.A., 1965. Fuzzy sets. *Inform.Cont.*8, 338-353.

Zhang, Y.; Miller, R. M. 1992. Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a *Pseudomonas* Rhamnolipid Surfactant (Biosurfactant). *Appl. Environ. Microbiol.*, 3276-3282.

Tabela 1. Termos linguísticos e conjuntos *fuzzy* para variáveis linguísticas de entrada e saída

Variáveis Linguísticas	Unidade	Termos Linguísticos/ Conjuntos Fuzzy	Parâmetros das Funções de Pertinência Triangulares			Intervalo
			a	b	c	
RBio	(%)	Baixissimo	0	0	10	1-300
		Baixo	5	15	25	
		Médio	15	50	85	
		Alto	75	85	95	
		Altissimo	90	300	300	
dpH, dTS	(%)	Baixissima	0	0	10	1-100
		Baixa	5	15	25	
		Média	15	50	85	
		Alta	75	85	95	
		Altissima	90	100	100	
IBDHCAM_f1	(%)	Baixissimo	0	0	10	1-100
		Baixo	5	15	25	
		Médio	15	50	85	
		Alto	75	85	95	
		Altissimo	90	100	100	

RBio- Rendimento percentual do crescimento da biomassa dpH- Variação percentual de pH dTS- Variação percentual de Tensão Superficial IBDHCAM-f1 –Índice de Biodegradação de Hidrocarbonetos de Petróleo e Derivados em Água do Mar usando Sistema de Inferência *Fuzzy*

Tabela 2 – Estudo de Caso: Resultados de avaliações quantitativas de ensaios de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar usando o IBDHCAM_f1, obtido usando os métodos de defuzificação: (1) *som* (2) *mom* (3) *lom* e (4) *centroid*.

Ensaio	RBio (%)	dpH (%)	dTS (%)	¹ IBDHCAM (%)	² IBDHCAM (%)	³ IBDHCAM (%)	⁴ IBDHCAM (%)	⁵ Média IBDHCAM	⁶ Desvio IBDHCAM
1	11,58	29,09	18,73	9,00	15,00	21,00	15,00	15,00	4,90
2	135,78	21,79	4,20	27,00	50,00	73,00	50,00	50,00	18,78
3	49,05	25,00	5,48	25,00	50,00	75,00	50,00	50,00	20,41
4	230,57	16,00	2,36	41,00	50,00	59,00	50,00	50,00	7,35
5	10,78	19,00	0,08	11,00	15,00	19,00	15,00	15,00	3,27
6	31,97	18,41	0,80	9,00	15,00	21,00	15,00	15,00	4,90
7	18,97	8,49	4,33	9,00	15,00	21,00	13,24	14,56	4,98
8	36,01	11,71	9,37	10,00	15,00	20,00	15,00	15,00	4,08
9	55,12	39,10	1,08	40,00	50,00	60,00	50,00	50,00	8,16
10	55,03	36,88	4,60	37,00	50,00	63,00	50,00	50,00	10,61
11	50,88	43,41	9,63	34,00	50,00	66,00	50,00	50,00	13,06
12	36,49	40,25	9,31	33,00	50,00	67,00	50,00	50,00	13,88

1-*som* 2-*mom* 3-*lom* 4-*centroid* 5 –média de *som*, *mom*, *lom* e *centroid* 6- desvio da média de *som*, *mom*, *lom* e *centroid*

Tabela 3 – Estudo de Caso: Resultados de avaliações qualitativas de ensaios de biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* UCP 0988 em água do mar usando o IBDHCAM_f1.

Ensaio	RBio (%)	dpH (%)	dTS (%)	¹ IBDHCAM (%)	² IBDHCAM (%)	³ IBDHCAM (%)	⁴ IBDHCAM (%)	⁵ Média IBDHCAM	⁶ Desvio IBDHCAM
1	11,58	29,09	18,73	baixissimo/baixo	baixo	baixo/médio	baixo	baixo	baixissimo
2	135,78	21,79	4,20	médio	médio	médio	médio	médio	baixo
3	49,05	25,00	5,48	baixo/médio	médio	médio/alto	médio	médio	baixo
4	230,57	16,00	2,36	médio	médio	médio	médio	médio	baixissimo
5	10,78	19,00	0,08	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixissimo
6	31,97	18,41	0,80	baixissimo/baixo	baixo	médio/ baixo	baixo	baixo	baixissimo
7	18,97	8,49	4,33	baixissimo/baixo	baixo	médio/ baixo	baixo	baixo	baixissimo
8	36,01	11,71	9,37	baixissimo/baixo	baixo	médio/ baixo	baixo	baixo	baixissimo
9	55,12	39,10	1,08	médio	médio	médio	médio	médio	baixissimo
10	55,03	36,88	4,60	médio	médio	médio	médio	médio	baixissimo/baixo
11	50,88	43,41	9,63	médio	médio	médio	médio	médio	baixo
12	36,49	40,25	9,31	médio	médio	médio	médio	médio	baixo

1-som 2-mom 3-lom 4-centroid 5-média de som, mom, lom e centroid 6- desvio da media de som, mom, lom e centroid

Legendas das figuras

Fig.1. Arquitetura do SIF_IBDHCAM_f1

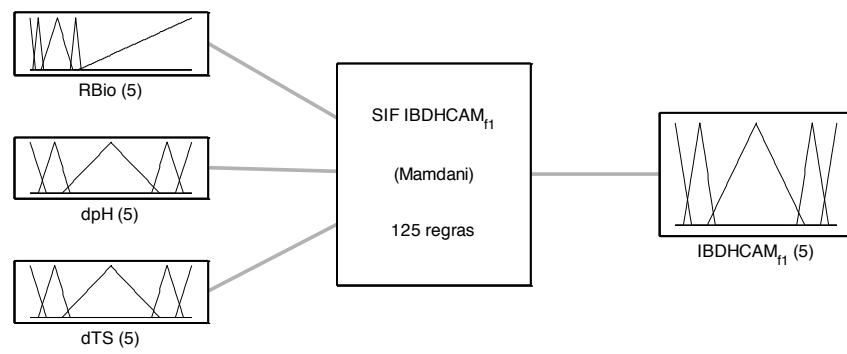
Fig.2. Funções de pertinências das entradas do SIF_IBDHCAM_f1: (a) rendimento da biomassa, (b) variação do pH e (c) variação da tensão superficial

Fig.3. Funções de pertinências da saída do SIF_IBDHCAM_f1: índice de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar.

Fig.4 . Superfícies de resposta do IBDHCAM_f1 em função de: (a) rendimento de biomassa e variação de pH (b) rendimento de biomassa e variação de tensão superficial e (c) variação de pH e variação de tensão superficial

Fig.5. Interface do editor de regras do toolbox de lógica fuzzy do Matlab : (a) regras 1 a 25 e (b) regras 97 a 125 da base de regras do SIF_IBDHCAM_f1.

Fig.6. Diagrama de Pareto para planejamento fatorial 2^3 tendo como variáveis independentes (1) pH inicial, (2) massa celular inicial e (3) volume inicial de óleo diesel e como variável resposta o IBDHCAM_f1. O ponto no qual os efeitos estimados são estatisticamente significativos ($p=0,05$) está indicado pela linha vertical vermelha.



System SIF__IBDHCAM_f_1: 3 entradas, 1 saída, 125 regras

Fig.1

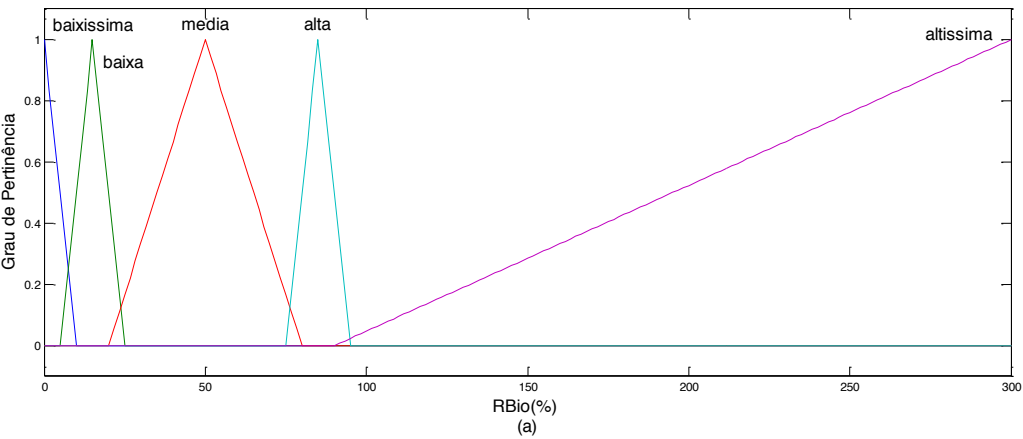


Fig.2

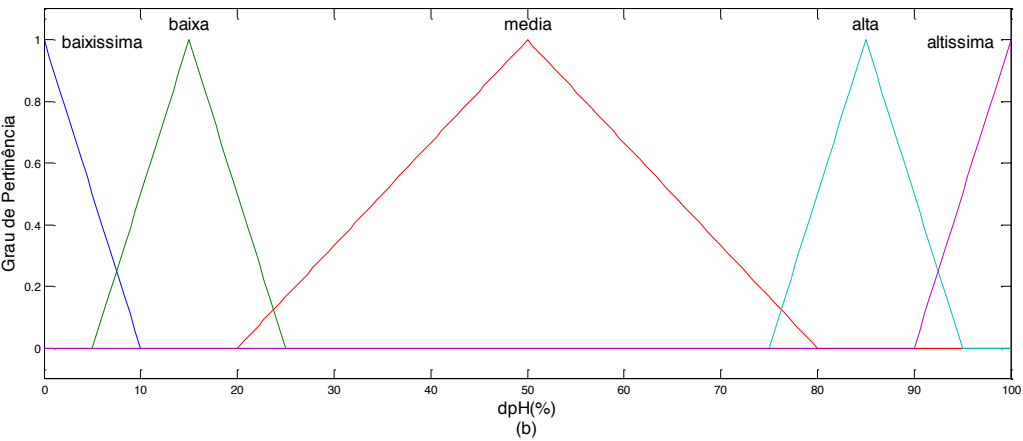


Fig.2

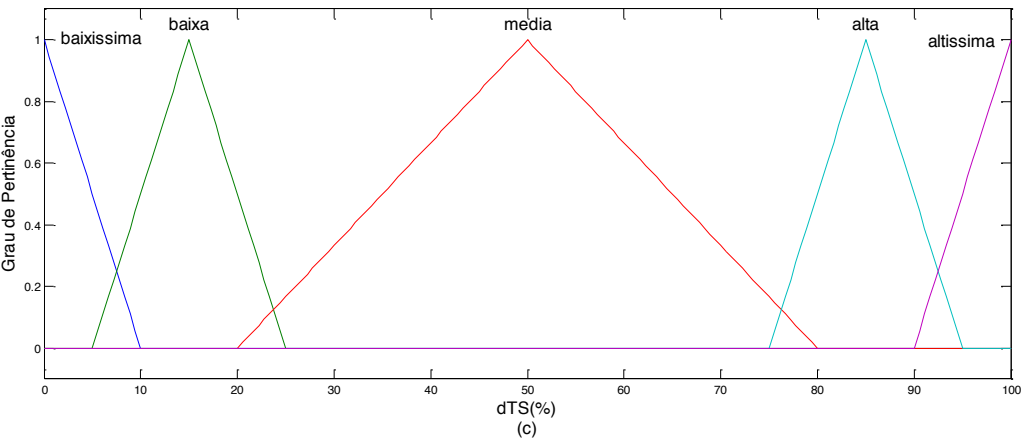


Fig.2

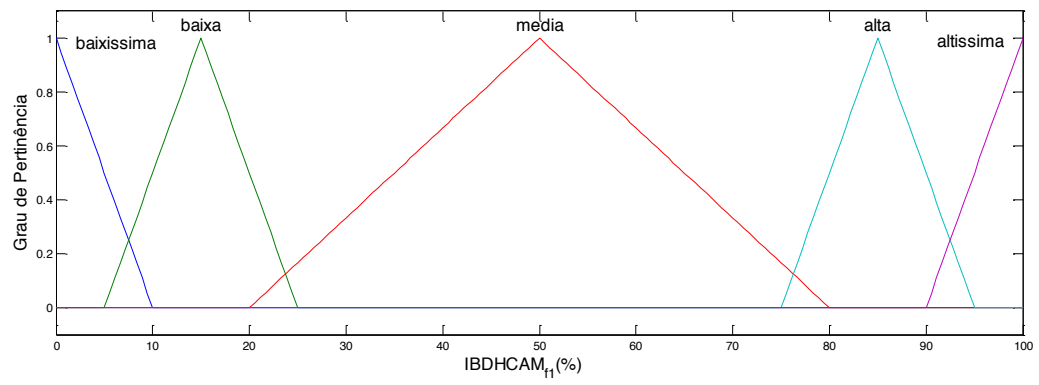
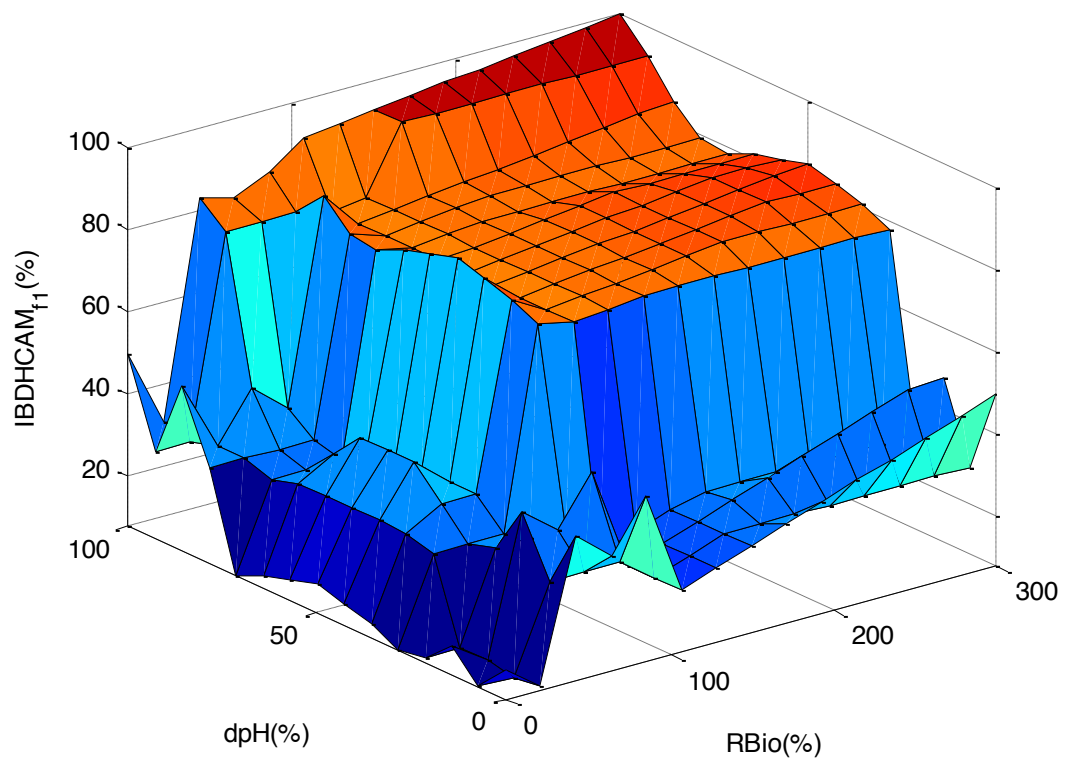
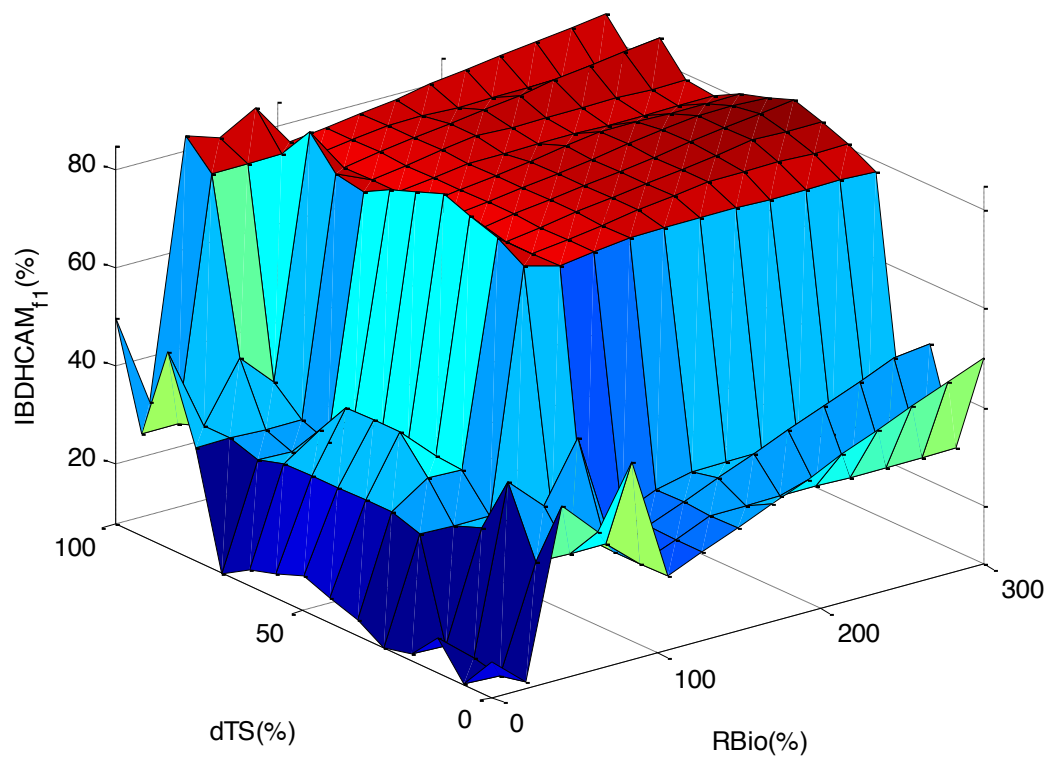


Fig.3



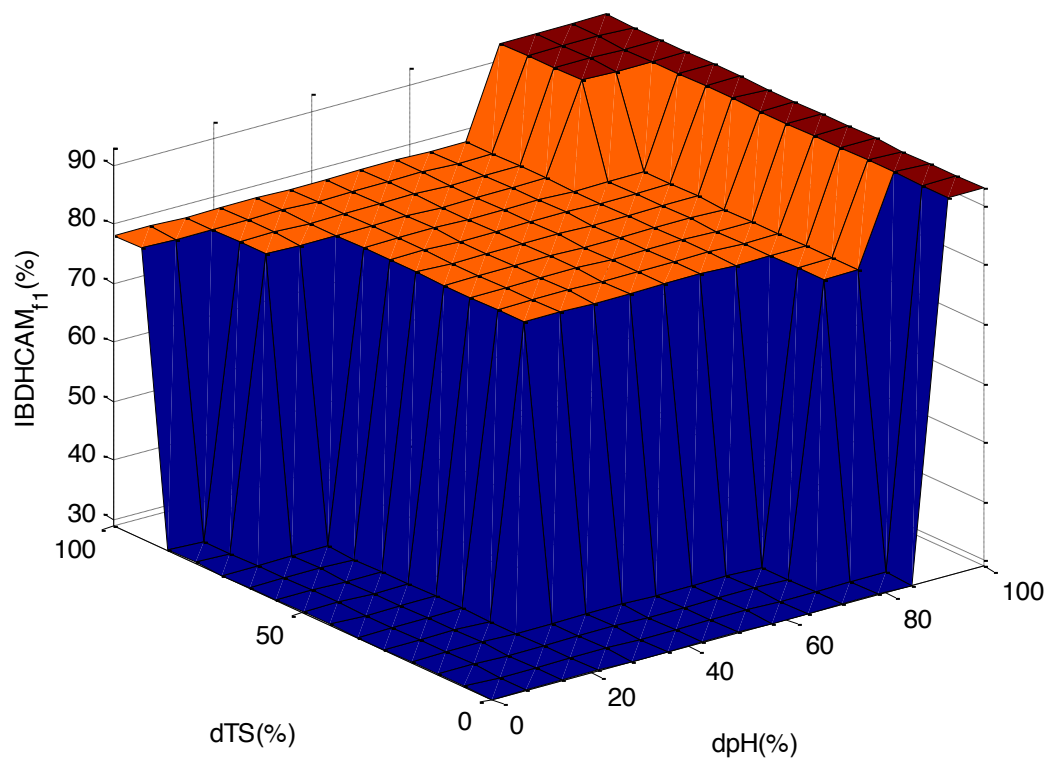
(a)

Fig.4.



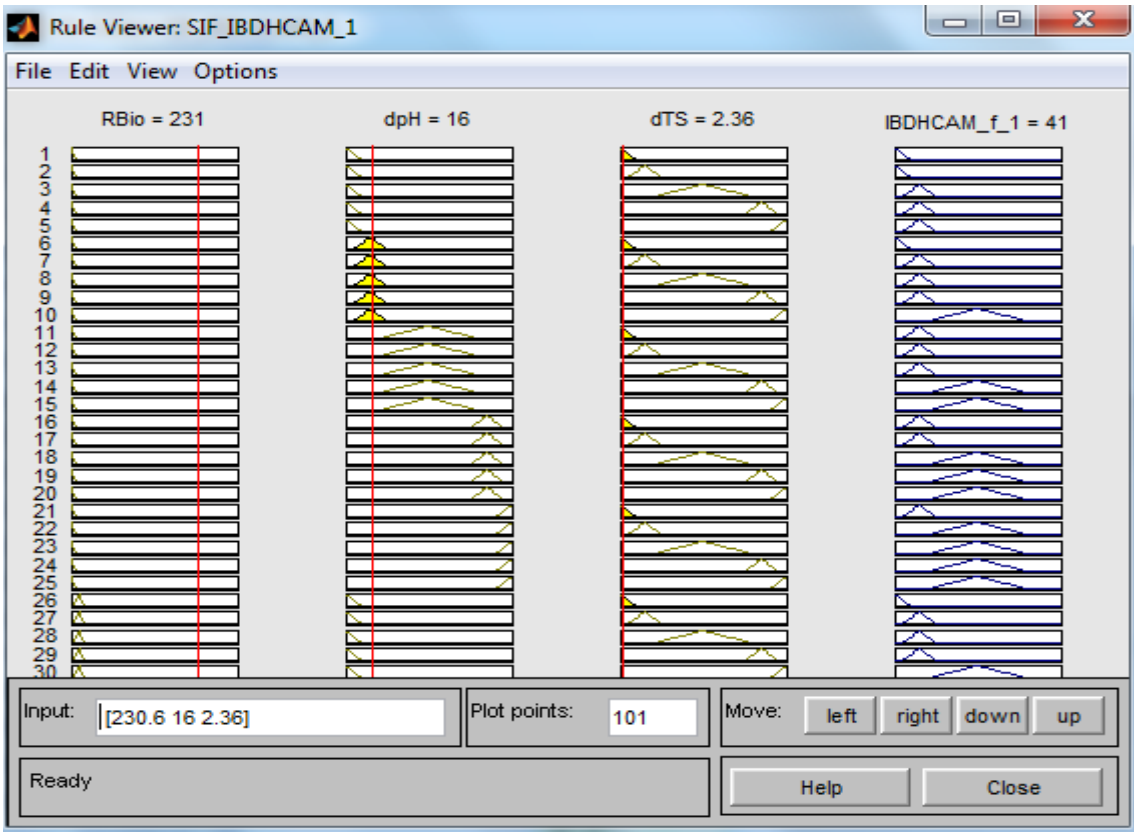
(b)

Fig. 4.



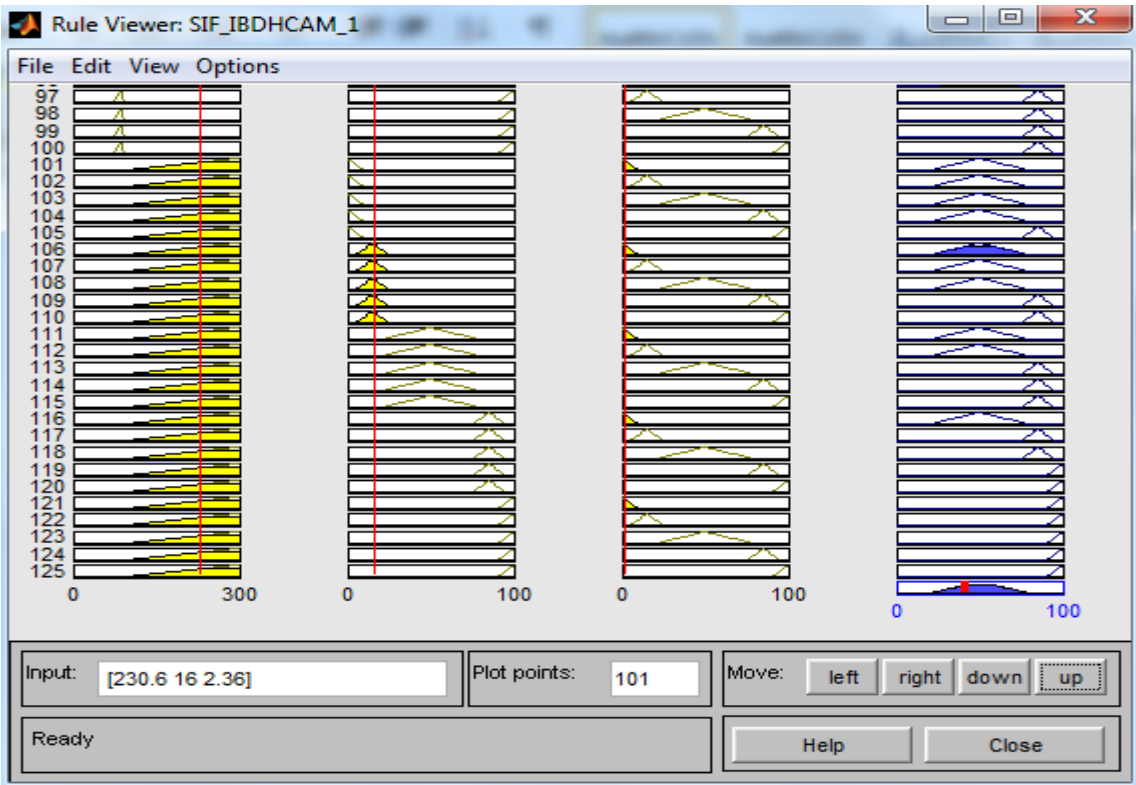
(c)

Fig. 4.



(a)

Fig. 5.



(b)

Fig. 5.

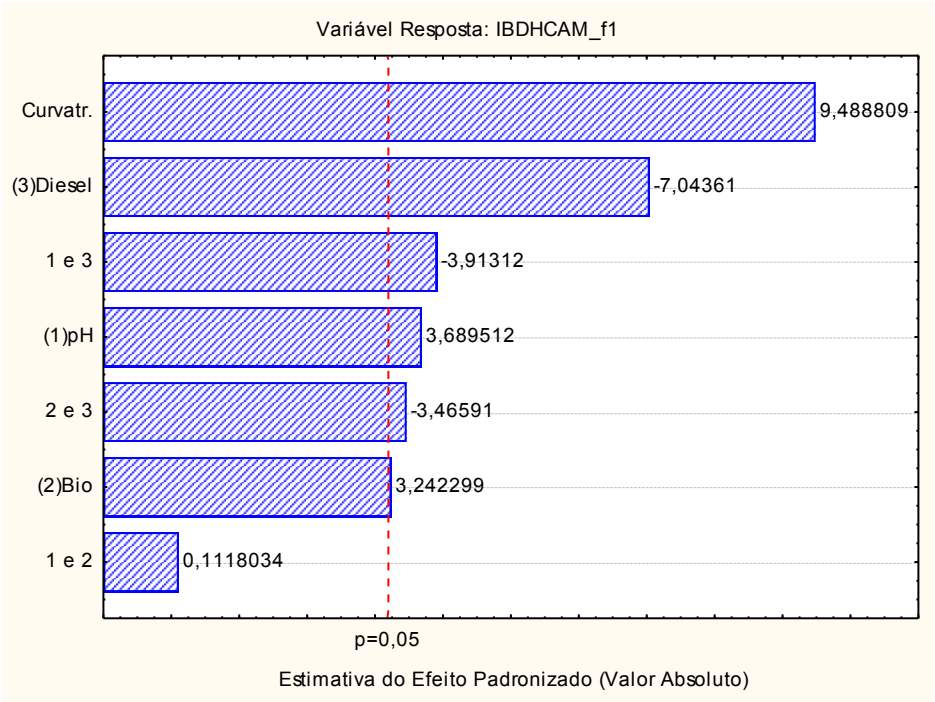


Fig.6

Capítulo III

CONCLUSÕES

- Pesquisas sobre biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados geralmente envolvem determinações analíticas com equipamentos e reagentes de alto custo e analisam - detalhada e isoladamente - uma grande diversidade de características e comportamentos de substâncias e parâmetros ambientais, sem fornecer uma avaliação simples, completa e direta da qualidade da biodegradação. Para preencher esta lacuna, neste trabalho foi proposto o primeiro índice para classificação e quantificação da qualidade (estado) da biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar.
- O índice permite a avaliação do estado geral da biodegradação, a partir de dados sobre o rendimento de biomassa, variação de pH e variação de tensão superficial, que podem ser obtidos através de análises de baixo custo em processos de biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo e derivados em água do mar.
- O índice considera as variações locais e globais da biodegradação em meio líquido, não requer valores de referência e pode ser adaptado para incorporar outras variáveis biológicas, químicas e físicas consideradas importantes para processos de biodegradação.
- Os resultados fornecidos pelo índice *fuzzy* mostram um alto grau de concordância com os resultados experimentais e com os resultados esperados pelos especialistas. O melhor nível de concordância com os resultados previstos pelos especialistas foram obtidos pelo IBDHCAM-f1 desfuzificado através do método *som*.
- Novos estudos de casos envolvendo outros processos de degradação de petróleo e derivados, com outros microrganismos e condições ambientais e o desenvolvimentos novos índices devem ser desenvolvidos para ratificar a validação do IBDHCAM-f1 feita no presente trabalho, de forma mais ampla e definitiva.

ANEXOS

Anexo 1: Base de Regras do SIF_IBDHCAM_f1

1. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixissimo) (1)
2. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixissimo) (1)
3. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is baixo) (1)
4. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is baixo) (1)
5. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
6. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixissimo) (1)
7. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
8. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixa) and (dTS is media) then (IQBDAM is baixo) (1)
9. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixa) and (dTS is alta) then (IQBDAM is baixo) (1)
10. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is baixa) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
11. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is media) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
12. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is media) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
13. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is media) and (dTS is media) then (IQBDAM is baixo) (1)
14. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is media) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
15. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is media) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
16. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is alta) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
17. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is alta) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
18. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is alta) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
19. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is alta) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
20. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is alta) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
21. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
22. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
23. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is altissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
24. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is altissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
25. If (RBio is baixíssimo) and (dpH is altissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
26. If (RBio is baixo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixissimo) (1)
27. If (RBio is baixo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
28. If (RBio is baixo) and (dpH is baixissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is baixo) (1)

29. If (RBio is baixo) and (dpH is baixissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is baixo) (1)
30. If (RBio is baixo) and (dpH is baixissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
31. If (RBio is baixo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
32. If (RBio is baixo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
33. If (RBio is baixo) and (dpH is baixa) and (dTS is media) then (IQBDAM is baixo) (1)
34. If (RBio is baixo) and (dpH is baixa) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
35. If (RBio is baixo) and (dpH is baixa) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
36. If (RBio is baixo) and (dpH is media) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
37. If (RBio is baixo) and (dpH is media) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
38. If (RBio is baixo) and (dpH is media) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
39. If (RBio is baixo) and (dpH is media) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
40. If (RBio is baixo) and (dpH is media) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
41. If (RBio is baixo) and (dpH is alta) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
42. If (RBio is baixo) and (dpH is alta) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
43. If (RBio is baixo) and (dpH is alta) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
44. If (RBio is baixo) and (dpH is alta) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
45. If (RBio is baixo) and (dpH is alta) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
46. If (RBio is baixo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
47. If (RBio is baixo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
48. If (RBio is baixo) and (dpH is altissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
49. If (RBio is baixo) and (dpH is altissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
50. If (RBio is baixo) and (dpH is altissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
51. If (RBio is medio) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
52. If (RBio is medio) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
53. If (RBio is medio) and (dpH is baixissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
54. If (RBio is medio) and (dpH is baixissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
55. If (RBio is medio) and (dpH is baixissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
56. If (RBio is medio) and (dpH is baixa) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
57. If (RBio is medio) and (dpH is baixa) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is baixo) (1)
58. If (RBio is medio) and (dpH is baixa) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)

59. If (RBio is medio) and (dpH is baixa) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
60. If (RBio is medio) and (dpH is baixa) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
61. If (RBio is medio) and (dpH is media) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
62. If (RBio is medio) and (dpH is media) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
63. If (RBio is medio) and (dpH is media) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
64. If (RBio is medio) and (dpH is media) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
65. If (RBio is medio) and (dpH is media) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
66. If (RBio is medio) and (dpH is alta) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
67. If (RBio is medio) and (dpH is alta) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
68. If (RBio is medio) and (dpH is alta) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
69. If (RBio is medio) and (dpH is alta) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
70. If (RBio is medio) and (dpH is alta) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
71. If (RBio is medio) and (dpH is altissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
72. If (RBio is medio) and (dpH is altissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
73. If (RBio is medio) and (dpH is altissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)
74. If (RBio is medio) and (dpH is altissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
75. If (RBio is medio) and (dpH is altissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
76. If (RBio is alto) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is baixo) (1)
77. If (RBio is alto) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
78. If (RBio is alto) and (dpH is baixissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
79. If (RBio is alto) and (dpH is baixissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
80. If (RBio is alto) and (dpH is baixissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is medio) (1)
81. If (RBio is alto) and (dpH is baixa) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
82. If (RBio is alto) and (dpH is baixa) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
83. If (RBio is alto) and (dpH is baixa) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
84. If (RBio is alto) and (dpH is baixa) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
85. If (RBio is alto) and (dpH is baixa) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
86. If (RBio is alto) and (dpH is media) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
87. If (RBio is alto) and (dpH is media) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
88. If (RBio is alto) and (dpH is media) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)

89. If (RBio is alto) and (dpH is media) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
90. If (RBio is alto) and (dpH is media) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
91. If (RBio is alto) and (dpH is alta) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
92. If (RBio is alto) and (dpH is alta) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
93. If (RBio is alto) and (dpH is alta) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)
94. If (RBio is alto) and (dpH is alta) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
95. If (RBio is alto) and (dpH is alta) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
96. If (RBio is alto) and (dpH is altissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
97. If (RBio is alto) and (dpH is altissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is alto) (1)
98. If (RBio is alto) and (dpH is altissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)
99. If (RBio is alto) and (dpH is altissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
100. If (RBio is alto) and (dpH is altissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
101. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
102. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
103. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
104. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is medio) (1)
105. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
106. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
107. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixa) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
108. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixa) and (dTS is media) then (IQBDAM is medio) (1)
109. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixa) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
110. If (RBio is altissimo) and (dpH is baixa) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
111. If (RBio is altissimo) and (dpH is media) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
112. If (RBio is altissimo) and (dpH is media) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is medio) (1)
113. If (RBio is altissimo) and (dpH is media) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)
114. If (RBio is altissimo) and (dpH is media) and (dTS is alta) then (IQBDAM is alto) (1)
115. If (RBio is altissimo) and (dpH is media) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is alto) (1)
116. If (RBio is altissimo) and (dpH is alta) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is medio) (1)
117. If (RBio is altissimo) and (dpH is alta) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is alto) (1)
118. If (RBio is altissimo) and (dpH is alta) and (dTS is media) then (IQBDAM is alto) (1)

- 119. If (RBio is altissimo) and (dpH is alta) and (dTS is alta) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 120. If (RBio is altissimo) and (dpH is alta) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 121. If (RBio is altissimo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixissima) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 122. If (RBio is altissimo) and (dpH is altissima) and (dTS is baixa) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 123. If (RBio is altissimo) and (dpH is altissima) and (dTS is media) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 124. If (RBio is altissimo) and (dpH is altissima) and (dTS is alta) then (IQBDAM is altissimo) (1)
- 125. If (RBio is altissimo) and (dpH is altissima) and (dTS is altissima) then (IQBDAM is altissimo) (1)