

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
Instituto de Ciências Exatas - ICEX
Departamento de Química

Tese de
Doutorado em Química
Área de concentração: Físico-Química

Inteligência artificial aplicada à simulação cinética de processos químicos e metabólicos

Aluno: Geison Voga Pereira
Ingresso: Março de 2007
Orientador: Jadson Cláudio Belchior

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil
28 de Dezembro de 2011

UFMG/ICEx/DQ. 879^a

T. 380^a

Geison Voga Pereira

**Inteligência artificial aplicada à simulação
cinética de processos químicos e metabólicos
Físico-Química**

Tese apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Federal de
Minas Gerais (UFMG) para a obtenção
do grau de Doutor em Química -
Físico-Química.

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil

28 de Dezembro de 2011

P436i
2011
T

Pereira, Geison Voga

Inteligência artificial aplicada à simulação cinética de processos químicos e metabólicos [manuscrito] / Geison Voga Pereira. 2011. [xv], 164 f.: il.

Orientador: Jadson Cláudio Belchior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.

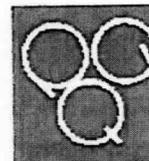
Inclui bibliografia.

1. Físico-química - Teses 2. Inteligência artificial - Teses 3. Cinética química - Teses 4. Modelagem de processos - Teses 5. Lógica difusa - Teses 6. Redes de petri - Teses 7. Sistemas de comando e controle - Teses I. Belchior, Jadson Cláudio, Orientador II. Título.

CDU 043



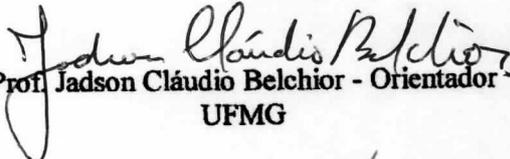
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG
TEL.: 031 - 3409-5732
FAX: 031 - 3409-5711
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br

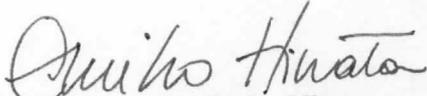


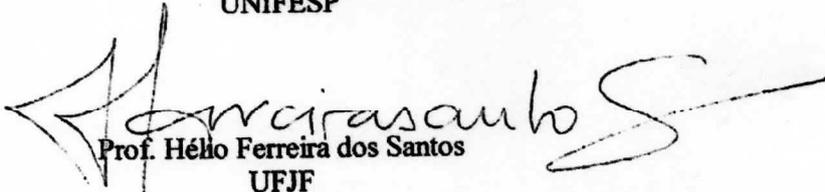
"Inteligência Artificial Aplicada à Simulação Cinética de Processos Químicos e Metabólicos"

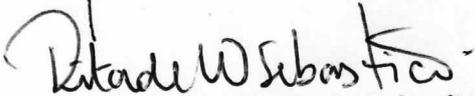
Geison Voga Pereira

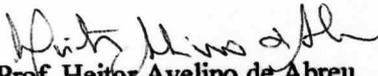
Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Jadson Cláudio Belchior - Orientador
UFMG


Profa. Aparecida Emiko Hirata
UNIFESP


Prof. Hélio Ferreira dos Santos
UFJF


Profa. Rita de Cássia de Oliveira Sebastião
UFMG


Prof. Heitor Avelino de Abreu
UFMG

Belo Horizonte, 28 de dezembro de 2011.

Esta Tese foi realizada sob a orientação
do Prof. Dr. Jadson Cláudio Belchior

*A minha esposa Elis,
e minha filha Milena.*

A sabedoria construiu sua casa;
ergueu suas sete colunas.
Matou animais para a refeição,
preparou seu vinho e arrumou sua mesa.
Enviou suas servas para fazerem convites
deste o ponto mais alto da cidade,
clamando:
"Venham todos os inexperientes!"
Aos que não têm bom senso ela diz:
"Venham comer a minha comida
e beber o vinho que preparei.
Deixem a insensatez,
e vocês terão vida;
andem pelo caminho do entendimento".
Instrua o homem sábio, e
ele será ainda mais sábio;
ensine o homem justo, ele aumentará o seu saber.
"O temor do Senhor é o princípio da sabedoria,
e o conhecimento do Santo é entendimento"

Provérbios 9:1-6 e 9,10

Bíblia. Bíblia Sagrada: Nova Versão Internacional/ [Traduzida pela Comissão de Tradução da Sociedade Bíblica Internacional]. - São Paulo, 2000.

Agradecimentos

Em primeiro lugar eu agradeço a Deus que tornou possível a realização de mais um grande sonho e por ter me dado força nos momentos mais difíceis destes últimos quatro anos. Agradeço a minha amada e maravilhosa esposa Elis que demonstrou o seu apoio e paciência. Destaco também a sua intensa colaboração para conclusão deste trabalho. Agradeço a minha filha Milena, que desenhou varias redes de Petri para me ajudar, todas muito coloridas. Agradeço aos meus pais pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Ao professor Jadson pela sua orientação e credibilidade. Agradeço também aos colegas do LDAM e ao amigo do laboratório Júlio por estar sempre disposto a ajudar, enriquecendo as discussões e compartilhando idéias. Aos professores, secretárias da Pós-graduação e funcionários do Departamento de Química. À banca examinadora, pela atenção e sugestões. Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Sumário

Lista de Tabelas	x
Lista de Figuras	xi
Resumo	xiv
Abstract	xv
1 Introdução	1
1.1 Introdução e objetivos	1
1.2 Estrutura e organização deste trabalho	4
I Desenvolvimento teórico	7
2 Algoritmos Genéticos	8
2.1 Introdução	8
2.2 Teoria geral dos algoritmos genéticos	10
2.3 Histórico da lógica Fuzzy	11
2.4 Teoria geral da lógica fuzzy	13
3 Redes de Petri	20
3.1 Histórico	20
3.2 Noções fundamentais	22
3.2.1 Conceitos utilizados na modelagem	22
3.2.2 Comportamento Dinâmico	23
3.3 Conceitos das Redes de Petri	24
3.3.1 Rede de Petri	24
3.3.2 Grafo associado e o formalismo matricial das redes de Petri	26
3.3.3 Rede de Petri pura	28
3.3.4 Transição sensibilizada	28

3.3.5	Conflito e paralelismo	30
3.4	Redes de Petri e sistemas de regras	32
3.5	Modelagem com redes de Petri	33
3.6	Classes de redes de Petri	34
3.6.1	Redes de Petri de alto nível	35
3.7	Redes de Petri temporizadas	39
3.7.1	Redes de Petri temporizadas determinísticas	39
3.7.2	Redes de Petri estocásticas e Redes de Petri Estocásticas Generalizadas	41
3.7.3	Redes de Petri funcionais	42
3.8	Considerações Gerais	43
4	Cinética química	45
4.1	Introdução	45
4.2	Velocidade de reação	46
4.3	Leis de velocidade e constantes de velocidade	47
4.4	Leis de velocidade integradas	49
4.4.1	Reações de primeira ordem	50
4.4.2	Reação de segunda ordem	51
4.5	Cinética enzimática - O modelo de Michaelis-Menten	52
4.5.1	Equação de Michaelis-Menten	55
4.5.2	Parâmetros cinéticos e atividade enzimática	57
4.6	A dependência das velocidades de reação em relação à temperatura	60
4.6.1	Interpretação dos parâmetros de Arrhenius	63
II	Implementação e resultados	66
5	Determinação de rotas químicas	67
5.1	Sistema de simulação e determinação de rotas químicas e/ou metabólicas	67
5.1.1	Sistema de simulação cinética	68
5.2	Sistema de otimização	71
5.2.1	Codificação binária e real	73
5.2.2	Função de aptidão <i>Fitness</i>	75
5.2.3	Sistema de classificação	78
5.2.4	Operadores genéticos	79
5.2.4.1	Operador Predador	80
5.2.4.2	Operador Habitat	81
5.2.4.3	Operador Imigração	82
5.2.4.4	Operador Crossover	84
5.2.4.5	Operador Mutação	87
5.2.5	Convergência do AG	89
5.3	Exemplo de simulação cinética e parametrização de constantes cinéticas	89

6	Determinação de parâmetros cinéticos	94
6.1	Introdução	94
6.2	Preparação do material semiconductor	95
6.3	Modelamento teórico	96
6.4	Resultados e discussões	103
6.5	Conclusão	116
7	Determinação e Simulação de rotas metabólicas	117
7.1	Modelo cinético	117
7.2	Biosíntese do ácido fosfatídico	118
7.3	Ciclo do ácido cítrico	129
7.4	Conclusão	139
A	Cluster computacional	140
A.1	Introdução	140
A.2	Cluster Beowulf	141
A.3	Estrutura Física	143
A.4	Configuração do cluster	144
A.5	Programação paralela	147
A.5.1	Alocação e encerramento de processos	148
A.5.2	Realocação dinâmica de processos	149
A.5.3	Vantagens do sistema de alocação de processos	150
A	Publicações	152
A.1	Artigos	152
A.2	Patentes depositadas	153

Lista de Tabelas

2.1	Equações das principais funções de pertinência	16
2.2	Principais operadores t-norma e s-norma	19
6.1	Espaço de busca dos parâmetros cinéticos e da função fuzzy (Eq. 6-11)	101
6.2	Variação de massa para as curvas S15 e S30	112
7.1	Reações catalisadas para a biosíntese do 1,2-diácilglicerol 3-fosfato	121
7.2	Constantes cinéticas otimizadas	126
7.3	Concentração dos substratos definidos no ciclo do ácido cítrico (Fig 7.9)	132
A.1	Determinação dos nomes das máquinas do cluster e dos respectivos IPs	145

Lista de Figuras

2.1	Estrutura geral de um Algoritmo Genético.	10
2.2	(A) Função característica do conjunto "crisp" adolescente. B) Função trapezoidal característica do conjunto fuzzy adolescente.	14
2.3	Principais funções de pertinência.	15
2.4	Núcleo, Suporte, altura e o α -corte de nível 0,5 do conjunto fuzzy A	17
2.5	Esboço das principais t-normas.	19
2.6	Esboço das principais s-normas.	19
3.1	Componentes estruturais de uma rede de Petri. L_1, L_2, L_3 representam os lugares da rede e t_1 corresponde a transição.	23
3.2	Comportamento dinâmico de uma rede de Petri. As fichas nos lugares L_1 e L_2 são consumidas para gerar a ficha no lugar L_3	25
3.3	Exemplo de rede de Petri com 3 lugares e 4 transições.	27
3.4	Rede de Petri impura devido a transição t_5 estar conectada ao lugar p_3 para entrada e saída de fichas.	29
3.5	Rede de Petri com peso associados aos arcos, marcada e com a respectiva interpretação.	34
3.6	Exemplo de Rede de Petri Colorida. Cada arco especifica o tipo de ficha retirada ou adicionada ao lugar que o arco esta conectado.	38
3.7	Exemplo de Rede de Petri com as transições t_1 e t_2 temporizadas.	41
4.1	Comportamento da velocidade de uma reação catalisada por enzima de acordo com a variação da concentração do substrato.	54
4.2	Forma geral do gráfico da Eq. de Arrhenius (Eq. 4-44)	61
4.3	Perfil de energia potencial para uma reação exotérmica e energia de ativação (E_a	64
5.1	Estrutura do sistema computacional implementado que utiliza redes de Petri para simulação de processos cinéticos e o algoritmo genético para otimização do comportamento cinético.	68
5.2	Modelo de rede de Petri para um processo biocatalítico com dois substratos e um produto.	70
5.3	Estrutura geral do algoritmo genético implementado.	72

5.4	Exemplo de critério de definição da penalidade L .	78
5.5	Função de pertinência para o operador predador.	81
5.6	Função de pertinência para o operador habitat.	83
5.7	Função de pertinência para o operador imigração.	84
5.8	Operador crossover de ponto simples.	85
5.9	Operador crossover de ponto duplo.	85
5.10	Operador crossover uniforme.	85
5.11	Ilustração da área de geração de filhos para os operadores crossover em um espaço (x, y) .	86
5.12	Função de pertinência para o operador crossover.	87
5.13	Operador mutação.	88
5.14	Função de pertinência para o operador mutação.	88
5.15	Rota metabólica hipotética para demonstração do processo de simulação e otimização.	90
5.16	Dados de referência para a rede hipotética (Fig. 5.17).	91
5.17	Modelo de rede de Petri para a rota metabólica hipotética (Fig. 5.15).	92
6.1	Rede de Petri para simulação das reações 6-2 e 6-3.	97
6.2	Rede de Petri implementada para a simulação da decomposição da mistura $TiO_2/Sn(Org)$.	99
6.3	Rede de Petri para simulação das reações 6-2 e 6-3.	103
6.4	Curvas termogravimétricas experimentais para as amostras TS0, TS15 e TS30.	104
6.5	Curvas termogravimétricas para as amostras S15 e S30.	105
6.6	Evolução dos parâmetros cinéticos: (a) ordem de reação n ; (b) fator pré-exponencial A , (c) energia de ativação E_a e (d) constante cinética (k) para as curvas TG TS0 (círculo aberto), TS15 (asterisco) e TS30 (quadrado aberto).	110
6.7	Ordem de reação semi-inteira para a curva TG TS30.	111
6.8	Evolução dos parâmetros cinéticos: (a) ordem de reação n ; (b) fator pré-exponencial A , (c) energia de ativação E_a e (d) constante cinética (k) para as curvas TG S15 (círculo aberto) e S30 (triângulo aberto).	115
7.1	Ácido fosfatídico.	119
7.2	Rota metabólica para síntese do 1,2-diacilglicerol 3-fosfato.	120
7.3	Dados de referência [47] para o perfil de concentração para os substratos da rota descrita na Fig. 7.2.	121
7.4	Rota metabólica e perfil de concentração gerado pelo melhor indivíduo da geração 100.	123
7.5	Rota metabólica e perfil de concentração gerado pelo melhor indivíduo da geração 200.	124
7.6	Perfil de concentração definido pela melhor classe da população na geração 523.	125
7.7	Rede de Petri definida como solução para o processo de otimização da rota da Fig 7.2.	126
7.8	Perfil de concentração simulado a partir da rota otimizada (Fig 7.7).	128
7.9	Ciclo do ácido cítrico (Ref. [1]).	130

7.10	Evolução temporal dos substratos do ciclo do ácido cítrico.	134
7.11	Perfil de concentração para os compostos NAD ⁺ e NADH.	135
7.12	Perfil de concentração para os compostos GDP e GTP.. . . .	135
7.13	Perfil de concentração para os compostos FAD e FADH ₂	136
7.14	Formação de CO ₂ liberado durante o ciclo do ácido cítrico.	137
7.15	Formação de NADH, FADH ₂ e GTP a partir de precursores com concentração fisiológica constante.	138
A.1	Estrutura do cluster computacional.	144
A.2	Rede de Petri que define o sistema de alocação e encerramento de processos.	149

Inteligência artificial aplicada à simulação cinética de processos químicos e metabólicos

Autor: Geison Voga Pereira

Orientador: Prof. Dr. Jadson Cláudio Belchior

Resumo

A simulação cinética de processos químicos e metabólicos contribui para o entendimento dos mecanismos de reações presentes em diversos sistemas químicos ou bioquímicos. Pois auxilia na determinação de alterações causadas pela inclusão de substâncias diferentes, mas com atividade biológica, como pode ocorrer com compostos farmacológicos ou compostos tóxicos. Fundamentalmente, a presente tese de doutorado consiste em desenvolver e aplicar técnicas computacionais de inteligência artificial, tais como: algoritmos genéticos e lógica fuzzy acoplados a técnica de simulação de sistema dinâmicos denominada redes de Petri. Neste trabalho o sistema inteligente foi aplicado em duas situações diferentes. A primeira aplicação corresponde à determinação dos parâmetros de Arrhenius (energia de ativação e fator pré-exponencial) para um processo de síntese de materiais semicondutores. Neste caso, o sistema inteligente utilizou dados de curvas termogravimétricas como base de referência para o processo de síntese de semicondutores constituídos de $\text{TiO}_2\text{-SnO}_2$. Os resultados demonstraram o comportamento cinético das etapas do processo químico através da determinação dos parâmetros de Arrhenius como funções da temperatura. A segunda aplicação corresponde à determinação e parametrização de rotas metabólicas através de dados de concentração por tempo, gerados experimentalmente ou a partir de outros modelos cinéticos. A otimização da estrutura da rede de Petri pode ser diretamente relacionada com a evolução da rota metabólica. Neste trabalho foram utilizados dois sistemas biológicos, sendo que a primeira rota corresponde a síntese do 1,2-diacilglicerol que é constituída por 4 reações. O segundo sistema biológico, o ciclo do ácido cítrico, apresenta uma complexidade mais elevada, pois contém 21 reações acopladas. Para cada reação dos sistemas biológicos foram obtidos os dados de concentração de cada espécie com um erro relativo médio de 1% e as respectivas constantes cinéticas.

Palavras chave: simulação cinética, rota química, inteligência artificial.

Inteligência artificial aplicada à simulação cinética de processos químicos e metabólicos

Autor: Geison Voga Pereira

Orientador: Prof. Dr. Jadson Cláudio Belchior

Abstract

The kinetic simulation of chemical and metabolic processes can contribute for the understanding of several reactions that are present in all chemical and biochemical processes and hence, one can propose the corresponding mechanisms of such systems. All these processes can contribute, in principle, in determining modifications due to different compounds that also have biological activity, for instance, drugs or toxic substances. Accordingly, the present thesis will deal with the development and applications of computational artificial intelligence (AI) techniques such as genetic algorithms (GA) and fuzzy logic (FL) both coupled to Petri Nets. The proposed approach will be tested to study chemical and metabolic processes. In order to analyze this AI methodology for studying metabolic systems two different applications will be used. The first case corresponds to the determination of Arrhenius parameters (activation energy and pre exponential factor) for the process of semiconductors systems. Thermogravimetric experimental data will be used as the input data and $\text{TiO}_2\text{-SnO}_2$ system was used. The results demonstrated an efficient approach to determine the kinetic behavior of the whole chemical process and this produces a procedure to obtain the Arrhenius parameters as a function of temperature. The second application corresponds to the determination and parametrization of metabolic routes using as the input data either experimental or modeling data of species concentrations as a function of time. As demonstrated the Petri Nets are directly correlated to the time evolution of all simultaneous reactions of a specified system. In the present case two biological systems were used namely, 1,2-diacilglycerol, in which there are 4 coupled reactions, and another one more complex, the citric acid cycle, that there are 21 coupled reactions. The results in this particular case (constant temperature) were: all routes of both biochemistry processes, the final product concentrations of all species and the corresponding kinetic constants. The relative average error of both cases is of the order of 1%.

Keywords: kinetic simulation, chemical or biochemical routes, artificial intelligence.

Capítulo 1

Introdução

1.1 Introdução e objetivos

A simulação cinética de processos químicos e metabólicos contribui para o entendimento dos mecanismos de reações presentes em diversos sistemas e auxilia na determinação de alterações causadas pela inclusão de substâncias diferentes, mas com atividade biológica, como pode ocorrer com compostos farmacológicos ou compostos tóxicos. Fundamentalmente, a presente tese de doutorado consiste em desenvolver e aplicar técnicas computacionais de inteligência artificial para a formulação de sistemas de simulação cinética de rotas químicas e metabólicas.

Para o desenvolvimento do objetivo principal do presente trabalho foram utilizadas técnicas de inteligência artificial, tais como algoritmos genéticos (sigla em inglês *GA*) e lógica fuzzy. Os algoritmos genéticos correspondem à abstração matemática do processo de evolução das espécies biológicas, baseado principalmente na teoria da evolução de Charles Darwin [2]. A lógica fuzzy compreende a construção de sistemas de automação e controle que são baseados em descrições relacionadas a imprecisão da informação [3]. Estas duas técnicas computacionais foram acopladas em um sistema de otimização mais robusto. Neste sistema, o processo de otimização executado pelo algoritmo genético é conduzido por uma série de controladores fuzzy, que

potencializam o processo de busca de cada operador genético de acordo com o estado de evolução das respostas geradas pelo AG.

O objetivo principal do sistema de otimização é determinar as possíveis rotas de reações em sistema químicos ou bioquímicos. Neste caso, faz-se necessário a utilização de uma técnica de simulação para sistemas dinâmicos. Estes sistemas podem ser simulados a partir de conjuntos de equações diferenciais, entretanto se as equações apresentarem termos cruzados, as soluções podem apresentar uma elevada complexidade matemática, como ocorre em processos cinéticos que apresentam múltiplas reações em série e/ou paralelas [4–6]. Para substituir os sistemas de equações diferenciais, foi utilizada a técnica de simulação para máquinas de estados finitos, redes de Petri. A partir desta ferramenta computacional é possível simular diversas séries de eventos discretos ou contínuos descritos por funções matemáticas ou algoritmos de controle e tomada de decisão [7]. A simulação por meio das redes de Petri pode ser associada a evolução temporal do sistema químico, sendo que para cada instante de tempo à configuração, ou estado da rede corresponde a composição do sistema reacional. Ainda relacionado ao sistema de simulação dinâmica, a lógica fuzzy pode também ser acoplada às redes de Petri. Neste sistema de simulação híbrido a informação analisada é descrita com um grau de imprecisão, que pode ser ajustado ao erro experimental. Assim o sistema de simulação expande o seu potencial de aplicação, podendo analisar diversas propriedades que refletem o comportamento cinético do processo químico global.

Para o desenvolvimento do presente trabalho foram definidas as seguintes diretrizes, como objetivos:

1. Desenvolvimento do sistema de otimização para determinação de estruturas e parametrização de funções matemáticas;
2. Desenvolvimento de ferramentas computacionais para viabilização dos procedimentos de otimização e simulação;

3. Desenvolvimento de sistemas de simulação dinâmica;
4. Aquisição de dados relativos às constantes cinéticas e perfil de composições durante a evolução de rotas químicas;
5. Otimização e simulação de rotas químicas e parametrização de modelos cinéticos.

Todos estes objetivos exigiram um criterioso desenvolvimento teórico, e um processo de busca exaustiva para a obtenção de dados cinéticos de referência relacionados principalmente às rotas bioquímicas. A simulação dos processos bioquímicos corresponde ao principal objetivo deste trabalho, visto a complexidade dos processos metabólicos e as possibilidades de desenvolvimento técnico-científicas a partir do conhecimento relacionado a uma descrição completa do comportamento cinético de uma rota bioquímicas. Durante o processo de busca por dados de referência foi verificado que a base de dados cinéticos (Brenda [8] e KEGG [1]) contém informações incompletas para a maior parte dos organismos catalogados, sendo que os organismos com maior descrição correspondem a alguns poucos microorganismos, desta forma o microorganismo *Escherichia coli* foi selecionado, para validação da metodologia proposta e por apresentar rotas metabólicas totalmente descritas. Para o estudo de parametrização de constantes cinéticas a busca de dados de referência envolveu a obtenção de descrições apresentadas de forma subjetiva em diversos trabalhos pesquisados. Para a bases de dados bioquímicos foram utilizados os seguintes bancos de dados: PDB [9], SWISS-PROT [10], KEGG [1] e Entrez [11] e BRENDA [8]. Dentre estes, o banco de dados BRENDA corresponde a maior base de dados cinéticos para enzimas, seguido pelo banco KEGG que relaciona as reações catalisadas e parâmetros cinéticos. Os demais bancos de dados foram utilizados como suporte para a busca de artigos relacionados às informações complementares descritas nos artigos dos bancos de dados BRENDA e KEGG.

A implementação do sistema de otimização e simulação exigiu o desenvolvimento de algoritmos eficientes, incluindo um sistema de distribuição de processos paralelos, que apesar de não fazer parte da lista de objetivos desta tese, foi de fundamental importância para a obtenção de resultados relevantes, visto que a busca por bases de dados consumiu quase um quarto do tempo de desenvolvimento desta tese.

1.2 Estrutura e organização deste trabalho

O desenvolvimento teórico e a discussão dos resultados estão organizados em 7 capítulos, agrupados em duas partes: a primeira parte descreve o desenvolvimento teórico para a implementação do sistema de otimização e simulação dos processos cinéticos. A segunda parte contém a descrição da teoria desenvolvida para sistema de simulação, assim como para o sistema de otimização, nesta parte estão inseridos os resultados gerados a partir da aplicação do sistema implementado.

O Capítulo 2 compreende uma breve descrição da teoria dos algoritmos genéticos e da lógica fuzzy, sendo que os conceitos detalhados serão discutidos no Capítulo 5.

O Capítulo 3 contém os conceitos da teoria das redes de Petri. Neste capítulo, são apresentados os formalismos matemáticos e a representação gráfica das redes de Petri, sendo este ponto de fundamental importância para correlação entre as redes de Petri e os processos de simulação cinética. A teoria das redes de Petri são de fundamental importância para o desenvolvimento dos objetivos desta tese, pois estas apresentam um formalismo matemático adequado para a construção de sistemas dinâmicos envolvendo por exemplo a evolução temporal dos componentes descritos na própria rede de Petri.

No Capítulo 4 é apresentada uma breve descrição da teoria cinética química com foco na descrição dos principais modelos de leis de velocidade

utilizados neste trabalho. Assim como a descrição geral para a dependência do comportamento cinético em função da temperatura.

No Capítulo 5 é descrita a teoria desenvolvida para o sistema de simulação cinética e a teoria do sistema de otimização. Neste mesmo capítulo estão descritos de forma detalhada os controladores fuzzy utilizados no processo de controle dos operadores genéticos e o acoplamento das redes de Petri como modelo de simulação cinética de processos químicos diversos.

O Capítulo 6 corresponde a apresentação dos resultados para a primeira aplicação do sistema implementado envolvendo principalmente a determinação de parâmetros cinéticos dependentes da temperatura. Neste capítulo, os parâmetros de Arrhenius são determinados para um processo de formação de compostos semicondutores constituídos por TiO_2 e SnO_2 . Os resultados apresentados foram obtidos em parceria com o Laboratório do Prof Geraldo Magela de Lima (Departamento de química-ICEEx). Os resultados desta parte se destacam pela inovação físico-química em apresentar os parâmetros de Arrhenius como funções da temperatura, e não como constantes, como normalmente é encontrado na literatura. Os resultados deste Capítulo consolidaram o sistema implementado como uma ferramenta computacional eficaz na otimização de processos cinéticos em temperaturas constantes ou variadas em uma ampla faixa de aplicações químicas e bioquímicas, .

No Capítulo 7 estão apresentados os resultados para determinação das rotas metabólicas. Nesta aplicação destaca-se a versatilidade da adaptação do sistema implementado. Embora todas as constantes cinéticas sejam descritas na literatura consultada, a descrição da composição dos sistemas biológicos encontra-se fragmentada, sendo que apenas alguns substratos são descritos em análises cinéticas através de dados relacionados a evolução temporal da concentração pelo tempo. Desta forma o sistema de otimização utilizou uma base de referência incompleta que foi construída a partir de diversas fontes de consulta tais como bancos de dados e artigos científicos. Embora a base

de dados seja incompleta, o acoplamento intrínseco das reações que formam uma rota metabólica possibilitam ao sistema computacional implementado à determinação da rota reacional e os respectivos parâmetros cinéticos adequados às reações envolvidas.

Parte I

Desenvolvimento teórico

Capítulo 2

Algoritmos Genéticos

2.1 Introdução

Os Algoritmos Genéticos (AG) são técnicas de otimização multidimensionais e estocásticas, inspiradas em mecanismos de seleção natural e fundamentos de genética. Os algoritmos genéticos foram criados com o intuito de simular alguns processos observados nas populações de espécies envolvendo evolução natural [12].

O processo de evolução envolve modificações nas informações genéticas dos seres vivos. A evolução ocorre, portanto, nos genes, que são os elementos orgânicos responsáveis pelas codificações genéticas dos seres vivos [2]. As principais características da teoria evolucionária são [2, 13, 14]:

1. A seleção natural é um processo que atua sobre os indivíduos de acordo com a aptidão que estes apresentam no ambiente;
2. A seleção natural é o elo entre os genes e o desempenho das suas estruturas decodificadas. O processo de seleção natural faz com que os genes, que codificam características que tornam os indivíduos melhor adaptados, sejam reproduzidas mais vezes e com maior probabilidade que as estruturas mal sucedidas;
3. O processo de reprodução é o ponto onde a evolução acontece. Mutações

podem provocar mudanças nos cromossomos dos filhos, fazendo com que eles sejam diferentes dos padrões genéticos dos seus pais;

4. A evolução biológica não tem memória, ou seja, toda a informação sobre como produzir indivíduos bem adaptados ao meio ambiente está contida no seu genoma, conjunto de genes carregados pelos indivíduos da população atual.

No começo da década de 70, John Holland, pesquisava as características da evolução natural, considerando que estas poderiam ser adequadamente incorporadas a algoritmos computacionais dedicados a solucionar problemas complexos de forma semelhante à natureza, ou seja, utilizando a evolução natural [2, 12].

Baseado em premissas que descrevem a teoria da evolução natural, foram criados conceitos computacionais análogos aos existentes no processo natural. Os cromossomos podem ser representados por conjuntos binários de números ou símbolos (strings ou cadeias) contendo 0 e 1. Realizando uma simulação do processo natural, os primeiros algoritmos genéticos resolviam problemas através da manipulação de strings binários, encontrando os cromossomos que melhor representavam a solução do problema através de um mecanismo de transcrição da informação genética [12].

Outro ponto interessante na técnica desenvolvida por Holland, refere-se à natureza dos cromossomos artificiais que não têm conhecimento algum referente ao tipo de problema que estão resolvendo. A única informação disponível é uma avaliação de cada cromossomo produzido. O objetivo desta avaliação é verificar quais são os cromossomos (conjunto de genes) que produzem soluções mais adequadas. Esta definição do grau de adaptação reflete-se no aumento das chances de seleção dos cromossomos para reprodução e formação da geração posterior [2].

2.2 Teoria geral dos algoritmos genéticos

Os algoritmos genéticos têm sido cada vez mais explorados na solução de problemas envolvendo buscas e otimizações, principalmente pela robustez e simplicidade que oferecem [15–17].

Na metodologia AG, cada resposta presente no espaço de busca do problema é considerada como um indivíduo, e é representada por uma cadeia de caracteres (cromossomo) formada por símbolos, bits ou números. A execução generalizada de um AG inicia-se com uma população inicial (Fig. 2.1) de indivíduos, esta é a primeira geração (ciclo) do AG. A população sofre

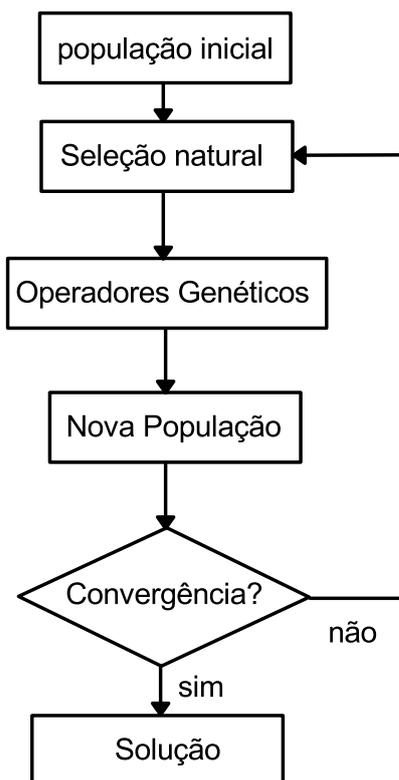


Figura 2.1: Estrutura geral de um Algoritmo Genético.

modificações a partir da aplicação dos operadores genéticos, dando origem a novas gerações de indivíduos. O processo seletivo, denominado por Darwin

como pressão seletiva, é exercido pelo ambiente, enquanto que, na técnica de AG o processo de seleção é realizado com base nos valores da função aptidão (ou *fitness*), que avalia a adaptabilidade de cada indivíduo da população. A partir da evolução do sistema em várias gerações, a população inicial evolui para uma população de indivíduos mais aptos, que podem representar a solução para o problema estudado [2, 13]. Os principais operadores genéticos são [13, 14]:

Crossover ou Cruzamento que gera novos indivíduos a partir da troca de informações genéticas entre indivíduos,

Mutação corresponde a alterações aleatórias do código genético de um indivíduo.

O algoritmo genético é executado até que ocorra uma condição de parada, como por exemplo o esgotamento do tempo de execução, ou a minimização do erro da população.

2.3 Histórico da lógica Fuzzy

Ao longo da história humana muitos se dedicaram ao estudo da lógica. Aristóteles, filósofo grego (384 - 322 A.C.) e um dos fundadores da ciência da lógica, estabeleceu um conjunto de regras rígidas para obter conclusões válidas em termos lógicos. A lógica de Aristóteles leva a uma linha de raciocínio baseada em premissas e conclusões, como por exemplo, "Todo ser vivo é mortal" (premissa 1), a seguir é constatado " Cachorro é um ser vivo" (premissa 2), como conclusão, temos que "Cachorro é mortal" [3, 18].

A lógica de Aristóteles proporcionou a criação de um conceito de lógica Ocidental binária, conhecida normalmente como lógica clássica, baseada unicamente em declarações falsas ou verdadeiras, não podendo existir afirmações que sejam parcialmente verdadeiras ou parcialmente falsas. Dessa

forma, a afirmação de uma premissa e a sua negação cobre todo o espaço de decisão [3, 18].

O conceito formal de conjunto nebuloso (fuzzy) e os fundamentos da Lógica Difusa foram desenvolvidos por Lotfi A. Zadeh [3, 19] em 1965, a partir da lógica de Lukasiewicz [3]. O desenvolvimento da lógica fuzzy foi impulsionado pelo fato de que os recursos tecnológicos disponíveis na época eram incapazes de automatizar as atividades relacionadas a problemas de natureza industrial, biológica ou química, que compreendessem situações ambíguas e que não eram passíveis de processamento através da lógica computacional a qual é fundamentada na lógica booleana [18, 20, 21].

A teoria dos conjuntos nebulosos tem a capacidade de tratar a imprecisão ou incerteza da informação. A lógica fuzzy corresponde a uma formulação mais geral para as questões lógicas, possibilitando valores de certeza intermediários aos definidos pela lógica binária (0 ou 1, sim ou não). A lógica nebulosa é, portanto, menos restritiva e mais adequada para o tratamento de informações fornecidas por seres humanos.

A lógica fuzzy é atualmente uma tecnologia eficiente e amplamente usada em diversas áreas do conhecimento para o desenvolvimento de sistemas de controle de processos sofisticados [20, 22, 23], possibilitando a implementação de controladores simples e de fácil manutenção para processos que necessitam de múltiplas soluções, com grau de certeza variado. Entretanto, particularmente em química, pouco se tem utilizado dessa ferramenta computacional, cuja eficiência está em permitir programações de inteligência artificial. O uso de sistemas construídos com base na lógica fuzzy são denominados controladores nebulosos ou fuzzy, os quais são perfeitamente aplicáveis em problemas onde o modelo matemático está sujeito a incertezas, [3, 19].

Algumas aplicações para os controladores fuzzy podem ser citadas com maior destaque, como por exemplo, o controle de um forno de cimento, seguido

posteriormente por outros controladores desenvolvidos para plantas nucleares, refinarias, processos bioquímicos, tratamento de água, operação automática de trens [3]. Nesta tese será apresentada a aplicação da lógica fuzzy no controle do sistema de otimização.

2.4 Teoria geral da lógica fuzzy

A Lógica fuzzy corresponde a uma aplicação da teoria dos conjuntos nebulosos. Na matemática clássica define-se um conjunto como uma coleção de elementos distintos que podem ser finitos ou não. Este conjunto pode ser descrito de várias maneiras, entre as quais, destacam-se: a enumeração de cada um de seus elementos ($A = 1, 2, 3, 4$), ou uma condição de pertinência ($A = x|x \leq 5$) [3].

Formalmente, um conjunto fuzzy A do universo de discurso é definido por uma função de pertinência $\mu_A(x) : \rightarrow [0, 1]$. Essa função associa a cada elemento x do universo (Ω) um grau $\mu_A(x)$, sendo que $x \in A$ [3]. A função de pertinência $\mu_A(x)$ apresenta valores entre 0 e 1 e define o grau de compatibilidade entre x e o conceito expresso por A :

- se $\mu_A(x) = 1$, x é completamente compatível com o conceito A , ou seja completamente verdadeiro [3, 20];
- se $\mu_A(x) = 0$, x é completamente incompatível com o conceito A , ou seja completamente falso [3, 20]
- se $0 < \mu_A(x) < 1$, x é parcialmente compatível com o conceito A de acordo com o grau de $\mu_A(x)$ [3, 20]

Um conjunto A da teoria dos conjuntos clássicos pode ser visto como um conjunto nebuloso específico, como sendo $\mu_A : \Omega \rightarrow \{0, 1\}$ e denominado conjunto "crisp", ou seja, a função de pertinência é do tipo "tudo ou nada",

"sim ou não", 1 ou 0. A diferença entre a lógica clássica e a lógica nebulosa pode ser visualizada na Fig. 2.2, que descreve respectivamente o conceito de adolescente através de um conjunto "crisp" (gráfico A) e através de um conjunto fuzzy (gráfico B).

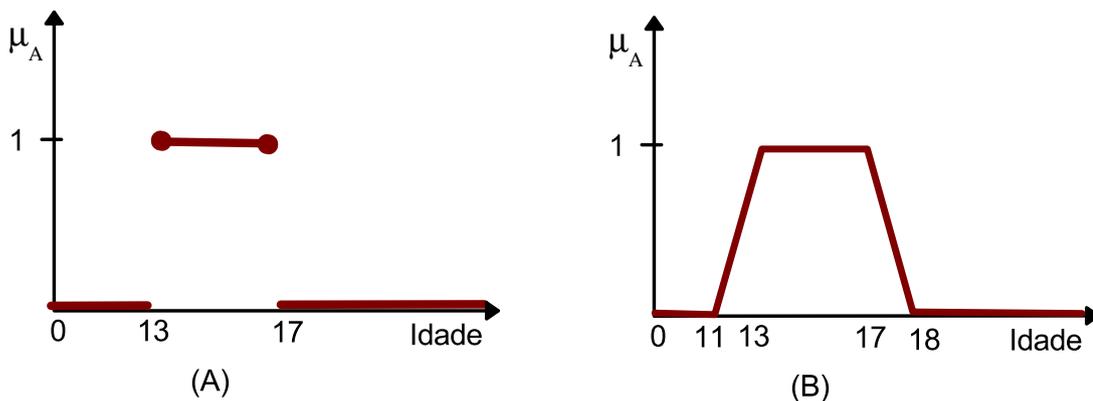


Figura 2.2: (A) Função característica do conjunto "crisp" adolescente. B) Função trapezoidal característica do conjunto fuzzy adolescente.

O conjunto "crisp" (Fig. 2.2A) *A* não exprime completamente o conceito de "adolescente", pois uma pessoa com 12 anos e 11 meses seria considerada completamente incompatível com este conceito. Entretanto o conjunto nebuloso *B* (Fig. 2.2B) permite exprimir que qualquer pessoa com idade entre 13 e 17 é completamente compatível com o conjunto adolescente. Acima de 19 ou abaixo de 11 não existe compatibilidade. Para valores nos intervalos [11 a 13] e [17 a 18] a compatibilidade é parcial. Algumas funções de pertinência aplicadas com maior frequência em estudos e desenvolvimentos de lógica nebulosa são ilustradas na Fig. 2.3 com as correspondentes equações contidas na Tab 2.1 [3, 22, 23].

Algumas propriedades e conceitos dos conjuntos nebulosos são mostrados graficamente na Fig. 2.4. Os casos extremos do conjunto nebuloso que apresentam total compatibilidade com o conceito expresso por *A* formam o subconjunto nebuloso núcleo, denotado por $N\mu(A)$, e definido

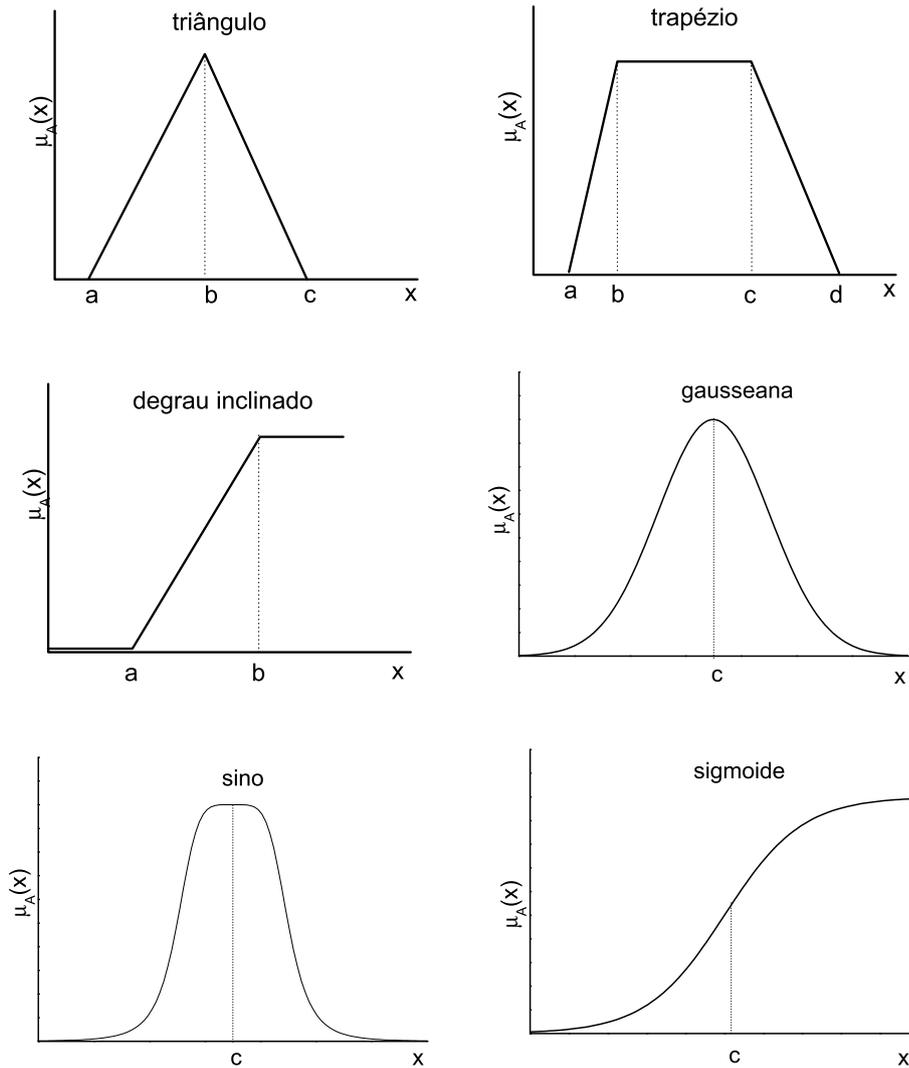


Figura 2.3: Principais funções de pertinência.

matematicamente pela Eq. 2-1:

$$N\mu(A) = \{e \in \Omega | \mu_A(x) = 1\} \quad (2-1)$$

Outra definição importante corresponde ao suporte, $S\mu(A)$, que agrupa todos os elementos que são totalmente ou parcialmente compatíveis com o conceito de A . Matematicamente o suporte corresponde a todos os elementos que apresentam $\mu_A(x) > 0$, como descrito pela Eq. 2-2:

$$S\mu(A) = \{e \in \Omega | \mu_A(x) > 0\} \quad (2-2)$$

A partir da definição de um valor no intervalo aberto $(0,1)$, é possível

Tabela 2.1: Equações das principais funções de pertinência

Nome	Equação	Constantes
triângulo	$triângulo(x; a, b, c) = \begin{cases} 0, & x \leq a \\ \frac{x-a}{b-a} & a \leq x \leq b \\ \frac{c-x}{c-b} & b \leq x \leq c \\ 0 & c \leq x \end{cases}$ <p style="text-align: center;">ou</p> $triângulo(x; a, b, c) = \max \left(\min \left(\frac{x-a}{b-a}, \frac{c-x}{c-b} \right), 0 \right)$	a , b e c são as coordenadas (x) do triângulo
trapézio	$trapézio(x; a, b, c, d) = \begin{cases} 0, & x \leq a \\ \frac{x-a}{b-a} & a \leq x \leq b \\ 1, & b \leq x \leq c \\ \frac{d-x}{d-c} & c \leq x \leq d \\ 0, & d \leq x \end{cases}$ <p style="text-align: center;">ou</p> $trapézio(x; a, b, c, d) = \max \left(\min \left(\frac{x-a}{b-a}, 1, \frac{d-x}{d-c} \right), 0 \right)$	a , b , c , e d são as coordenadas (x) do trapézio
degrau inclinado	$degrau(x; a, b) = \begin{cases} 0, & x \leq a \\ \frac{x-a}{b-a}, & a \leq x \leq b \\ 1, & b \leq x \end{cases}$ $degrau(x; a, b) = \max \left(0, \min \left(\frac{x-a}{b-a}, 1 \right) \right)$	a e b são as coordenadas (x) dos vertices do degrau
gaussiana	$gaussiana(x; a, c) = e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{x-c}{\sigma} \right)^2}$	c corresponde ao centro da gaussiana, e σ controla a largura da curva
sino	$sino(x; a, b, c) = \frac{1}{1 + \left \frac{x-c}{a} \right ^{2b}}$	constantes
sigmoide	$sigmoide(x; a, c) = \left(\frac{1}{1 + e^{(-a(x-c))}} \right)$	a controla a inclinação da curva e c controla o ponto $C\alpha = 0.5$

obter conjuntos intermediários entre o núcleo e o suporte. Estes subconjuntos, denotados por C_α (Fig. 2.4) são definidos pela Eq. 2-3 são denominados de cortes de nível ou cortes- α , para a Fig. 2.4 o corte- α é realizado em 0.5:

$$C_\alpha(A) = \{e \in \Omega | \mu_A(x) > \alpha\} \quad (2-3)$$

A altura do conjunto A , (Eq. 2-4) representa o maior grau de compatibilidade dos elementos de Ω em relação ao conceito expresso por A . Se a altura máxima for igual a 1, o conjunto é classificado como normalizado.

$$Altura(A) = \max(\mu_A(X)) \quad (2-4)$$

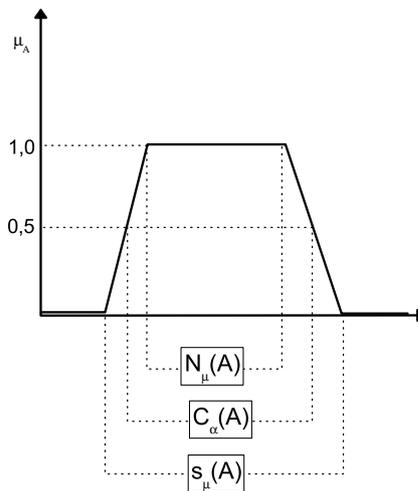


Figura 2.4: Núcleo, Suporte, altura e o α -corte de nível 0,5 do conjunto fuzzy A .

Para desenvolver os conceitos relacionados às operações de interseção, união e complemento de conjuntos nebulosos, considere os conjuntos A e B definidos no universo Ω . A interseção dos conjuntos A e B pode ser expressa por outro conjunto conforme a expressão ($I = A \cap B$), de forma semelhante, a união é representada pelo conjunto $U = A \cup B$.

Na teoria de conjuntos nebulosos a interseção é implementada pelos operadores t-normas enquanto a união pode ser definida pelos operadores t-conormas ou s-normas [3, 23].

Uma função t-norma ou s-norma é definida como F , para operar em dois conjuntos nebulosos, A e B , deve apresentar a mesma dimensão dos conjuntos em questão, ou seja, $F : [0, 1]^2 \rightarrow [0, 1]$. Portanto, a função F deve ser, comutativa, associativa e monotônica, como é descrito abaixo:

Comutatividade : $F(a, b) = F(b, a)$

Associatividade: $F(a, F(b, c)) = F(F(a, b), c)$

Monotonicidade: $F(a, b) \leq F(c, d)$ se $a \leq c$ e $b \leq d$

Os operadores t-norma e s-norma diferem-se em relação a definição do elemento neutro. Para que um operador do tipo $T : [0, 1]^2 \rightarrow [0, 1]$ possa ser classificado como t-norma ou s-norma ele deve ser comutativo, associativo, monotônico e apresentar um dos seguintes elementos neutros:

- Elemento neutro t-norma = 1: $T(a, 1) = 1$
- Elemento neutro s-norma = 0: $S(a, 0) = 0$

O operador negação para uma t-norma ou s-norma é definido pelas relações de Morgan (Eq. 2-5) definidas para $\forall(a, b) \in [0, 1]$ [18]. A negação dos termos a e b pode ser feita pelo principal operador negação, $\neg a = 1 - a$:

$$\begin{aligned} \neg T(a, b) &= S(\neg a, \neg b) \\ \neg S(a, b) &= T(\neg a, \neg b) \end{aligned} \quad (2-5)$$

sendo, que o sinal \neg significa negação.

A utilização de conjuntos crisp $\mu_A = \{0, 1\}$ reduz a lógica nebulosa à lógica clássica, da mesma forma que as t-norma e s-normas são reduzidas aos operadores interseção e união clássicos. A lógica fuzzy é, portanto, uma teoria mais generalizada, enquanto que a lógica clássica representa o limite extremo da lógica fuzzy, ou seja quando as funções de pertinência retornam os valores 0 ou 1.

A Tabela 2.2 mostra os principais operadores t-normas e s-normas mais utilizados em estudos e aplicações da lógica nebulosa. Considerando que os conjuntos A e B apresentam funções de pertinência triangular, o esboço geral para as principais t-normas está na Fig. 2.5 enquanto as s-normas estão na Fig 2.6. A t-norma Zadeh apresenta maior expressão enquanto a t-norma de Weber tem a menor região de cobertura. Para as s-normas ocorre uma inversão a s-norma de Zadeh tem uma área de cobertura menor enquanto a s-norma de Weber apresenta a maior área, como podem ser visualizados nas Figuras 2.5 e 2.6 [3].

Tabela 2.2: Principais operadores t-norma e s-norma

t-norma	s-norma	Nome
$F(a, b) = \min(a, b)$	$T(a, b) = \max(a, b)$	Zadeh
$F(a, b) = a \cdot b$	$T(a, b) = a + b - a \cdot b$	Probabilística
$F(a, b) = \max(a + b - 1, 0)$	$T(a, b) = \min(a + b, 1)$	Lukasiewicz
$F(a, b) = \begin{cases} a & \text{se } b = 1 \\ b & \text{se } a = 1 \\ 0 & \text{outros casos} \end{cases}$	$T(a, b) = \begin{cases} a & \text{se } b = 0 \\ b & \text{se } a = 0 \\ 1 & \text{outros casos} \end{cases}$	Weber

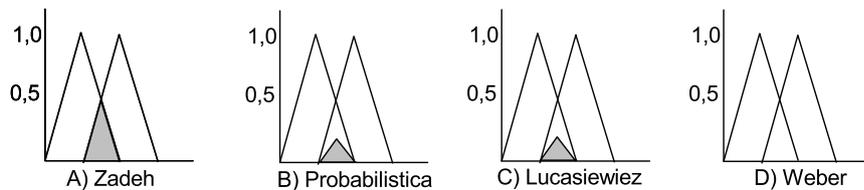


Figura 2.5: Esboço das principais t-normas.

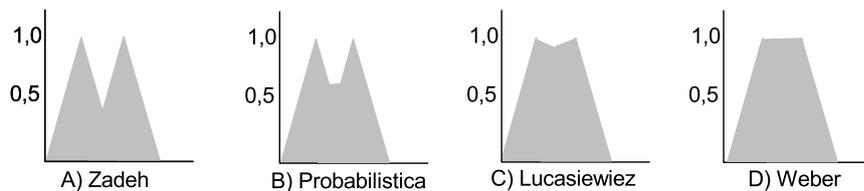


Figura 2.6: Esboço das principais s-normas.

Capítulo 3

Redes de Petri

3.1 Histórico

A teoria inicial das redes de Petri (RdP) pode ser considerada recente, pois foi desenvolvida da tese de doutorado intitulada *Kommunikation mit Automaten* (Comunicação de Automatos) de Carl Adam Petri, concluída em 1962 na Universidade de Darmstadt, Alemanha. O objetivo inicial era desenvolver um modelo em que as máquinas de estado fossem capazes de se comunicar [7] através de uma sequência de transições e ações.

Posteriormente Anatol W. Holt interessou-se pelo trabalho de Carl A. Petri e impulsionou um grupo de pesquisadores do *Massachusetts Institute of Technology-MIT* que entre os anos de 1968 e 1976 lançaram as bases da atual teoria das redes de Petri.

Durante a década de 1970 surgiram as RdP capazes de modelar características temporais [7, 24]. Na década de 1980 surgiram as redes de Petri de alto nível, como por exemplo, redes numéricas [24, 25], redes predicado/transição [7] e as redes coloridas [26, 27]. Em meados da década de 1980 surgiram também extensões de RdP estocásticas [28]. Tais inovações acrescentaram uma grande força descritiva ao processo de modelagem, pelo uso de marcas com identidade e, conseqüentemente, do uso de conjuntos de marcas na representação da dinâmica dos sistemas modelados, bem como

pela possibilidade de se associar taxas de ocorrência não determinísticas aos eventos dos sistemas. Desta forma, as RdP atingiram outras áreas, tais como: automação de escritórios, bancos de dados, inteligência artificial, sistemas de informação e bioinformática.

Na década de 1990 as RdP tiveram como seu principal representante a segunda versão das RdP Coloridas [29], desenvolvidas pelo Prof. Kurt Helmer Jensen, da Universidade de Arhus, na Dinamarca. Além de trabalharem com marcas diferenciáveis, tais redes apresentam tratamento de aspectos temporais e permitiram a representação de tipos de dados abstratos, um diferencial que as outras extensões existentes no final da década de 1980 e início da década de 1990 não apresentavam.

Durante a década de 1990 a diversidade de extensões de RdP motivou o início de um esforço para a padronização das redes de alto nível, bem como de uma sintaxe de transferência que pudesse ser comum a todas as RdP. Em 1995 o formalismo proposto para a teoria de redes de Petri foi apresentado à ISO, *International Standards Organization*, designando um padrão internacional dividido em três partes: a primeira parte define os conceitos e a notação Gráfica; a segunda parte define os formatos de transferências de informações; a terceira parte define as diferentes extensões das redes de Petri [7].

A teoria inicial das redes de Petri era destinada apenas a problemas discretos, mas após o desenvolvimento do formalismo de redes de alto nível, problemas envolvendo grandezas com comportamento contínuos, com comportamentos temporais ou não, e ainda apresentando diferentes tipos de transições puderam ser abordados, onde o formalismo das Redes de Petri foi aplicado para a simulação de processos químicos cinéticos, em materiais cerâmicos e para o estudo de vias metabólicas que corresponde ao principal foco do projeto de doutorado.

3.2 Noções fundamentais

3.2.1 Conceitos utilizados na modelagem

Os conceitos básicos utilizados na estrutura topológica das Redes de Petri são [7]:

Lugar: O lugar é utilizado para modelar componente passivo dos sistemas. Cada lugar ou estado corresponde à uma variável do sistema, formando um conjunto $E = \{e_1, e_2, \dots, e_n\}$. O estado pode ser interpretado como uma condição, um estado parcial, uma espera, um procedimento, um conjunto de recursos, um estoque, uma posição geográfica em um sistema de transporte, uma concentração de um componente de um sistema. Graficamente os estados são representados por círculos, como é ilustrado na Fig 3.1.

Transição: A transição é utilizada para modelar o componente ativo do sistema, ou seja, os eventos que levam o sistema de um estado a outro, formando um conjunto $A = \{a_1, a_2, \dots, a_m\}$. Graficamente utiliza-se uma barra ou retângulo para representar uma transição (Fig. 3.1).

Relação de fluxo (Setas): As setas definem o processo de transformação de um estado em outro pela ocorrência das ações no sistema. Esta relação é representada pelo conjunto de vetores que conectam os estados e as transições ($F = \{(x, y) \in E \times A \cup A \times E\}$).

Ficha: As fichas representam os objetos (recursos, peças, concentração, dentre outros) em uma certa posição (estado), ou ainda uma estrutura de dados que será manipulada. Por exemplo: uma ficha no lugar *máquina livre* (Fig. 3.1) indica que a máquina está disponível (predicado verdadeiro), entretanto, se ao contrário, não houver fichas neste lugar a máquina estará em operação.

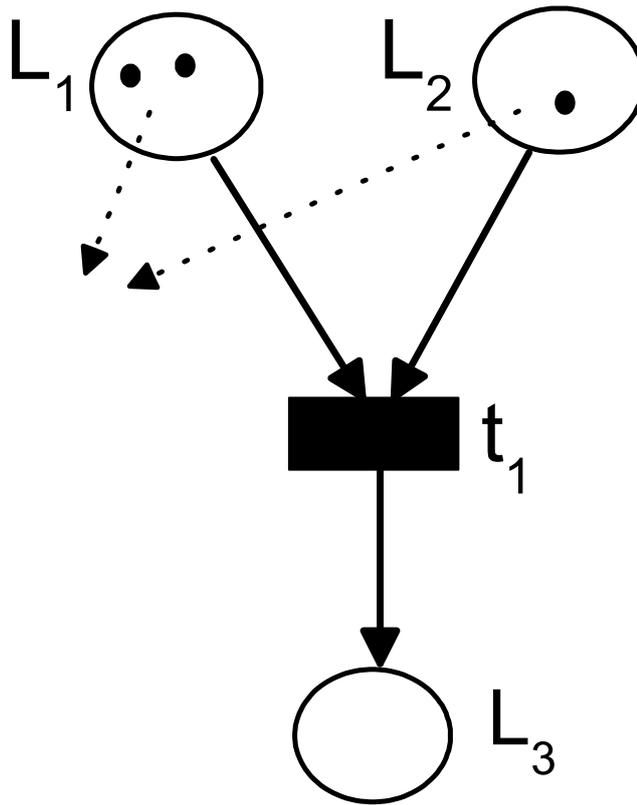


Figura 3.1: Componentes estruturais de uma rede de Petri. L_1 , L_2 , L_3 representam os lugares da rede e t_1 corresponde a transição.

3.2.2 Comportamento Dinâmico

O estado do sistema é definido pela repartição de fichas nos lugares da rede de Petri, cada lugar representa portanto um estado parcial do sistema. A cada evento que ocorre no sistema, é associada uma transição no modelo da rede de Petri. A ocorrência de um evento no sistema faz com que este passe do estado atual para o próximo estado, ou seja, neste instante ocorre o disparo da transição, que consiste em dois passos [7, 29]:

- Retirar as fichas dos estados de entrada, indicando que a condição não é mais verdadeira após a ocorrência do evento, e
- depositar as fichas nos lugares de saída, indicando que estas atividades

serão executadas após a ocorrência dos eventos.

Inicialmente as redes de Petri eram aplicadas para simulação de sistemas dinâmicos relacionados a processo de produção industrial. A Fig. 3.2 demonstra uma rede de Petri destinada ao gerenciamento de peças em uma máquina transformação desta peça. A ocorrência do evento *iniciar a operação*, associado a transição t (Fig. 3.2.a), só pode acontecer se houver pelo menos uma ficha em cada lugar *máquina livre* e *peça em espera*. A ocorrência do evento *iniciar a operação* do sistema corresponde a execução da transição t na rede de Petri, desta forma, retira-se uma ficha do lugar *máquina livre* e uma ficha do lugar *peça em espera* e coloca-se uma ficha no lugar *máquina em operação* (Fig 3.2.b). A teoria das redes de Petri para simulação de sistemas dinâmicos pode ser estendida para a simulação de processos químicos cinéticos, neste caso os lugares podem estar relacionados aos compostos presentes na reação, e a transição corresponde ao comportamento cinético da reação.

3.3 Conceitos das Redes de Petri

3.3.1 Rede de Petri

Uma rede de Petri corresponde a uma quádrupla de objetos definida por [7, 29, 30]:

$$R = \langle P, T, Pre, Post \rangle \quad (3-1)$$

sendo: P o conjunto finito de lugares de dimensão n ; T é o conjunto de transições de dimensão m ; $Pre : P \times T \rightarrow \mathbb{N}$ é a aplicação da entrada. Portanto, \mathbb{N} corresponde a matriz de adjacência que define as conexões dos lugares até as transições; $Post : P \times T \rightarrow \mathbb{M}$ é a aplicação de saída, a matriz \mathbb{M} apresenta a mesma dimensão da matriz \mathbb{N} , e representa a matriz de adjacência que define as conexões das transições até os

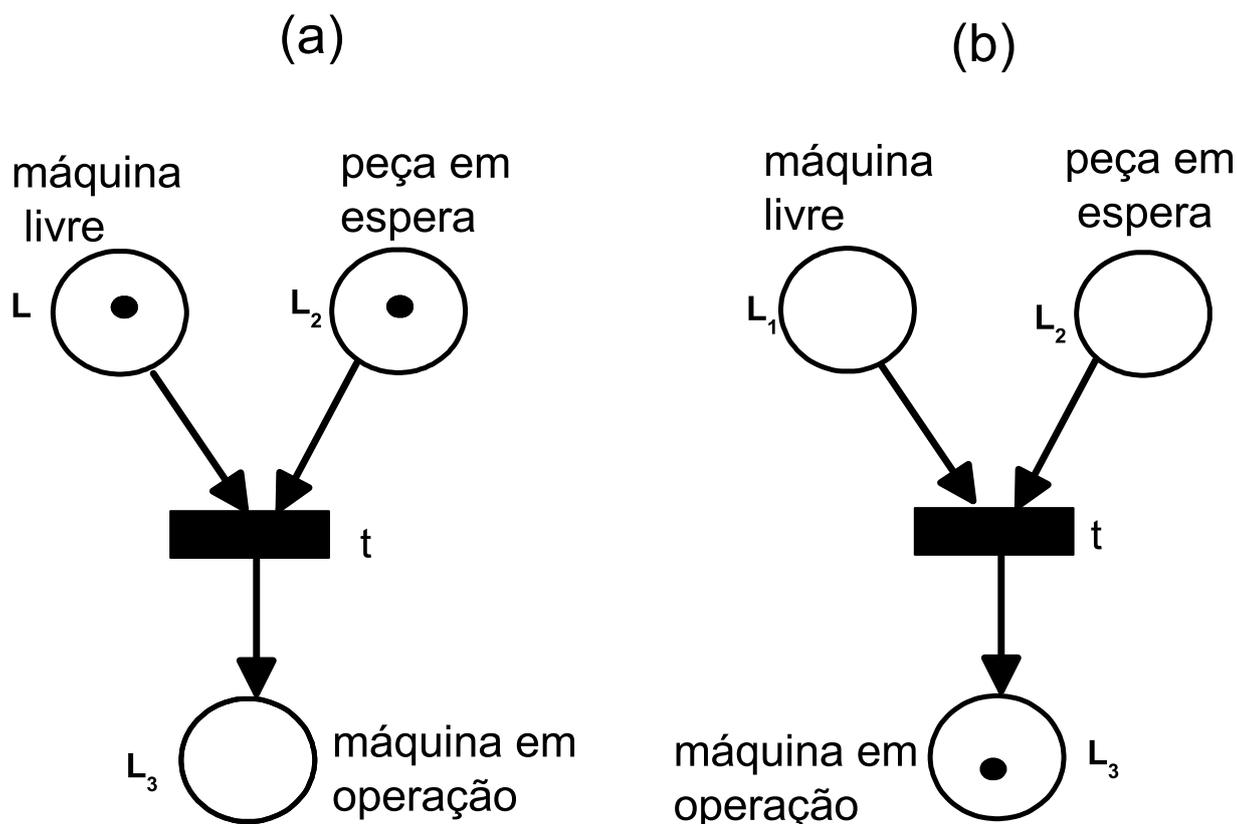


Figura 3.2: Comportamento dinâmico de uma rede de Petri. As fichas nos lugares L_1 e L_2 são consumidas para gerar a ficha no lugar L_3 .

lugares. A quádrupla $R = \langle P, T, Pre, Post \rangle$ com $P = \{p_1, p_2, p_3\}$, $T = \{a, b, c, d\}$ e os valores das aplicações de entrada e saída dados por: $Pre(p_2, c) = 3$, $Pre(p_1, b) = Pre(p_2, a) = Pre(p_3, d) = 1$, $Post(p_2, d) = 3$ e $Post(p_1, a) = Post(p_2, b) = Post(p_3, c) = 1$ é uma rede de Petri representada de forma procedural.

Rede marcada

Uma rede marcada N é uma dupla de objetos [7, 26]:

$$N = \langle R, M(p) \rangle \tag{3-2}$$

sendo, R uma rede de Petri e $M(p)$ é a distribuição (marcação) das fichas nos lugares, sendo representada por um vetor coluna cuja dimensão é o número de lugares da rede de Petri.

A dupla $N = \langle R, M(p) \rangle$ com R sendo a rede descrita anteriormente será iniciada com a uma marcação inicial igual a $M^T = [0, 3, 0]$.

3.3.2 Grafo associado e o formalismo matricial das redes de Petri

A rede de Petri pode ser associada a um grafo dirigido contendo dois tipos de nós (lugares e transições). Um arco liga um lugar p a uma transição t se e somente se $Pre(p, t) \neq 0$, enquanto um arco liga uma transição t a um lugar p se e somente se $Post(p, t) \neq 0$ [7, 25, 30].

Os elementos $a_{ij} = Pre(p_i, t_j)$ indicam o peso do arco ligando o lugar de entrada p_i à transição t_j , definindo assim a matriz de incidência anterior Pre , de dimensão $n \times m$. O número de linhas corresponde ao número de lugares e o número de colunas é igual a quantidade de transições. De forma semelhante a matriz de incidência posterior, $Post$, apresenta dimensão $n \times m$ e contém os elementos $b_{ij} = Post(p_i, t_j)$.

Os valores não nulos das matrizes Pre e $Post$ são associados aos arcos do grafo direcionado (Fig. 3.3), sendo que apenas os valores que não são unitários devem ser descritos, como ocorre por exemplo, na conexão entre a transição d e o lugar p_2 , que apresenta peso 3.

A rede de Petri descrita anteriormente apresenta o partilhamento de um conjunto de recursos (três), representado pelo lugar p_2 , entre duas atividades p_1 e p_3 . A atividade correspondente a p_1 necessita de apenas um recurso (ficha) de cada vez, enquanto a atividade correspondente a p_3 necessita de todos os três recursos ao mesmo tempo. Esta rede de Petri apresenta uma exclusão mútua entre p_1 e p_3 , pois, se a transição c ocorrer, a transição a

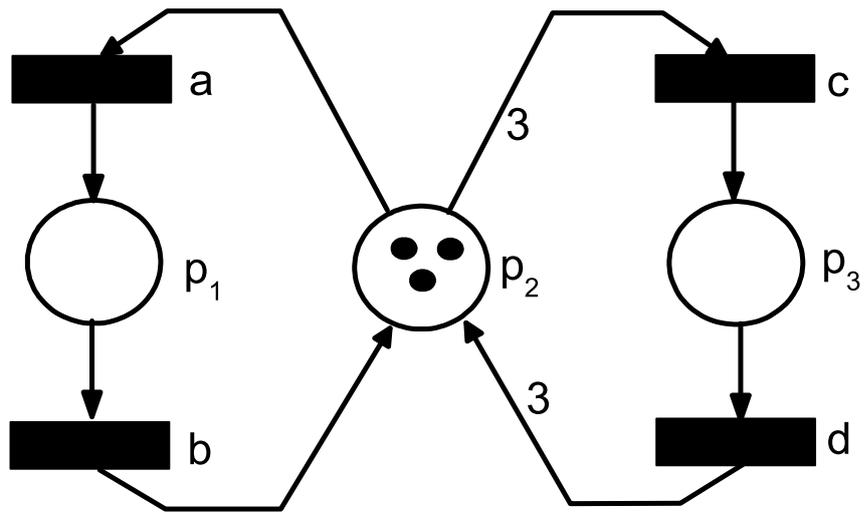


Figura 3.3: Exemplo de rede de Petri com 3 lugares e 4 transições.

não poderá ser executada, e vice-versa. Entretanto, após uma execução da transição a , esta ainda poderá ser executada por mais duas vezes, portanto a partir da marcação inicial $M = [0, 3, 0]$ a transição p_1 poderá ser executada por três vezes simultaneamente. A noto matricial desta rede (Fig 3.3)  definida por [7]:

$$Pre = \begin{array}{cccc} a & b & c & d \\ \left[\begin{array}{cccc} 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{array} \right] & p1 & p2 & p3 \end{array}$$

$$Post = \begin{array}{cccc} a & b & c & d \\ \left[\begin{array}{cccc} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 3 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{array} \right] & p1 & p2 & p3 \end{array}$$

A partir das matrizes Pre e $Post$ define-se a matriz de incidência C que fornece o balanço (Eq. 3-3) das fichas na rede quando as transições são

executadas [7, 25]:

$$C = Post - Pre \quad (3-3)$$

Para as matrizes Pre e $Post$ do exemplo descrito a matriz de incidência C é definida como:

$$C = \begin{array}{cccc} & a & b & c & d \\ \left[\begin{array}{cccc} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & -3 & 3 \\ 0 & 0 & 1 & -1 \end{array} \right] & p1 & p2 & p3 \end{array}$$

Para descrever as operações em relação as transições das redes de Petri, utiliza-se frequentemente a notação $Pre(t)$ para definir o vetor coluna da matriz Pre que é associado à transição t , semelhantemente os vetores coluna $Post(t)$ e $C(t)$ são obtidos em relação as matrizes $Post$ e C .

3.3.3 Rede de Petri pura

Uma rede de Petri R é pura se e somente se;

$$\forall p \in P \vee \forall t \in T, Pre(p, t) \times Post(p, t) = 0 \quad (3-4)$$

A Eq. 3-4 impede que uma transição qualquer possua um mesmo lugar como entrada e saída simultaneamente, como é demonstrado pela Fig. 3.3, este tipo de rede é denominado rede pura [7, 29]. Em contra partida, a rede apresentada na Fig. 3.4 contém o lugar p_3 que corresponde a entrada e também a saída da transição e , ou seja, $Pre(p_3, e) \times Post(p_3, e) = 1$.

3.3.4 Transição sensibilizada

Uma transição t está sensibilizada ou habilitada se e somente se

$$\forall p \in P, M(p) \geq Pre(p, t) \quad (3-5)$$

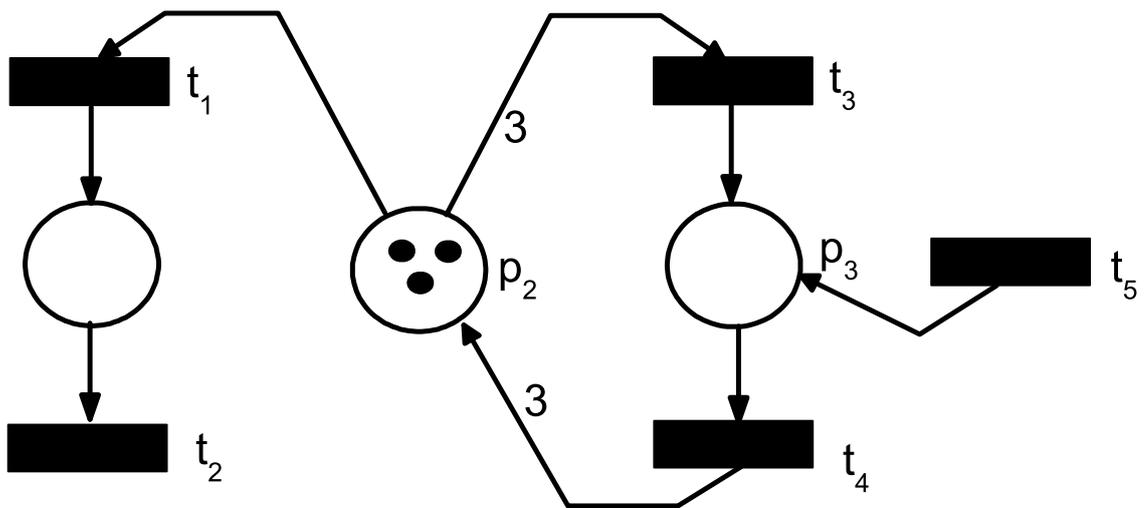


Figura 3.4: Rede de Petri impura devido a transição t_5 estar conectada ao lugar p_3 para entrada e saída de fichas.

ou seja, se o número de fichas em cada um dos lugares de entrada for maior (ou igual) ao peso do arco que liga o lugar p à transição t , esta transição será sensibilizada [7]. A Eq. 3-5 pode ser reescrita (Eq. 3-6) utilizando a notação que define os vetores coluna de cada transição:

$$M \geq Pre(t) \quad (3-6)$$

sendo, $Pre(t)$ o vetor coluna da matriz Pre referente a transição t e M o vetor de marcação inicial.

Para a rede da Fig. 3.3 o vetor de marcação inicial:

$$M = \begin{bmatrix} 0 \\ 3 \\ 0 \end{bmatrix}$$

com

$$Pre(a) = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad Pre(c) = \begin{bmatrix} 0 \\ 3 \\ 0 \end{bmatrix}$$

A partir de uma transição t sensibilizada por uma marcação M , uma nova marcação M' é obtida de acordo com a seguinte equação:

$$M'(p) = M - Pre(t) + Post(t) = M + C(t) \quad (3-7)$$

A execução da transição t é uma operação que consiste em retirar $Pre(p, t)$ fichas de cada lugar precedente p e colocar $Post(p, t)$ fichas em cada lugar seguinte p_j . O disparo da transição t representa a mudança de estado no sistema devido à ocorrência do evento associado à transição t .

Para a rede de Petri da Fig. 3.2, após a execução da transição a obtém-se, utilizando a Eq. 3-7, a seguinte marcação (M'):

$$\begin{bmatrix} 1 \\ 2 \\ 0 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} 0 \\ 3 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix}$$

Se, a partir da marcação inicial M , a transição c fosse disparada, a marcação, $M'' = [0, 0, 1]^T$, seria obtida. A matriz C tem a função de fazer o balanço das fichas quando uma transição é executada. Cada elemento da matriz $C(p_i, t_j) < 0$ indica quantas fichas serão retiradas de cada lugar p_i da rede e cada elemento $C(p_i, t_j) > 0$ indica quantas fichas serão adicionadas à marcação do lugar p_i . Se $C(p_i, t_j) = 0$, a marcação de p_i não é modificada.

3.3.5 Conflito e paralelismo

O conflito em uma rede de Petri é identificado pela ocorrência individual de duas transições quaisquer (t_j e t_k) e pela impossibilidade de execução destas transições de forma simultânea. Conceitualmente um conflito estrutural é identificado quando duas transições quaisquer apresentam um lugar de entrada em comum e matematicamente o conflito estrutural é representado pela seguinte expressão:

$$Pre(p_i, t_j) \cdot Pre(p_i, t_k) \neq 0 \quad (3-8)$$

entretanto o conflito efetivo só será percebido se existir uma marcação que sensibilize ambas as transições, como é definido por:

$$M \geq Pre(t_i) \text{ e } M \geq Pre(t_k) \quad (3-9)$$

Desta forma, para a rede de Petri da Fig. 3.2, as transições a e c estão em conflito estrutural, pois $Pre(p_2, a) \times Pre(p_2, c) = 3$ e para a marcação inicial $M = [0, 3, 0]^T$, as transições a e c estão em conflito efetivo pois, $M_i > Pre(a)$ e $M_i \Rightarrow Pre(c)$, logo não podem ser executadas simultaneamente [26, 29].

O conceito de paralelismo implica que todas as atividades podem ser executadas ao mesmo tempo, neste caso as transições envolvidas não apresentam interferência mútua, ou seja, duas transições quaisquer (t_i e t_k) serão paralelas se não apresentarem um lugar de entrada em comum. Este conceito pode ser verificado através da seguinte Eq. 3-10,

$$Pre(t_j).Pre(t_k) = 0 \quad (3-10)$$

que corresponde ao produto escalar dos vetores coluna que representam as transições t_j e t_k . Entretanto, o paralelismo será realmente verificado apenas se as transições estiverem sensibilizadas, ou seja, se $M \geq Pre(t_j)$ e $M \geq Pre(t_k)$.

Utilizando a Fig 3.2 como exemplo, verifica-se que as transições b e d são estruturalmente paralelas. Os vetores associados a cada transição estão listados abaixo:

$$Pre(b) = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \text{ e } Pre(d) = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}$$

e a Eq 3-10 pode ser constatada, $Pre(b)^T.Pre(d) = 0$. Se a rede da Fig 3.2 estiver com a marcação $M' = [1, 0, 1]^T$ as transições b e d serão efetivamente paralelas.

O modelo de rede de Petri pode utilizar a descrição de conflito, por exemplo para descrever o compartilhamento de recursos, que dependendo da

marcação poderá ser executado e constitui-se uma ferramenta importante em sistema de controle. A representação do paralelismo pode ser associada a processos que ocorrem de forma independente e simultânea.

3.4 Redes de Petri e sistemas de regras

A rede de Petri tem a característica de fazer evoluir o estado do sistema. Desta forma, um conjunto de regras representadas por transições pode ser utilizado como um sistema de regras de produção baseado em uma representação da forma "*se condição então ação*" [7, 31].

Um sistema de regras de produção de conhecimento, ou simplesmente sistema de regras, é formado de [7, 31]:

- uma base de fatos, representando o conhecimento disponível sobre o sistema;
- uma base de regras, que permite deduzir novos fatos;
- um mecanismo de inferência, que permite realizar novas deduções aplicando as regras aos fatos.

O mecanismo de inferência mais elementar consiste em dispor o conjunto de regras em uma lista, e percorrê-la sequencialmente. A regra será executada se a parte *condição* for verdadeira para o contexto do sistema. Entretanto, se nenhuma das regras pode ser aplicável então o sistema de inferência é paralisado. Dentro da lista de regras podem existir duas ou mais regras que podem ser aplicadas, e portanto, o resultado final poder ser variado dependendo da ordem em que as regras estão dispostas na lista. O processo de inferência mais elementar escolhe sempre a primeira regra, sem verificar a aplicabilidade de outras. Uma situação como esta, onde diversas regras podem ser aplicadas configura-se como conflito. A resolução do conflito é realizada pelo controle do sistema de inferência.

A correspondência entre as redes de Petri e os sistemas de regras é baseada nas seguintes correspondências [7, 31]:

- o conjunto de transições da rede, com suas condições e ações são representadas pelos vetores $Pre(t)$ e $Pos(t)$ e constituem a base de regras;
- a marcação inicial será a base de fatos inicial, ou contexto inicial;
- o controle (máquina de inferência) é determinado pela estrutura da rede: se as transições são paralelas a ordem de execução é indiferente, se as transições estão em conflito e a marcação for restrita, apenas uma poderá ser disparada.

A utilização da rede de Petri para representar um sistema de regras é promissora devido ao formalismo que permite representar sistemas baseados no conhecimento e obter resultados quando não existe um algoritmo conhecido, como é o caso de sistemas peritos para diagnóstico médico, prospecção de petróleo, interpretação de análises químicas, dentre outras [7, 31].

3.5 Modelagem com redes de Petri

A modelagem de um sistema através de uma RdP requer um processo de interpretação da rede que faz a ligação do modelo abstrato que qualquer RdP representa com o sistema concreto que se pretende modelar. Por exemplo, a rede ilustrada na Fig. 3.5 apresenta uma possível interpretação de um sistema produtor-consumidor [29]. A partir da rede de Petri (Fig. 3.5) verifica-se que os produtos são produzidos aos pares e que para cada um destes pares é entregue a unidade (p_3). Por outro lado, o consumidor (modelado pelos lugares p_4 e p_5 e pelas transições t_3 e t_4) recebe sempre três unidades, e assim que estas são consumidas, o lugar p_4 habilita a transição t_3 para o recebimento de mais unidades.

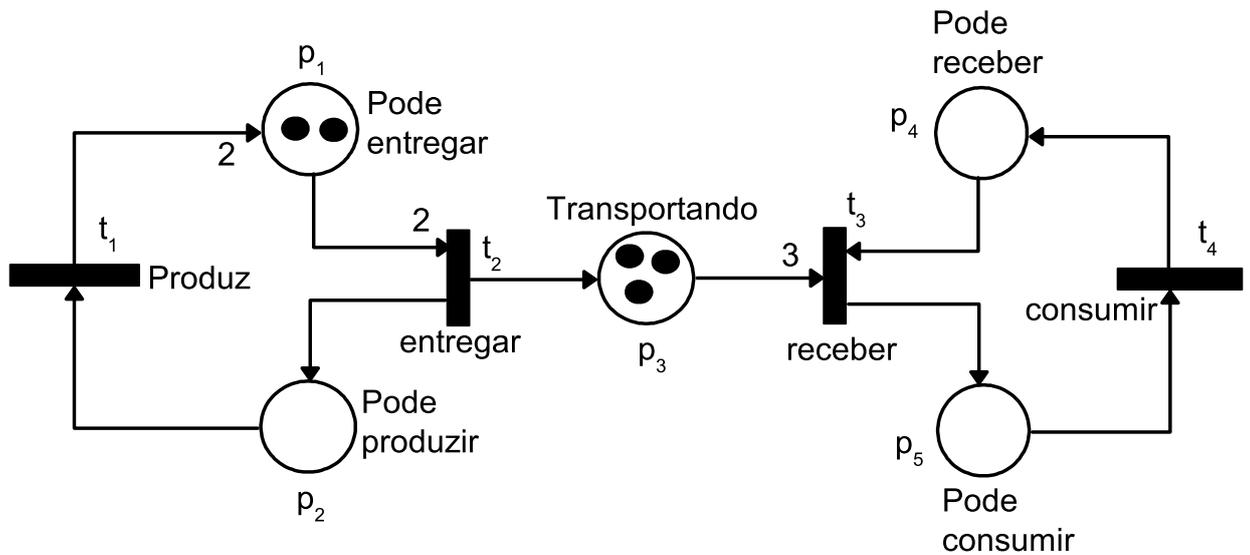


Figura 3.5: Rede de Petri com peso associados aos arcos, marcada e com a respectiva interpretação.

As RdPs podem permitir o modelamento e visualização de diversos conceitos e relações, tais como: paralelismo e concorrência (conflito), partilha de recursos, sincronização, memorização, limitação de recursos e leitura [32].

As redes de Petri podem também representar o fluxo de dados (*dataflow*), onde os operadores são ativados pela chegada de informações, que são representados pela presença de marcas nos lugares e os operadores estão associados às transições. As RdPs não oferecem apenas uma representação para a estrutura e funcionamento de um sistema, mas também a visualização do comportamento do sistema através do "movimento" das marcas, capturando assim a dinâmica dos sistemas e eventos tornando-se dessa forma particularmente úteis para diversos tipos de simulação [7].

3.6 Classes de redes de Petri

As variações das redes de Petri surgiram com a necessidade de

adaptação das RdP ordinárias à especificidade da aplicação para as quais a sua utilização era desejada. O modelo original das RdP falha na representação de duas importantes características: aspectos funcionais complexos, tais como, condições que determinam o fluxo de controle, e os aspectos de temporização [24]. Para enfrentar estas duas limitações duas classes de extensões às RdP foram desenvolvidas: as RdP de alto-nível e as RdP temporizadas.

3.6.1 Redes de Petri de alto nível

Sistemas complexos, tais como os sistemas de manufatura, caracterizam-se pela capacidade de fabricar vários tipos de produtos simultaneamente. Existe, portanto, um componente de dados importante (tipo de peça a ser fabricada, estado atual da peça, etc.), em que a dinâmica do sistema tem um papel fundamental. A repartição dos recursos (máquinas, sistemas de transporte) e a complexidade dos mecanismos de alocação deste põem em evidência o paralelismo e os conflitos existentes no sistema. Devido a estas características, a rede de Petri é considerada como uma ferramenta indicada para a especialização do controle de um sistema de manufatura [24]. Entretanto, em tais sistemas complexos, podem apresentar problemas tais como a presença de vários processos semelhantes ou o processamento de estruturas diferentes utilizando o mesmo processo. Nestes casos a utilização de uma rede de Petri elementar pode ser viável mediante a escolha de um dos métodos abaixo [24];

- modelar o comportamento geral sem precisar da identidade de cada processo;
- modelar, individualmente, cada um dos processos que constituem o sistema, e modelar a interação existente entre eles, o que consiste muitas vezes em desdobrar o modelo que representa o comportamento geral.

No primeiro caso, obtém-se uma descrição compacta, mas não detalhada o suficiente; existe uma falta de informação. No segundo caso, o modelo obtido pode ser pouco prático de se trabalhar, seja pelo tamanho da rede, seja pelo número de interações existentes. É necessário, portanto, estruturar parte dos dados do sistema fora da estrutura da rede. O poder de expressão da rede de Petri pode ser elevado a partir da individualização das fichas e a utilização de variáveis ou funções de disparo para as transições [24, 29]. A partir deste momento cada ficha é um indivíduo que irá sensibilizar a transição de forma diferenciada. Este conceito básico de diferenciação das fichas e dos modos de ativação das transições geram três modelos de redes de Petri, sendo estas: as redes de Petri coloridas, redes predicado/transição e redes de Petri a objetos. A rede do tipo predicado-transição é caracterizada por considerar cada transição como sendo uma regra de lógica de primeira ordem (regras com variáveis), assim cada transição descreve um conjunto de eventos. As redes de Petri a objetos pode ser considerada como a utilização da rede de Petri predicado-transição no contexto de uma abordagem a objetos. As fichas não são mais constantes, mas instâncias de n-uplas de classes de objetos [7].

Redes de Petri coloridas

O principal objetivo das Redes de Petri Coloridas (RdPCol) [28, 29] é a redução do tamanho do modelo, permitindo que as fichas sejam individualizadas (coloridas), passando a representar diferentes processos ou recursos em uma mesma sub-rede. Inicialmente, as fichas das RdP Coloridas eram representados por cores ou mesmo por padrões que possibilitam a distinção de cada uma, e atualmente as representações de cor foram substituídas por estruturas de dados complexas não relacionando cores, a não ser pelo fato de que estes são distinguíveis. Deste modo, as fichas podem conter informações [7]. Além disso, cada lugar armazena fichas de um certo

tipo definido e arcos realizam operações sobre as fichas. As transições são consideradas "expressões de guarda". Uma RdPCol é composta por três partes: estrutura, inscrições e declarações. A estrutura é um grafo direcionado, com dois tipos de nós (lugares e transições), com arcos interconectando nós de tipos diferentes. As inscrições são associadas aos lugares, transições e arcos [7, 25].

- Cada lugar tem as seguintes inscrições: Nome (para identificação); Cor (especificando os tipos de fichas que podem residir no lugar); Marcação inicial (conjunto de fichas coloridas);
- Cada transição tem as seguintes inscrições: Nome (para identificação); Guarda (expressão booleana contendo algumas das variáveis);
- Cada arco tem as seguintes inscrições: Expressão do arco (contendo algumas das variáveis).

As declarações podem ser, funções, operações e variáveis. Quando a expressão do arco é avaliada, ela gera um conjunto de fichas coloridas. As expressões podem conter constantes, variáveis, funções e operações definidas nas declarações, e não produzem efeito colateral.

Formalmente um RdPCol é representada por uma sextupla dada por [7]:

$$N_c = \langle P, T, C_{or}, C_{sc}, W, M_o \rangle$$

sendo, p o conjunto finito de lugares; T é o conjunto finito de transições; C_{or} corresponde ao conjunto de cores; C_{sc} é a função *sub-conjunto de cores* que atribui a cada par lugar-transição um sub-conjunto de C_{or} ; W é a função de incidência (equivalente a $C = Post - Pre$); M_o é a marcação inicial que associa para cada lugar e cada cor neste lugar, um número de fichas.

A Fig. 3.6 apresenta um exemplo simplificado de Rede de Petri Colorida, onde as fichas são identificadas apenas por cores. Entretanto, estas podem ser estruturas mais complexas. Na Fig. 3.6 os arcos são rotulados com cores (a , b e c). Para que uma transição desta rede esteja habilitada, é necessário que

os lugares de entradas desta transição tenham fichas do tipo (cor) associado ao arco que liga estes lugares à transição. A transição t_0 não está habilitada porque não existe nenhuma ficha na cor a no lugar p_0 . A transição t_1 está habilitada pois a ficha da cor a está no lugar p_1 e as fichas das cores a e b estão no lugar p_2 , satisfazendo as condições rotuladas nos arcos que saem destes lugares, ligando-os à transição t_1 . O disparo desta transição retira as fichas de cores associadas aos arcos dos lugares de entrada e adiciona fichas da cor associada ao arco que liga a transição aos lugares de saída. Deste modo, uma ficha de cor c é acrescentada ao lugar p_4 .

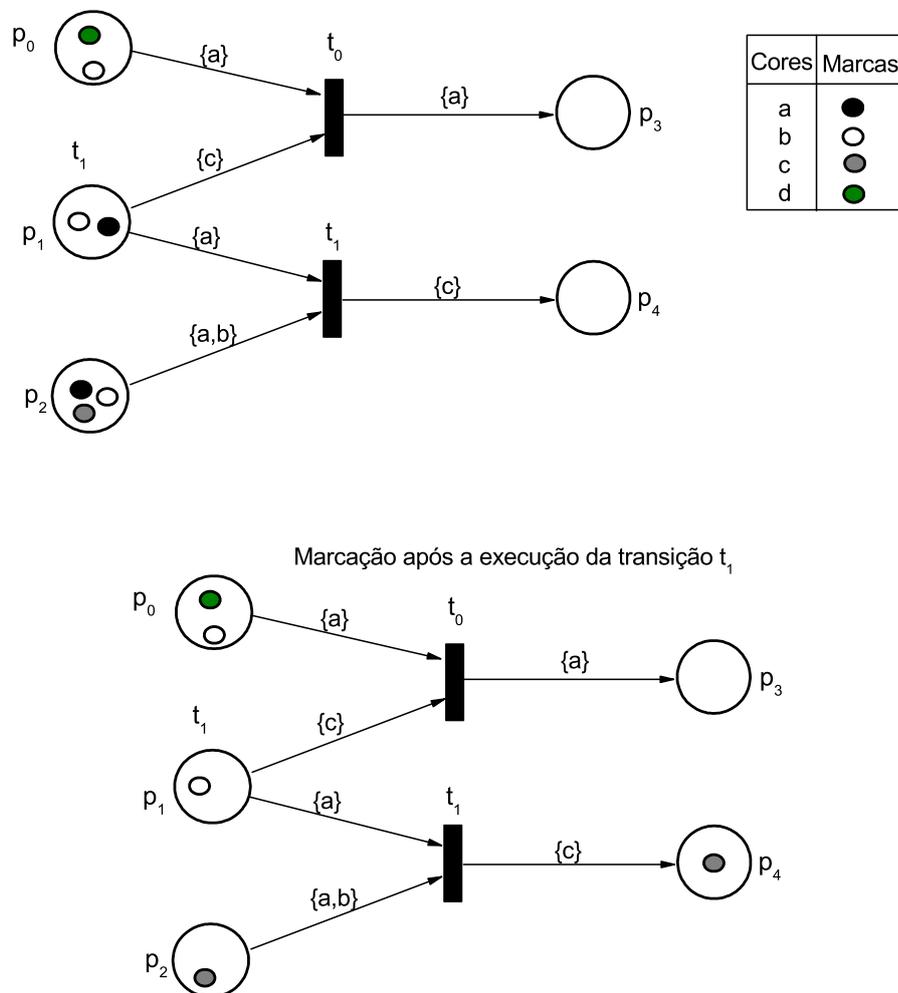


Figura 3.6: Exemplo de Rede de Petri Colorida. Cada arco especifica o tipo de ficha retirada ou adicionada ao lugar que o arco esta conectado.

3.7 Redes de Petri temporizadas

As redes de Petri temporizadas são extensões que buscam acrescentar às redes de Petri a possibilidade de análise no domínio do tempo [25]. Nestas extensões o tempo pode estar associado às marcas, aos arcos, aos lugares ou às transições. Quando associado às marcas, elas carregam uma informação indicando, geralmente, quando a marca estará disponível para ser considerada para a habilitação de transições. Quando a informação de tempo está associada aos arcos, estes são associados a um tempo de disparo. Quando a informação de tempo está associada aos lugares, usualmente, corresponde a uma indicação do tempo que a marca deve permanecer naquele lugar antes de ser utilizada para a habilitação das transições sucessoras do lugar em questão. Finalmente, quando o tempo é associado às transições a indicação refere-se, de modo geral, ao tempo que a ação leva para ser executada [27, 28].

Estas extensões temporais podem ser determinísticas ou estocásticas [25]. As extensões determinísticas indicam tempos absolutos relativos à execução dos eventos correspondentes. As extensões estocásticas, por sua vez, permitem considerar incertezas nos instantes de execução de eventos do sistema associando a eles funções de probabilidade para a determinação de sua execução.

3.7.1 Redes de Petri temporizadas determinísticas

As transições das redes de Petri elementares necessitam apenas que a sensibilização seja suficiente para que todas as transições possam ocorrer. No entanto, pode ser necessário associar ao disparo de uma transição um valor de tempo. Esta RdP é chamada de Rede de Petri Temporizada Determinística [25].

O valor do tempo associado à cada transição pode apresentar os seguintes significados [26]:

- tempo de aquisição de um recurso;
- tempo de utilização de um recurso;
- tempo em que não necessita de um recurso.

Para exemplificar, a Fig 3.7 apresenta uma rede de Petri temporizada, em que podem ser observadas as seguintes características:

- a transição t_1 é temporizada em 1 segundo;
- a transição t_2 é temporizada em 5 segundos;
- as transições t_3 e t_4 não estão temporizadas.

Desta forma a transição t_1 está temporizada para disparar em 1s, sempre que existir uma ficha em sua entrada (lugar). A transição t_2 está temporizada para disparar em 5s, sempre que existir uma ficha em sua entrada, ou seja, durante os 4 primeiros segundos a transição t_1 estará habilitada. No quinto segundo as duas transições t_1 e t_2 estarão habilitadas e haverá um conflito de disparo, pois o estado p_2 contém apenas uma ficha e cada transição disparada pelo tempo necessita de uma ficha. A presença do conflito também pode ser verificado pela Eq 3-8, sendo $Pre(t_1).Pre(t_2) = 1$.

A principal vantagem de uma RdP temporizada é a relação de tempo, que antes não havia. A relação de tempo altera os estados/marcações alcançáveis, sendo assim uma ferramenta importante em sistemas dependentes do tempo, tais como simuladores, analisadores em tempo real.

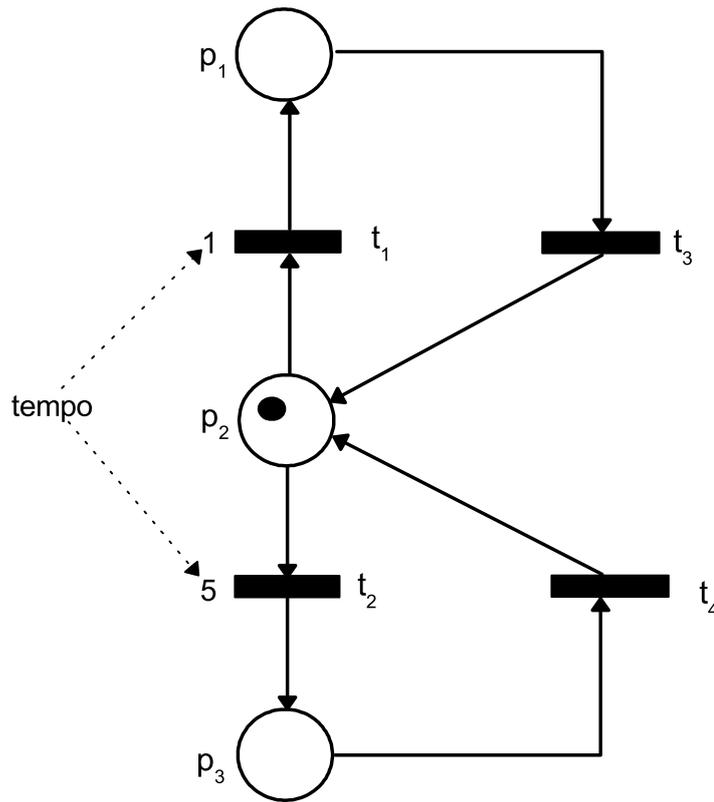


Figura 3.7: Exemplo de Rede de Petri com as transições t_1 e t_2 temporizadas.

3.7.2 Redes de Petri estocásticas e Redes de Petri Estocásticas Generalizadas

Redes de Petri Temporizadas Determinísticas são vantajosas para modelagem de sistemas onde a relação de tempo é constante ou determinística, já que associam a cada transição um retardo (ou duração) fixo entre o tempo em que ela está habilitada e o tempo de disparo. No entanto, redes temporizadas determinísticas não são suficientes para modelar sistemas estocásticos, que possuem taxas aleatórias. Sistemas de produção onde o tempo de funcionamento real entre 2 paradas de uma máquina é aleatório é um exemplo. Para estes casos as Redes de Petri Ordinárias foram estendidas para modelarem sistemas estocásticos. As Redes de Petri Estocásticas [24,26]

associam uma distribuição exponencial ao tempo de disparo de cada transição habilitada da rede. Dessa forma, a rede passa a ser probabilística, sendo descrita por um processo estocástico.

Formalmente uma Rede de Petri Estocástica é definida por:

$$RdPE = \langle P, T, A, PA, M_0, D \rangle$$

sendo, P é o conjunto de lugares, T é o conjunto de transições, A corresponde ao conjunto de arcos, PA são os pesos dos arcos, M_0 é a marcação inicial, D é o conjunto das taxas de disparo associadas às transições que obedecem a uma distribuição exponencial. Tais taxas de disparo podem ter o seu valor dependente da marcação. A dependência da taxa de disparo (Eq. 3-11) da transição j sobre uma marcação M é denotada por $D_j(M)$, que pode ser calculado da seguinte forma [7, 25];

$$D_j = 1 - e^{-\lambda\tau} \quad (3-11)$$

sendo λ um valor aleatório no intervalo $[0,1]$ e τ é o tempo máximo de duração da transição j . Em muitos sistemas, não é necessário associar valores de tempos a todos os eventos, e conseqüentemente a todas as transições da Rede de Petri Estocástica. As Redes de Petri Estocásticas generalizadas incluem transições que não gastam tempo para disparar, portanto as transições estão separadas em dois conjuntos: transições imediatas e transições temporizadas. Transições imediatas, uma vez habilitadas, disparam em tempo zero. Transições temporizadas disparam com tempos aleatórios, descritos por distribuições exponenciais.

3.7.3 Redes de Petri funcionais

As redes de Petri funcionais, correspondem a uma extensão das redes de Petri ordinárias, entretanto as variáveis de estado podem ser contínuas (valores reais) e discretas (valores inteiros, ou valores em um conjunto finito) [7]. A

transição, que também pode ser contínua, corresponde a uma função que designa a velocidade máxima de disparo representando um fluxo contínuo de fichas, como por exemplo (Eq. 3-12):

$$Fluxo = \frac{dF_i}{dt} \quad (3-12)$$

sendo, q_i e q_0 as quantidades de fichas antes e depois da transição. A velocidade de disparo de uma transição é a velocidade máxima definida para ela enquanto o número de fichas dos lugares de entrada for suficiente; caso contrário, a velocidade de disparo é limitada pela quantidade de fichas presente nos lugares de entrada e dos fluxos de fichas que estão entrando nestes lugares.

As redes de Petri funcionais comportam ainda a introdução de arcos inibidores e arcos de testes. No arco inibidor seu peso habilita a transição ao disparo apenas se o número de fichas no seu lugar de origem for menor ou igual ao seu peso. O arco de teste não consome as fichas do seu lugar de origem para habilitar o disparo.

3.8 Considerações Gerais

A teoria das Redes de Petri corresponde a um importante recurso para a modelagem de sistemas, particularmente de sistemas computacionais. Esta importância é fundamentada nas propriedades inerentes às Redes de Petri que proporcionam a modelagem de características típicas destes sistemas, entre as quais podemos destacar: compartilhamento, concorrência, conflito, controle e sincronização. Entretanto, a modelagem de sistemas computacionais que possuem algumas características probabilísticas, utilizando Redes de Petri Ordinárias e Temporizadas não é o ideal. Neste caso, utiliza-se uma Rede de Petri Estocástica.

A modelagem usando Redes de Petri Coloridas, normalmente permite uma redução no tamanho do modelo devido à unificação dos lugares, transições

e arcos. O grau de redução da Rede de Petri é dependente dos modelos originais e principalmente da quantidade de repetições (lugares, transições e arcos) existentes [7, 32].

A teoria das redes de Petri apresenta uma elevada aplicabilidade às questões em estudo nesta tese de doutorado. Por meio da teoria das redes de Petri temporizadas foi desenvolvido um sistema de computação paralela distribuído, que apresenta características dinâmicas para obter o máximo de desempenho em clusteres computacionais. As redes de Petri funcionais formam a base computacional para o desenvolvimento do sistema de simulação de rotas químicas e metabólicas que consiste no objetivo fundamental deste trabalho..

Capítulo 4

Cinética química

4.1 Introdução

A área da Físico-química denominada cinética química desenvolve o estudo da velocidade das reações químicas. A cinética química aborda a descrição matemática para o consumo de reagente ou formação dos produtos, assim como as influências devido a presença de catalisadores no sistema reacional. As velocidades das reações são influenciadas por diversas propriedades, tais como pressão, temperatura, concentração dos reagentes, presença de catalisadores e/ou inibidores. A partir de um estudo cinético criterioso é possível otimizar as condições experimentais para obter o máximo de rendimento de reações químicas ou impedir a ocorrência de reações desfavoráveis à formação dos produtos.

O estudo das velocidades das reações torna possível a compreensão do mecanismo de uma reação, fragmentando a reação principal em uma sequência de reações elementares. Este procedimento corresponde a base dos estudos das reações bioquímicas, para a determinação de rotas metabólicas. Neste capítulo serão abordados os princípios gerais da cinética química através da apresentação das leis de velocidades das reações, será abordada também a dependência da velocidade das reações com a variação da temperatura.

4.2 Velocidade de reação

A velocidade (V) de uma reação é definida em termos da velocidade de variação da concentração de uma dada espécie química em um sistema reacional, como por exemplo:



$$Velocidade = -\frac{1}{2} \frac{dA}{dt} = -\frac{dB}{dt} = \frac{dC}{dt} = \frac{1}{v_i} \frac{dC_i}{dt} \quad (4-2)$$

$$Velocidade \approx \frac{|\Delta[C_i]|}{\Delta t} \quad (4-3)$$

sendo $[C_i]$ a concentração molar da espécie C que ocorre durante o tempo, t e v_i é o coeficiente estequiométrico do componente na reação. O módulo da variação da concentração é utilizado para assegurar que a velocidade seja sempre positiva: se C_i é um reagente, sua concentração diminuirá e $\Delta[C_i]$ será negativa, mas $|\Delta[C_i]|$ será positivo. Sendo a concentração definida em mol/l e o tempo em segundo a velocidade é definida em número de moles por litro por segundo, ($mol.L^{-1}s^{-1}$).

Como as velocidades às quais os reagentes são consumidos e os produtos são formados mudam no decorrer de uma reação, é necessário considerar a velocidade instantânea da reação, V ; ou seja, sua velocidade em um instante específico. A velocidade instantânea pode ser calculada a partir da derivada da função que relaciona a concentração molar de uma espécie com tempo. Para a reação simples $A \rightarrow B$ a velocidade instantânea em um determinado tempo é $v = \frac{d[B]}{dt}$, e corresponde a uma grandeza positiva, pois a concentração molar do produto B aumenta ($d[B] > 0$) quando a reação avança ($dt > 0$), ou $v = \frac{-d[A]}{dt}$, também corresponde a uma grandeza positiva pois, enquanto a concentração molar do reagente A diminui ($d[A] < 0$) quando a reação avança,

o sinal negativo converte a derivada negativa em uma velocidade positiva.

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} \quad (4-4)$$

Em geral, os vários reagentes de uma determinada reação são consumidos em velocidades diferentes, e os vários produtos também são formados em velocidades diferentes. Essas velocidades estão relacionadas pela estequiometria da reação. Por exemplo, na decomposição da uréia, $(NH_2)_2CO$, em solução ácida;



nesta reação a velocidade de formação do NH_4^+ é duas vezes a velocidade de consumo do $(NH_2)_2CO$, pois, para 1 mol de $(NH_2)_2CO$ consumido, 2 moles de (NH_4^+) são formados. A partir da velocidade de formação ou consumo de uma substância, é possível a partir da estequiometria da reação deduzir as velocidades de formação ou consumo das outras espécies químicas da reação. Neste caso (Eq. 4-5), por exemplo, as velocidades de todas as espécies estão relacionadas da seguinte forma:

$$v = \frac{d([NH_4^+])}{dt} = 2 \frac{d([CO_3^{2-}])}{dt} = -2 \frac{d([NH_2)_2CO]}{dt} \quad (4-6)$$

4.3 Leis de velocidade e constantes de velocidade

A determinação de uma função que descreve a velocidade de uma reação em função da composição do sistema químico é de fundamental importância, pois auxilia em processos de controle do sistema químico, ou na determinação do mecanismo de reação dos componentes envolvidos. Para definir as leis de velocidade considere uma reação geral.

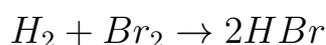


Se o mecanismo controlador da velocidade envolve a colisão ou interação de uma única molécula de A com uma única molécula de B , então o número de colisões das moléculas de A com B será proporcional a velocidade de reação. Assim a velocidade de consumo de A ou B é proporcional a taxa de colisões que conduzem à evolução da reação:

$$v_A = k[A][B] \quad (4-8)$$

sendo k definida como constante de velocidade, a constante k é independente das concentrações das espécies envolvidas, mas corresponde a uma função da temperatura.

Para reações em que a lei de velocidade apresenta mesma proporcionalidade estequiométrica da reação são denominadas reações elementares. Entretanto, se a equação cinética não apresenta correspondência direta entre a estequiometria e a velocidade, a reação denomina-se não elementar, como por exemplo, a reação entre o hidrogênio e o bromo:



esta reação apresenta a seguinte equação de lei de velocidade:

$$v(HBr) = \frac{k_2[H_2][Br_2]^{1/2}}{k_2 + [HBr]/[Br_2]}$$

As reações não elementares podem ser explicadas assumindo que a observação de uma única reação corresponde na realidade ao efeito global de uma sequência de reações elementares, sendo que as espécies intermediárias encontram-se em quantidades reduzidas.

De forma geral as leis de velocidade são frequentemente modeladas por expressões do tipo:

$$v = kC_A^a C_B^b \dots C_D^d = k \prod_{i=1}^n C_i^k$$

sendo que as potências a , b , c e d não são necessariamente relacionadas aos coeficiente estequiométricos. Estas potências são denominadas ordens de

reação. Para exemplificar, uma reação com a lei da velocidade dada pela Eq. 4-4 ($v = k[A][B]$) apresenta ordem 1 em A e B . Uma reação com a lei de velocidade $v = k[A]^2$ é dita como sendo de segunda ordem em A . A ordem global de uma reação é a soma das ordens de todos os componentes. As duas leis da velocidade citadas anteriormente ($v = k[A][B]$ e $v = k[A]^2$) correspondem a reações de segunda ordem global. As ordens de reação não são necessariamente inteiras, como ocorre na reação entre o hidrogênio e o bromo que apresenta ordem fracionária (1/2) em relação ao bromo.

As unidades das constantes de proporcionalidades (k) são definidas para que seja possível converter o produto das concentrações em uma velocidade expressa como uma variação da concentração pelo tempo. Por exemplo, se a lei de velocidade utiliza as concentrações expressas em número de moles por litro ($mol.L^{-1}$), as unidades de k serão litros por mol por segundo ($L.mol^{-1}s^{-1}$). Para reações de primeira a constante k é definida apenas como recíproco do tempo (s^{-1}). De forma geral a constante k terá unidade definidas como:

$$(\text{tempo})^{-1}(\text{concentração})^{1-n} \quad (4-9)$$

sendo n a ordem global da reação. As leis de velocidade são frequentemente estabelecidas experimentalmente e, em geral, podem ser inferidas a partir da equação química para a reação.

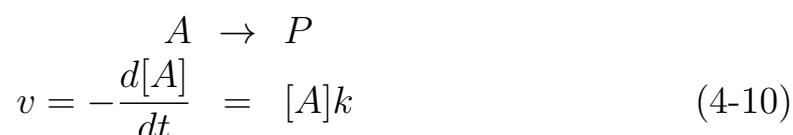
4.4 Leis de velocidade integradas

A partir da lei de velocidade integrada é possível prever a concentração de uma espécie em qualquer momento após o início da reação. A integração da velocidade permite também a determinação da constante de velocidade e da ordem da reação. Experimentalmente, as leis de velocidade raramente são medidas diretamente, pois os coeficientes angulares são de difícil determinação devido aos erros experimentais. Frequentemente, os estudos de cinética

química revelam as leis de velocidade de forma integrada e expressas em concentração e tempo.

4.4.1 Reações de primeira ordem

Para uma reação química com lei de velocidade de primeira ordem da seguinte forma;



sendo que a Eq. 4-10 corresponde a equação diferencial de primeira ordem. A Eq. 4-10 pode ser reescrita, como é mostrado a seguir:

$$\frac{d[A]}{[A]} = -kdt \quad (4-11)$$

Integrando ambos os lados e considerando os limites de integração como sendo $[A]_0$ a concentração em $t = 0$ e $[A]$ a concentração em um tempo futuro qualquer, tem-se;

$$\int_{[A]_0}^{[A]} \frac{d[A]}{[A]} = \int_{t_0}^t -kdt \quad (4-12)$$

A primeira integral apresenta uma solução do tipo:

$$\int \frac{dx}{x} = \ln(x) + Constante \quad (4-13)$$

A solução da Eq. 4-12 pode ser expressa de duas formas alternativas:

$$\ln([A]) = \ln([A]_0) - kt \quad (4-14)$$

$$[A] = [A]_0 e^{-kt} \quad (4-15)$$

A Eq. 4-15 tem a forma de um decaimento exponencial com o tempo, o que é característico das reações de primeira ordem e permite calcular diretamente e prever a concentração de A em qualquer tempo depois do início da reação. A Eq. 4-14 define uma reta com inclinação igual a $-k$, sendo esta a equação

para a sua determinação matemática. Entretanto, se os dados experimentais não fornecem uma reta para o gráfico de $\ln([A]) \times t$ o sistema químicos não obedece a uma cinética de primeira ordem.

A partir da Eq. 4-15 define-se o tempo de meia-vida, $t_{1/2}$, de um reagente, como sendo o tempo necessário para que a concentração da espécie caia à metade do seu valor inicial. Esta medida é determinada substituindo $[A] = (1/2)[A]_0$ na Eq. 4-14

$$kt_{1/2} = -\ln\left(\frac{[A]_0}{2[A]_0}\right) = \ln 2 \quad (4-16)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (4-17)$$

O tempo de meia-vida para uma reação de primeira ordem, depende apenas da constante cinética, sendo independente da concentração do reagente. Assim, se a concentração de A em um certo estágio da reação vale $[A]$, então a concentração será $1/2[A]$ após um intervalo de $(\ln 2)/k$ qualquer que seja o valor de $[A]$.

4.4.2 Reação de segunda ordem

Para as reações de segunda ordem a lei de velocidade expressa em função do reagente A tem a seguinte forma:

$$A \rightarrow P$$

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = [A]^2k \quad (4-18)$$

reestruturando a Eq. 4-18, tem-se:

$$\frac{d[A]}{[A]^2} = -kdt \quad (4-19)$$

integrando entre $t = 0$, quando a concentração de $[A] = [A]_0$, até o tempo t tem-se;

$$\int_{[A]_0}^{[A]} \frac{d[A]}{[A]^2} = \int_0^t -kdt \quad (4-20)$$

Esta integral resulta na seguinte Eq.;

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt \quad (4-21)$$

$$[A] = \frac{[A]_0}{1 + kt[A]_0} \quad (4-22)$$

Para a cinética de segunda ordem o gráfico de $1/[A] \times t$ corresponde a uma reta com inclinação igual a k . A Eq. 4-22 possibilita prever a concentração de A a qualquer instante após o início da reação, sendo que a concentração de A se aproxima de zero mais lentamente em uma reação de segunda ordem do que em uma reação de primeira ordem com a mesma velocidade inicial. O tempo de meia-vida é determinado de forma semelhante, substituindo-se $[A] = 1/2[A]_0$ na Eq. 4-22, a meia-vida de uma espécie A em uma reação de segunda ordem é dada por:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k[A]_0} \quad (4-23)$$

Portanto, ao contrário de uma reação de primeira ordem, a meia-vida de uma substância em uma reação de segunda ordem varia com a concentração inicial.

4.5 Cinética enzimática - O modelo de Michaelis-Menten

Várias abordagens são usadas para estudar o mecanismo da ação de enzimas purificadas. O conhecimento da estrutura tridimensional da proteína fornece informações importantes, e o valor da informação estrutural é intensificado pela química de proteínas clássica e por métodos modernos de mutagênese para identificação de sítios ativos. Essas tecnologias permitem examinar o papel dos aminoácidos individuais na estrutura e ação da enzima. Entretanto, a abordagem central para estudar o mecanismo de uma reação catalisada por enzima é determinar a velocidade da reação e como ela se altera em resposta as modificações nos parâmetros experimentais.

Um importante fator que afeta a velocidade de uma reação catalisada por uma enzima é a concentração do substrato, $[S]$. Entretanto, o estudo dos efeitos da concentração do substrato mostra-se complexo pelo fato que $[S]$ se altera durante o curso de uma reação *in vitro* à medida que o substrato é convertido em produto. Nos experimentos de cinética enzimática a velocidade inicial, designada V_0 , é determinada quando $[S]$ é muito maior que a concentração da enzima, $[E]$. Em uma reação típica, a enzima pode estar presente em quantidades nanomolares enquanto $[S]$ pode ser de cinco a seis ordens de magnitude maior. Se apenas o início da reação é monitorado, as alterações na concentração $[S]$ podem estar limitadas a uma pequena fração do substrato, e portanto, $[S]$ pode ser considerada como constante. V_0 pode então ser explorada como uma função da concentração de S que é ajustada de acordo com o experimento. O efeito sobre V_0 ao variar $[S]$ quando a concentração da enzima é mantida constante é mostrado na Fig. 4.1. Em concentrações relativamente baixas do substrato, V_0 aumenta quase linearmente com o aumento de $[S]$. Em concentrações de substrato mais altas, V_0 aumenta de quantidades cada vez menor em resposta ao aumento de $[S]$, gerando finalmente um platô que define a velocidade máxima, V_{max} do processo enzimático.

O padrão cinético da Fig. 4.1 proporcionou a Victor Henri propor em 1903 que a combinação de uma enzima com a sua molécula de substrato formaria o complexo ES , sendo esta uma etapa necessária para a catálise enzimática. Esta teoria foi a base para a formulação geral da ação enzimática, proposta por Leonor Michaelis e Maud Menten em 1913. Eles postularam que a enzima primeiro combina reversivelmente com seu substrato para formar um complexo enzima-substrato em uma etapa reversível relativamente rápida (Eq.

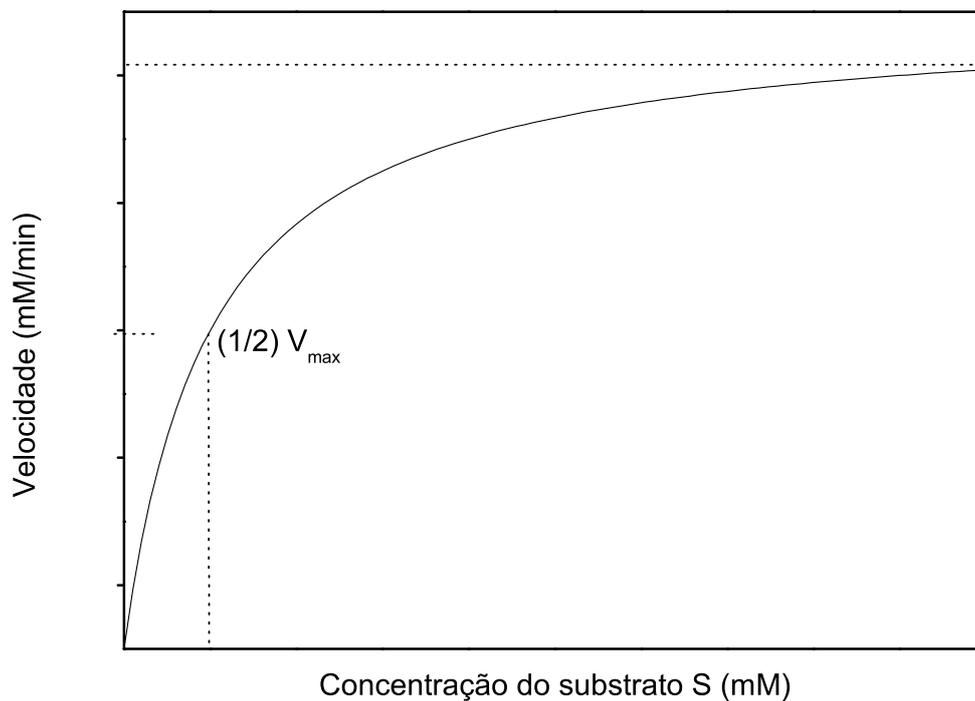
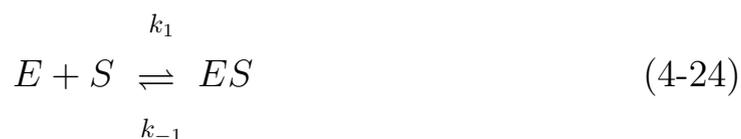


Figura 4.1: Comportamento da velocidade de uma reação catalisada por enzima de acordo com a variação da concentração do substrato.

4-24):



O complexo ES se quebra em uma segunda etapa mais lenta para produzir a enzima livre e o produto da reação P :



A segunda reação corresponde a etapa mais lenta (Eq. 4-25) que limita a velocidade da reação global, que deve ser proporcional à concentração da espécie ES .

Em qualquer instante de uma reação catalisada, a enzima existe em duas formas: a livre ou não combinada E e a combinada ES . Em uma baixa concentração de S a maior parte da enzima está na forma não combinada E . Nesta situação a velocidade é proporcional a $[S]$, pois o equilíbrio da Eq. 4-24 está direcionado para a formação do complexo ES à medida que $[S]$ aumenta. A velocidade máxima inicial da reação catalisada (V_{max}) é observada quando praticamente toda enzima estiver presente como complexo ES sendo $[E] \ll [ES]$. Nestas condições, a enzima está saturada com seu substrato, de forma que aumentos adicionais na concentração $[S]$ não tem efeito na velocidade.

Quando a enzima é misturada, primeiro com um grande excesso de substrato, há um período inicial, o estado pré-estacionário, durante o qual a concentração de ES se estabelece. Esse período é usualmente tão curto para ser facilmente observado, durando alguns microsegundos. A reação rapidamente alcança um estado estacionário, em que $[ES]$ permanece aproximadamente constante com o tempo.

4.5.1 Equação de Michaelis-Menten

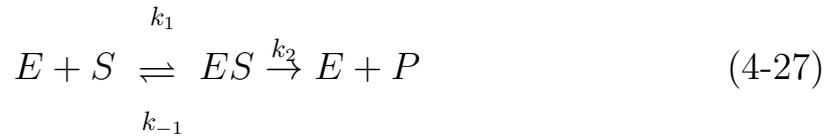
A relação entre $[S]$ e V_0 (Fig. 4.1) tem a mesma forma geral para a maior parte das enzimas, e pode ser expressa algebricamente pela equação de Michaelis-Menten, que a derivaram da hipótese básica que a etapa limitante da reação nas reações enzimáticas é a quebra do complexo ES até o produto P e a enzima livre E , dada por:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (4-26)$$

sendo k_m uma constante chamada de constante de Michaelis.

O desenvolvimento da Eq. 4-26 começa com a suposição de que a reação reserva, $P \rightarrow S$ (descrita por k_2), pode ser ignorada. Assim o processo

direto pode ser descrito quimicamente da seguinte forma:



V_0 é determinada pela quebra de ES para formar o produto, que é determinada pela concentração $[ES]$:

$$V_0 = k_2[ES] \quad (4-28)$$

Devido a limitações experimentais para a determinação da concentração $[ES]$, considere as velocidades de formação e quebra do complexo ES governadas pela constantes k_1 e k_{-1} , definidas por:

$$\text{Velocidade de formação} \Rightarrow ES = k_1([E_t] - [ES]) \times [S] \quad (4-29)$$

$$\text{Velocidade de quebra} \Rightarrow ES = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (4-30)$$

sendo $[E_t]$ a concentração total da enzima, livre e complexada. Considerando que a velocidade inicial da reação reflete um estado estacionário onde $[ES]$ é constante, as expressões acima (Eq. 4-29 e 4-30) podem ser equacionadas da seguinte forma:

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (4-31)$$

Resolvendo a Eq. 4-31 para $[ES]$, tem-se:

$$[ES] = \frac{k_1 E_t [S]}{k_1 [S] + k_{-1} + k_2} \quad (4-32)$$

Dividindo o numerador e o denominador por k_1 a Eq 4-32 torna-se:

$$[ES] = \frac{E_t [S]}{[S] + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}} \quad (4-33)$$

O termo $(k_2 + k_{-1})/k_1$ é definido como a constante de Michaelis, K_m , e a Eq. 4-34 assume a seguinte forma:

$$[ES] = \frac{E_t [S]}{K_m + [S]} \quad (4-34)$$

A expressão para V_0 (Eq. 4-28) pode ser reescrita substituindo $[ES]$ (Eq. 4-34):

$$V_0 = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]} \quad (4-35)$$

Essa equação pode ainda ser simplificada. pelo fato de a velocidade máxima ocorrer quando a enzima for saturada ($[ES] = [E_t]$), a V_{max} pode ser definida como $k_2[E_t]$. Assim a Eq. 4-35 torna-se:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (4-36)$$

Essa é a equação de Michaelis-Menten, que define a velocidade para uma reação catalisada por enzimas com um substrato. Uma relação numérica importante emerge da equação de Michaelis e Menten no caso especial quando V_0 é exatamente metade da V_{max} (Fig. 4.1):

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (4-37)$$

Dividimos por V_{max} e resolvendo para K_m , obtém-se:

$$\begin{aligned} K_m + [S] &= 2[S] \\ K_m &= [S] \end{aligned} \quad (4-38)$$

A Eq. 4-38 define o significado físico da constante K_m , como sendo equivalente à concentração de substrato quando V_0 for metade da V_{max} .

4.5.2 Parâmetros cinéticos e atividade enzimática

A equação de Michaelis-Menten não depende de um mecanismo de reação em duas etapas relativamente simples (Eq. 4-27), muitas enzimas que seguem a cinética de Michaelis-Menten apresentam mecanismos de reação complexos que podem ter diversas etapas. Embora a equação (Eq. 4-38) continue verdadeira para muitas enzimas, tanto a grandeza quanto o significado real de V_{max} e K_M podem diferir de uma enzima para outra.

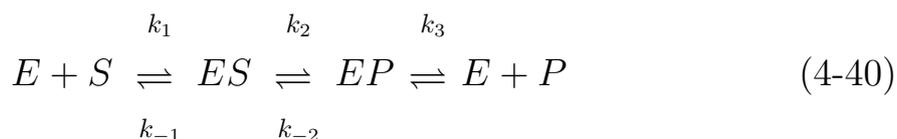
Os parâmetros V_{max} e K_m podem ser obtidos experimentalmente para qualquer enzima, entretanto estes parâmetros fornecem poucas informações sobre número, velocidade ou natureza química das etapas do processo enzimático. Entretanto a partir da cinética do estado estacionário é possível comparar e caracterizar as eficiências catalíticas das enzimas.

A constante K_m pode variar grandemente de enzima para enzima. O significado atual de K_m depende de aspectos específicos do mecanismo de reação como o número e as velocidades relativas das etapas individuais. Para reações com duas etapas, tem-se a definição de K_m :

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad (4-39)$$

Quando $k_2 \ll k_{-1}$ o valor de K_m reduz-se a k_{-1}/k_1 , que é definida como constante de dissociação (K_d) do complexo ES representando uma medida da afinidade da enzima pelo seu substrato no complexo ES . Em alguns casos $k_2 \gg k_{-1}$ e então $K_m = k_2/k_1$. Para a maior parte das enzimas k_2 e k_{-1} são comparáveis e K_m permanece como uma função das três constantes de velocidade (Eq. 4-39).

A quantidade V_{max} pode variar de forma significativa de uma enzima para outra. Se uma enzima reage por um mecanismo de Michaelis-Menten de duas etapas, $V_{max} = k_2[E_T]$, sendo k_2 a constante limitante da velocidade, entretanto, se a reação catalítica ocorre em diversas etapas, a etapa limitante pode ser diferente da etapa de formação do produto P . Por exemplo, considere a etapa de liberação produto como limitante da velocidade e definida da seguinte forma:



Nesse caso, a maior parte da enzima está na forma EP na saturação máxima e $V_{max} = k_3[E_t]$. Desta forma, define-se k_{cat} como uma constante da

velocidade mais geral que descreve a velocidade limitante de qualquer reação catalisada por enzima. Se a reação possui várias etapas e uma é claramente a etapa limitante, k_{cat} corresponde a esta constante de velocidade. Para a reação da Eq. 4-25, $k_{cat} = k_2$. Para a reação da equação da Eq. 4-40, $k_{cat} = k_3$. Quando várias etapas são parcialmente limitantes da velocidade, k_{cat} pode torna-se uma função de várias constantes de velocidade que definem cada reação individual. A equação de Michaelis-Menten (Eq. 4-35) pode ser reescrita utilizando, $k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E_t]}$;

$$V_0 = \frac{k_{cat}[E_t][S]}{K_m + [S]} \quad (4-41)$$

O valor k_{cat} corresponde a uma constante de velocidade de primeira ordem e, portanto, possui unidade da recíproca do tempo e é denominada número de renovação (em inglês *turnover number*). Fisicamente, k_{cat} equivale ao número de moléculas de substrato que se convertem em produto em certa unidade de tempo em uma única molécula de enzima saturada com o substrato.

Os parâmetros cinéticos k_{cat} e K_m são geralmente usados simultaneamente para avaliar a eficiência entre enzimas diferentes, tanto se os seus mecanismos de reação forem simples quanto complexos. Cada enzima possui valores de k_{cat} e K_m que refletem o ambiente celular, a concentração de substrato encontrada *in vivo* e a química da reação catalisada. Entretanto, qualquer parâmetro isolado é insuficiente para essa avaliação. Duas enzimas que catalisam reações diferentes podem ter o mesmo valor de k_{cat} (número de renovação), ainda que as velocidades das reações não catalisadas sejam diferentes e, portanto, os aumentos de velocidade trazidos pelas enzimas possam diferir amplamente. Experimentalmente K_m para uma enzima tende a ser semelhante à concentração celular do seu substrato. Uma enzima que age em um substrato presente em uma concentração muito baixa na célula usualmente possui K_m menor que a enzima que age em um substrato que seja mais abundante.

As eficiências catalíticas de enzimas diferentes ou números de renovação

de substratos diferentes pela mesma enzima podem ser comparados pela constante de especificidade, que corresponde à constante de velocidade para a conversão $E + S$ até $E + P$, quando $[S] \ll K_m$, nesta situação a Eq. 4-41 reduz-se para a forma:

$$V_0 = \frac{k_{cat}[E_t][S]}{K_m} \quad (4-42)$$

V_0 nesse caso depende da concentração de dois reagentes, $[S]$ e $[E_t]$; portanto, essa é uma equação de velocidade de segunda ordem k_{cat}/K_m é uma constante de velocidade de segunda ordem com unidades de $mol^{-1}Ls^{-1}$. A razão k_{cat}/K_m apresenta um limite superior, que é imposto pela velocidade pela qual E e S podem difundir-se juntos em solução aquosa, sendo este limite entre 10^8 a $10^9 mol^{-1}Ls^{-1}$. As enzimas que possuem a razão k_{cat}/K_m próxima desse intervalo são consideradas como tendo alcançado a perfeição catalítica.

4.6 A dependência das velocidades de reação em relação à temperatura

De forma geral a velocidade das reações químicas aumenta à medida que a temperatura se eleva. Esta constatação foi devidamente formalizada matematicamente pelo químico sueco Svante Arrhenius, no final do século XIX. Arrhenius observou que quase todas as velocidades de reação apresentavam semelhanças em sua dependência com a temperatura. O gráfico de $\ln(k)$, em que k é a constante de velocidade para a reação, em função de $1/T$, sendo T a temperatura absoluta em que k é medido, resultava em uma reta com coeficiente angular que é característico da reação (Fig. 4.2). A expressão matemática dessa conclusão é que a constante de velocidade varia com temperatura de acordo com a Eq. 4-44, esta expressão é normalmente denominada equação de Arrhenius:

$$\ln(k) = \ln(A) - \frac{E_a}{RT} \quad (4-43)$$

A Eq. 4-44 também pode ser expressa a partir do antilogaritmo da Eq 4-44:

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (4-44)$$

sendo o parâmetro A é denominado fator pré-exponencial e apresenta as mesmas unidades da constante k , e E_a é denominada energia de ativação e expressa em unidades de quilojoules por mol. Em conjunto, A e E_a são chamados parâmetros de Arrhenius da reação.

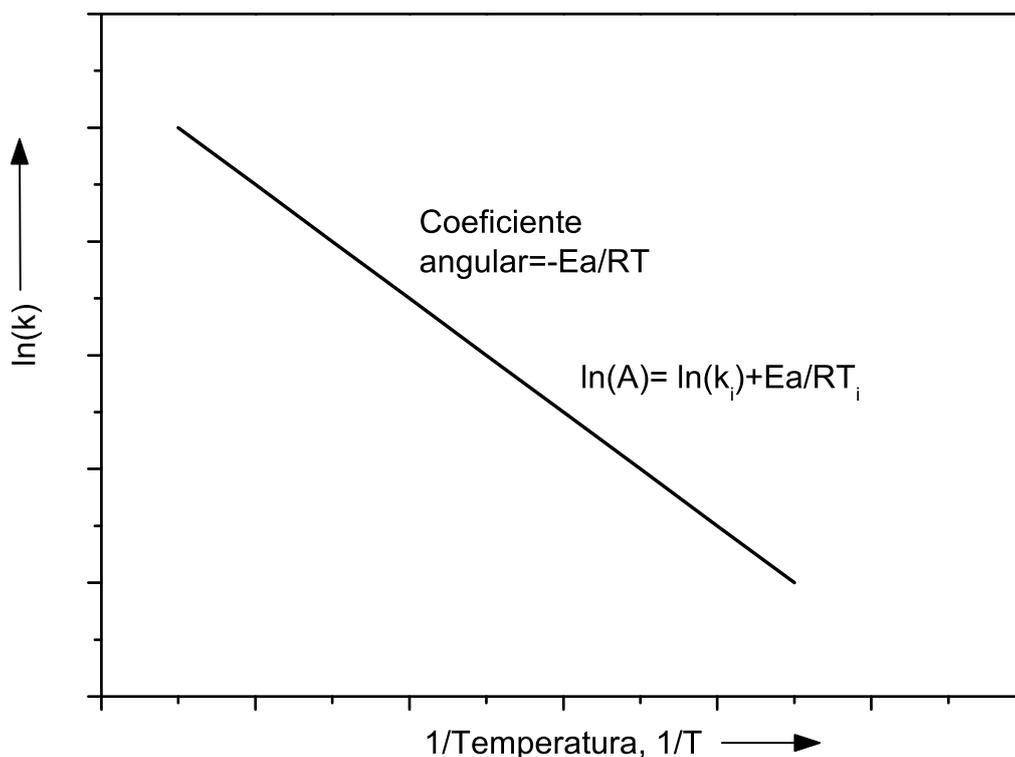


Figura 4.2: Forma geral do gráfico da Eq. de Arrhenius (Eq. 4-44)

A partir do gráfico da Fig. 4.2 é possível concluir que uma elevada energia de ativação corresponde a uma velocidade de reação que é muito sensível a temperatura, pois a curva de Arrhenius irá apresentar uma inclinação

acentuada. De modo inverso, uma pequena energia de ativação indica uma velocidade de reação que varia apenas, ligeiramente com a temperatura.

4.6.1 Interpretação dos parâmetros de Arrhenius

Para compreender o significado físico dos parâmetros de Arrhenius, considere a reação ($A + B \rightarrow C$). A energia potencial varia no decorrer de uma reação química que começa com uma colisão entre moléculas de A e moléculas de B . A medida que a reação avança, A e B entram em contato, se distorcem e trocam ou eliminam átomos. A energia potencial aumenta até um valor máximo formando um aglomerado de átomos denominado complexo de transição (Fig. 4.3). Depois do máximo, a energia potencial diminui pelo rearranjo dos átomos no aglomerado, alcançando um valor característico dos produtos. O climax da reação está no ponto mais alto da energia potencial, que corresponde a energia de ativação, E_a . Neste ponto, as moléculas dos reagentes chegam a um grau de proximidade e distorção tais que qualquer distorção adicional conduz à formação dos produtos. Esta configuração do complexo ativado é denominada estado de transição da reação.

Portanto, para que ocorra uma reação, duas ou mais moléculas de reagente devem ter energia suficiente para superar a barreira e passar pelo estado de transição. Segue-se que a energia de ativação corresponde a energia mínima que os reagentes devem ter afim de formar produtos. Por exemplo, para uma reação na fase gasosa ocorrem muitas colisões a cada segundo, mas só uma pequena proporção dessas colisões envolve energia suficiente para que ocorra a reação. Portanto, o fator exponencial na Eq. 4-44 pode ser interpretado como a fração de colisões que tem energia cinética suficiente para que a reação ocorra.

O fator pré-exponencial é uma medida da velocidade à qual as colisões ocorrem independentemente das suas energias. Logo, o produto entre fator pré-exponencial e $e^{-E_a/RT}$, fornece a velocidade das colisões que têm energia suficiente para a formação de produtos.

Um catalisador é uma substância que fornece um caminho de reação

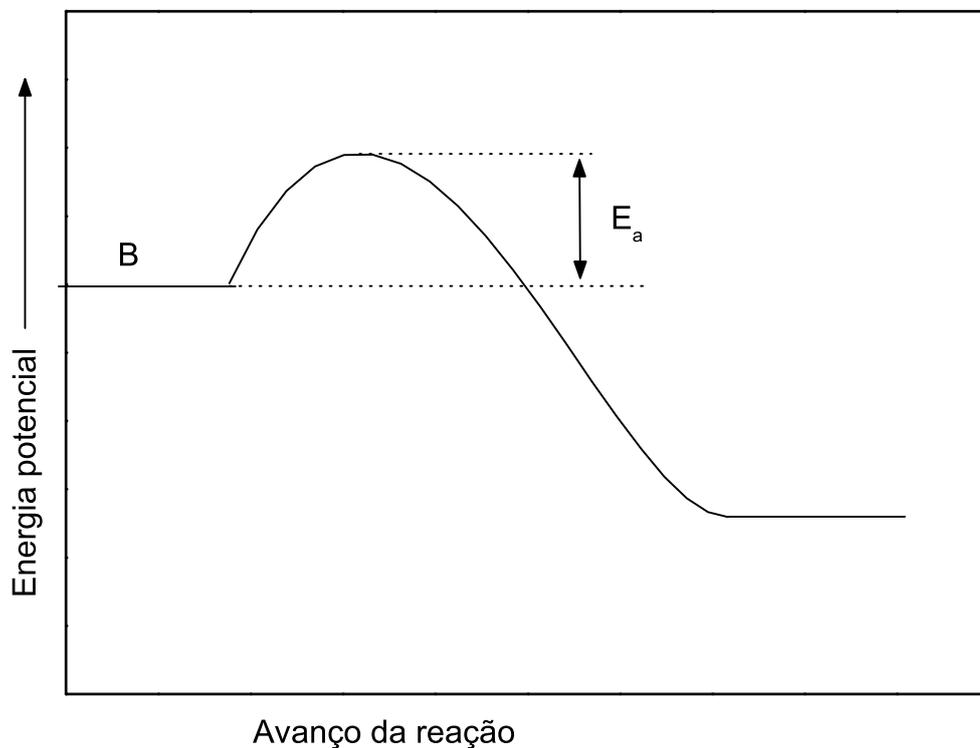


Figura 4.3: Perfil de energia potencial para uma reação exotérmica e energia de ativação (E_a).
 alternativo e energeticamente mais favorável para uma reação. O catalisador diminui a energia de ativação da reação estabilizando o estado de transição da reação. Catalisadores podem ser muito eficientes; por exemplo, a energia de ativação para a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em solução é $76kJmol^{-1}$ sendo uma reação lenta à temperatura ambiente. Entretanto, quando são adicionados íons iodeto, a energia de ativação cai para $57kJmol^{-1}$.

Se o fator pré-exponencial for considerado constante, a adição do catalisador na constante de velocidade pode ser descrita pela seguinte relação [33, 34]:

$$\begin{aligned}
 \frac{k_{catalisada}}{k_{n\tilde{a}o\ catalisada}} &= \frac{Ae^{(-E_{a,catalisada}/RT)}}{Ae^{(-E_{a,n\tilde{a}ocatalisada}/RT)}} & (4-45) \\
 &= e^{-(E_{a,catalisada}-E_{a,n\tilde{a}ocatalisada})/RT} \\
 &= e^{\left(\frac{19kJmol^{-1}}{8.145 \times 10^{-3}kJK^{-1}mol^{-1} \times 298K}\right)} = 2.1 \times 10^3
 \end{aligned}$$

As reações catalisadas por enzimas são extremamente específicas e podem ser aceleradas de forma significativa. Para o exemplo acima descrito, a enzima catalase reduz a energia de ativação da reação de decomposição do peróxido de hidrogênio para $8kJmol^{-1}$ correspondendo a uma aceleração da reação por um fator de 10^{15} a 298K [34].

Parte II

Implementação e resultados

Capítulo 5

Determinação de rotas químicas

5.1 Sistema de simulação e determinação de rotas químicas e/ou metabólicas

O sistema implementado é constituído por dois módulos distintos: modulo de simulação cinética e modulo de otimização. O primeiro módulo corresponde a uma rede de Petri funcional, que apresenta transições temporizadas. O segundo módulo corresponde ao algoritmo genético, que pode otimizar simultaneamente a topologia da rede de Petri para simulação cinética e os parâmetros cinéticos que determinam a taxa de ativação de cada transição. A estrutura geral do sistema é apresentada na Fig 5.1. O processo de inferência da rede de petri pode ser realizado utilizando o formalismo matricial ou o formalismo de predicados, ambos descritos no Capítulo *Redes de Petri*. O sistema implementado utiliza dados de concentração por tempo dos reagentes e produtos envolvidos no processo químico. A partir destes dados, o sistema (Fig. 5.1) determina a rota química e os parâmetros cinéticos das reações envolvidas. Para dados de concentração em uma mesma temperatura os parâmetros cinéticos se restringem a constante cinética, entretanto se os dados de concentração estiverem relacionados simultaneamente com variações de temperatura, o GA pode otimizar os parâmetros de Arrhenius (E_a - Energia de ativação e A - Fator de frequência).

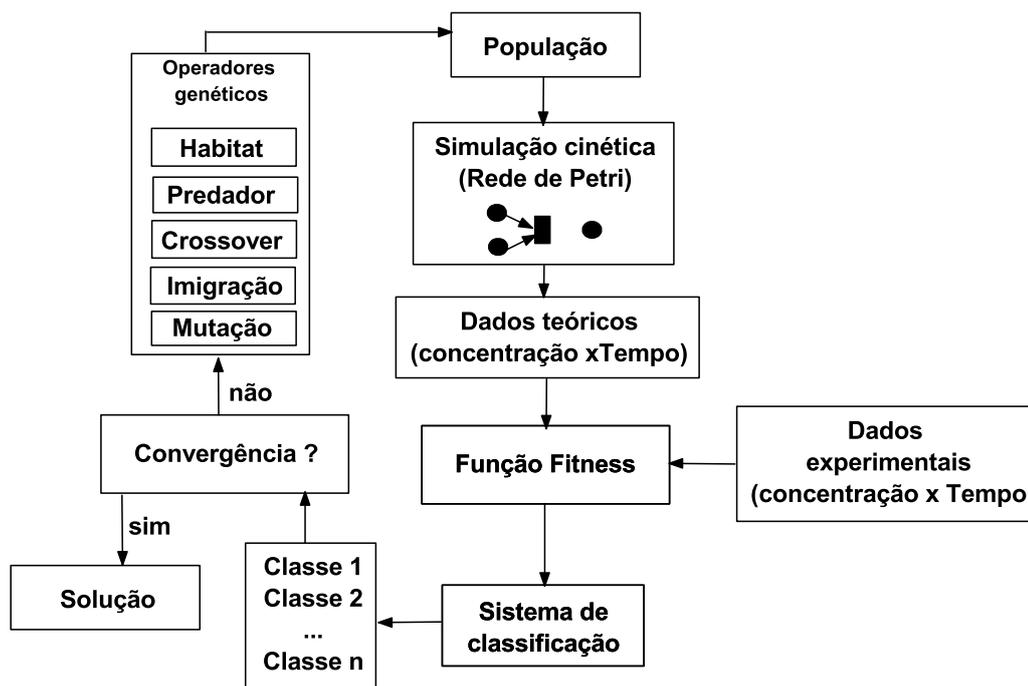


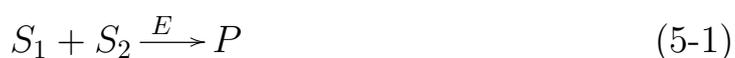
Figura 5.1: Estrutura do sistema computacional implementado que utiliza redes de Petri para simula o de processos cinéticos e o algoritmo genético para otimiza o do comportamento cinético.

5.1.1 Sistema de simula o cinética

A formula o matemática tradicional para processos cinéticos envolvem sistemas de equa es diferenciais [4–6, 35]. Tais sistemas envolvem diversas constantes cinéticas derivadas das constantes definidas por rea es individuais. As redes de Petri correspondem a uma formula o alternativa para descrever sistemas discretos. A simula o de rotas químicas pode ser naturalmente associada ao modelamento de uma rede de Petri, pois esta permite a descri o de eventos concorrentes e/ou em série, assim como nos processos químicos existem rea es que competem pelo mesmo reagente, ou cadeias de rea es em série. As redes de Petri ainda apresentam uma descri o gráfica intuitiva, elevando assim o seu potencial de aplica o como técnica de simula o de processos cinéticos.

A rede se Petri implementada para a simulação de processos cinéticos utiliza o formalismo da redes de Petri funcionais. Para este formalismo cada conexão da rede está associada a uma função que define a taxa de variação do conteúdo de cada lugar. A rede implementada também é caracterizada pela associação temporal de cada transição, assim, para cada ciclo de simulação o tempo avança com uma taxa constante (Δt). Para a simulação de processos cinéticos a função de cada conexão é definida como a equação de velocidade da respectiva reação individual. O comportamento global de um dado reagente ou produto é obtido pela evolução temporal da rede, assim todas as influências devidas a reações concorrentes e/ou em série serão obtidas a partir da evolução de todas as transições de uma rede com topologia adequada ao sistema químico.

Para a rede de Petri desenvolvida cada lugar representa um reagente ou produto e cada transição corresponde a uma reação. Para as reações que apresentam catalisadores associados, tais como enzimas, para cada transição existe um lugar específico para alocação destes catalisadores. A conexão entre os lugares que representam os catalisadores e as respectivas reações tornam a rede de Petri implementada não pura (pág. 28), pois a transição referente a reação extrai parte do catalisador para execução da reação e imediatamente após o período de execução da reação a mesma quantidade do catalisador utilizada na reação é devolvida para o lugar referente ao catalisador. O preenchimento dos lugares (filhas) é realizado pela definição de concentração de cada reagente ou produto. Para ilustrar a construção de uma rede de petri funcional para simulação de processo metabólicos, considere a seguinte reação catalisada pela enzima E (Eq. 5-1:



esta reação contém dois substratos (S_1 e S_2), que reagem para formar o produto (P), a representação gráfica para a simulação desta reação pode ser

ilustrada na Fig 5.2. O valor de Δt é ajustado de acordo com a frequência de dados registrada na base de referência, para a simulação de rotas metabólicas Δt corresponde a $1 \times 10^{-4}s$, enquanto que para a simulação de dados termogravimétricos o intervalo temporal é de 1 minuto.

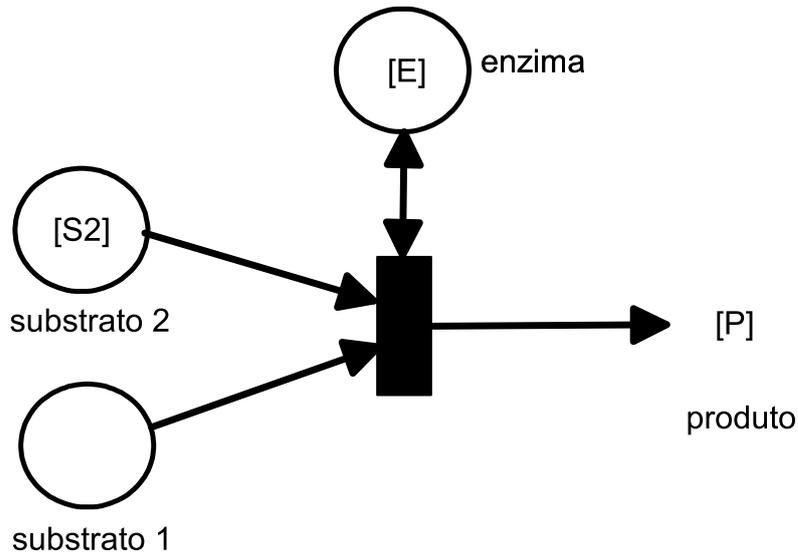


Figura 5.2: Modelo de rede de Petri para um processo biocatalítico com dois substratos e um produto.

Matematicamente as matrizes *Pre* e *Post* (pág 26) para a rede de Petri da Fig. 5.2 tem dimensão 1×4 e podem ser definidas da seguinte forma:

$$Pre = \begin{vmatrix} v(S_1)\Delta t \\ v(S_2)\Delta t \\ v(E)\Delta t \\ 0 \end{vmatrix} \quad (5-2)$$

$$Post = \begin{vmatrix} 0 \\ 0 \\ v(E)\Delta t \\ v(P)\Delta t \end{vmatrix} \quad (5-3)$$

O vetor **M** tem 4 elementos que definem as concentrações de cada metabólito

da reação Eq. 5-1:

$$\mathbf{M} = \begin{vmatrix} [S_1] \\ [S_2] \\ [E] \\ [P] \end{vmatrix} \quad (5-4)$$

A evolução temporal de cada metabólito é descrita pela Eq. 3-7 (pág 30) da rede de Petri.

$$\mathbf{M}'(p) = \mathbf{M} + (-Pre(t) + Post(t)) = \mathbf{M} + C(t) \quad (5-5)$$

$$\begin{vmatrix} [S_1] \\ [S_2] \\ [E] \\ [P] \end{vmatrix}' = \begin{vmatrix} [S_1] \\ [S_2] \\ [E] \\ [P] \end{vmatrix} + \begin{vmatrix} v(S_1)\Delta t \\ v(S_2)\Delta t \\ v(E)\Delta t \\ 0 \end{vmatrix} - \begin{vmatrix} 0 \\ 0 \\ v(E)\Delta t \\ v(P)\Delta t \end{vmatrix} \quad (5-6)$$

Para cada instante de simulação da rede de Petri, os valores dos lugares são recolhidos e armazenados, ao final da simulação a rede de Petri fornece o perfil de concentração por tempo para todos os reagentes e produtos envolvidos na rota química. Estes resultados são utilizados pelo sistema de otimização como será apresentado na seção a seguir.

5.2 Sistema de otimização

O sistema de otimização e parametrização implementado nos estudos desenvolvidos no presente trabalho corresponde a um sistema híbrido que contém as diretrizes de otimização dos algoritmos evolutivos associado à técnica de controle fornecida pela lógica nebulosa e a técnicas de classificação de dados por agrupamento. A técnica de classificação corresponde à realização de agrupamentos por distância mínima ou por similaridade. A lógica fuzzy é utilizada para controlar os operadores genéticos crossover [3, 12], mutação

[12, 18], predador, imigração e habitat. A Fig. 5.3 mostra a estrutura do algoritmo genético desenvolvido que tem a capacidade de encontrar múltiplas soluções para sistemas complexos.

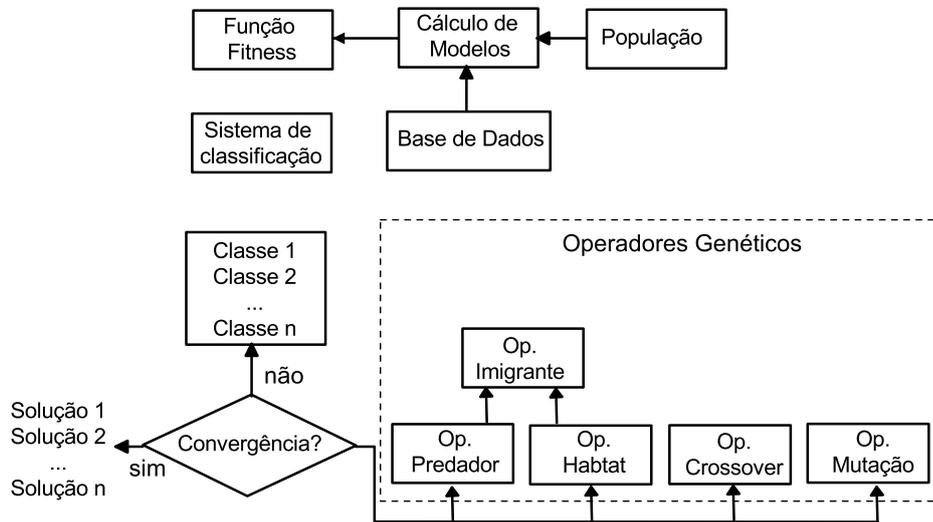


Figura 5.3: Estrutura geral do algoritmo genético implementado.

O sistema de otimização é iniciado com a construção dos indivíduos da população inicial. A informação genética de cada indivíduo é utilizada por modelos de geração de dados. Neste trabalho a Rede de Petri assume a função de modelo que traduz a informação genética dos indivíduos em dados cinéticos de concentração por tempo. Assim, cada indivíduo corresponde a uma rede de Petri que será processada e avaliada de acordo com a capacidade de reprodução dos dados experimentais (concentração por tempo) ou dados de referência. De acordo com a seção anterior, a rede de Petri é definida a partir das matrizes Pre e $Post$, sendo que a quantidade de linhas corresponde à quantidade de espécies químicas envolvidas no processo cinético, enquanto que a quantidade de colunas é definida como a quantidade de reações presentes no sistema químico. Para o processo de otimização de rotas químicas, a quantidade de transições também é incluída como variável para o sistema de otimização (AG). Para cada elemento das matrizes Pre ou $Post$ são definidas duas variáveis:

Participação do composto na reação e constante cinética da reação. Se os parâmetros de Arrhenius também forem otimizados, a constante cinética é substituída por duas outras variáveis, sendo estas: E_a que corresponde a energia de ativação e A fator pré-exponencial. O algoritmo genético não apresenta qualquer tipo de restrição para a quantidade de propriedades a serem otimizadas, bastando unicamente que todas as variáveis estejam presentes na equação de definição da velocidade da reação, pois caso contrário, a variável não apresentará participação no processo de otimização.

A descrição detalhada de cada bloco (Fig. 5.3) que forma o AG desenvolvido será apresentada nas seções a seguir, incluindo a descrição de cada operador genético e dos controladores fuzzy que ativam ou desativam cada operador genético. O AG desenvolvido foi totalmente estruturado em módulos que podem ser substituídos com facilidade para se adequar à necessidade do problema a ser estudado. O sistema de codificação pode utilizar a notação binária, real ou strings alfanuméricas. Para que a aplicabilidade do AG seja maximizada, cada operador genético apresenta versões diferenciadas para a manipulação dos diferentes modos de codificação. O sistema de classificação é baseado em técnicas de clusterização de dados, sendo que a similaridade dos dados pode ser avaliada através da distância euclidiana ou por comparação (alinhamento) [36, 37] dos strings que compõem os indivíduos da população.

5.2.1 Codificação binária e real

A codificação binária utiliza *strings* contendo 0 ou 1 para representação de genes. A coleção de genes define o cromossomo e portanto a solução do sistema é composta por listas de strings. Para converter um *string* binário para um valor real, inicialmente é necessário definir o intervalo de conversão, que corresponde ao espaço de busca do AG.

A conversão de um *string* binário $\langle b_0, b_1, b_2 \dots b_n \rangle$ para um número

real x em um intervalo $[x_1, x_2]$ pode ser apresentado em dois passos para uma melhor compreensão [13, 14]:

- Converter o *string* $\langle b_0, b_1, b_2 \dots b_n \rangle$ que está na base 2 para a base 10:

$$\langle b_0, b_1, b_2 \dots b_n \rangle = \sum_{i=0}^n b_i \times 2^i = x'$$

- O número real(x) é definido no intervalo $[x_1, x_2]$ é dado por:

$$x = x_1 + x' \times \frac{x_2 - x_1}{2^n - 1}$$

O tamanho do *string* define a precisão do valor de x , sendo necessário 3,3 bits para cada algarismo significativo [12, 13].

O conjunto de valores que formam o cromossomo também pode ser gerado diretamente por meio de uma função randômica com distribuição uniforme. Neste caso, primeiramente, é gerado um valor aleatório (x'') dentro do intervalo $[0, 1]$, em seguida o valor de x é calculado a partir da seguinte expressão:

$$x = x_1 + x'' \times |x_2 - x_1|$$

O AG pode operar com a codificação binária ou real, sendo que os resultados são indistinguíveis, portanto o critério de escolha para o tipo de codificação esta relacionada principalmente a natureza do problema e ao tipos de operadores genéticos empregados, sendo que para a codificação binária existe uma variedade maior de operadores do tipo crossover e mutação.

Existem outras formas de codificação de informações para algoritmos genéticos, tais como codificação em ponto flutuante e codificação por permutação. Estes métodos de codificação não foram implementados, pois teoricamente fornecem os mesmos resultados, se comparados as codificações em *strings* binárias ou em números decimais.

5.2.2 Função de aptidão *Fitness*

A avaliação de cada indivíduo (A_i) em um algoritmo evolutivo é realizada pela função *fitness*,

$$\Phi : A_i \rightarrow \mathbb{R} \quad (5-7)$$

O objetivo do sistema de otimização pode ser maximizar ou minimizar o valor da função *Fitness*. O processo de modificação da população é diretamente dependente de quanto a função *Fitness* é eficiente em descrever qual indivíduo realmente é mais adaptado. A função *Fitness* deve refletir uma regularidade dentro do espaço de busca, sempre privilegiando as melhores soluções, para que a estratégia de busca não entre em um conflito, devido ao comportamento irregular da função *fitness*. Através da função *fitness* os operadores genéticos serão guiados, dando maior probabilidade de perpetuação aos indivíduos que melhor satisfazem os objetivos do processo de otimização.

A função *fitness* padrão será minimizada e será definida como [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = g(f(a_i(t))) \quad (5-8)$$

sendo que $a_i(t)$ representa o próprio indivíduo ou a informação que este codifica, a função $f(\cdot)$ está relacionada diretamente com a propriedade medida e será denominada função objeto, como por exemplo função de energia potencial, função erro, logaritmo do erro, ou rede de Petri.

Para que o sistema não seja influenciado por questões de escala, ou deslocamento de faixas dos valores da função objeto, esta pode ser normalizada, ($f_N(a_i)$), por meio da Eq. 5-9 abaixo [14]:

$$f_N(a_i) = \frac{f_{min}^t + f(a_i)}{f_{max}^t - f_{min}^t} \quad (5-9)$$

sendo que f_{min}^t e f_{max}^t correspondem respectivamente aos valores mínimo e máximo da função objeto na geração t . Existem outras formas de normalização,

como por exemplo, a função sigmoide, que apresenta um limite inferior e superior de saturação, esta função também é utilizada em processos de controle nebuloso como foi explicado na secção anterior (*Teoria geral da lógica fuzzy*). A normalização da função objeto por meio de uma sigmoide é definida por [3]:

$$F_{sig}(a_i) = \frac{1}{1 + e^{-\alpha(f(a_i)-c)}} \quad (5-10)$$

sendo que α define a inclinação da sigmoide e c corresponde ao ponto de corte $\mu_A(x) = 0.5$.

Em problemas de minimização global a função *Fitness* (Eq. 5-11) pode ser definida por [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = f_{max} - f(a_i(t)) \quad (5-11)$$

sendo, $f(a_i(t))$ a função objeto para o indivíduo i . Entretanto se o valor f_{max} não é conhecido a Eq. 5-11 pode ser modificada para:

$$\Phi(a_i(t)) = f_{max}^t - f(a_i(t))$$

sendo que o valor de f_{max} global foi trocado para o valor máximo da função objeto em cada geração, ou seja, f_{max}^t .

Outro tipo de função *fitness* é [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = \frac{1}{1 + f(a_i(t)) - f_{min}^t} \quad (5-12)$$

sendo, f_{min}^t o valor mínimo da função objeto na geração t . Para problemas de maximização a Eq. 5-12 pode ser alterada para [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = \frac{1}{1 + f_{max}^t - f(a_i(t))} \quad (5-13)$$

Outras formas de representar a aptidão podem ser geradas, por exemplo, a partir de uma função *fitness* escalonada definida como [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = \alpha f(a_i(t)) - \beta(t) \quad (5-14)$$

sendo que o parâmetro α vale +1 para problemas de maximização e -1 para problemas de minimização, a função $\beta(t)$ é uma penalidade atribuída em função

das n gerações que já passaram. Esta função impede que o valor da função *Fitness* sofra alterações repentinas que são geradas por alterações pontuais na população. O valor de $\beta(t)$ corresponde a uma média móvel dos piores valores da função objeto:

$$\beta(t) = \delta\beta(t-1) + (1-\delta)f_{pior}^t$$

Outra forma de suavizar a função *fitness* consiste em relacionar a média da função objeto, \bar{f} , e o desvio-padrão, $\sigma(t)$, dado por [14]:

$$\Phi(a_i(t)) = \begin{cases} f(a_i(t)) - (\bar{f}^t - c\sigma(t)) & \text{se } f(a_i(t)) > (\bar{f}^t - c\sigma(t)) \\ 0 & \text{caso contrário} \end{cases} \quad (5-15)$$

sendo, c uma constante, que para o valor igual a 2, faz com que a Eq. 5-15 cubra aproximadamente 95% do espaço de decisão. Para este último modelo de função *fitness*, a pressão seletiva torna-se efetiva quando a população converge uniformemente, pois as flutuações causadas por indivíduos fora da área de distribuição não anuladas.

Para a aplicação direta do sistema de otimização para rotas químicas e parâmetros cinéticos a função *fitness* (Eq. 5-16) é definida como função desvio, que corresponde a diferença entre as concentrações calculadas em cada tempo e as respectivas concentrações de referência:

$$\Phi(a_i(t)) = \sum_{i=1}^n \sum_{t=1}^T \frac{|C_{i,calc}(t) - C_{i,exp}(t)|}{nT} + L \quad (5-16)$$

sendo, n a quantidade de compostos presentes no sistema químico, T corresponde ao tempo total da simulação, $C_{i,calc}(t)$ é a concentração calculada pela rede de Petri do composto i no tempo t , e $C_{i,exp}(t)$ é a concentração experimental ou concentração de referência do composto i no tempo t . O valor L corresponde a uma penalidade atribuída aos indivíduos que geram reações paralelas que contém os mesmos reagentes, produtos e constantes cinéticas. Para demonstrar a importância da inclusão da penalidade L na

função fitness, considere as redes de Petri da Fig. 5.4, para a sequência de reações $A + B \rightarrow C \rightarrow D$. A Fig. 5.4A apresenta uma transição para cada reação, enquanto que a rede de Petri da Fig. 5.4B contém uma transição a mais (t_2) para a primeira reação. Se a transição (t_2) não descreve um mecanismo cinético diferente da transição (t_1) ela se torna dispensável, pois uma rede equivalente apresenta a mesma capacidade de reprodução de dados, contendo uma quantidade inferior de transições. Para o processo de otimização a rede Fig. 5.4B apresenta um valor de aptidão superior, favorecendo a sua eliminação da população de indivíduos.

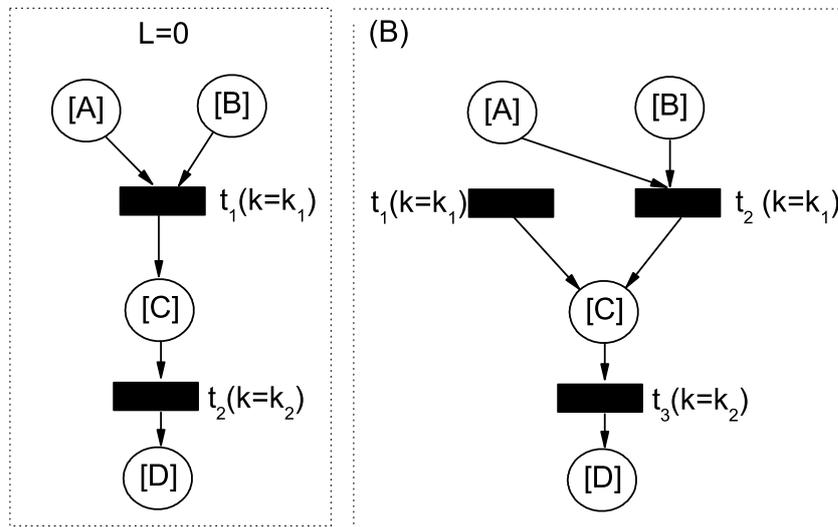


Figura 5.4: Exemplo de critério de definição da penalidade L .

5.2.3 Sistema de classificação

A cada geração do AG, os indivíduos são agrupados em classes definidas de acordo com a distância euclidiana ou através da similaridade entre os *strings*. A distância euclidiana pode ser definida por [38]:

$$D_{ij} = \|\vec{V}_i - \vec{V}_j\| = \sqrt{(\vec{V}_i - \vec{V}_j)^T \cdot (\vec{V}_i - \vec{V}_j)} \quad (5-17)$$

sendo V_i e V_j os vetores contendo as informações dos indivíduos i e j .

Para uma comparação utilizando a distância euclidiana, dois indivíduos estarão muito próximos quando $\lim_{V_i \rightarrow V_j} D_{ij} = 0$, ou seja, o valor de D_{ij} deve ser minimizado para aproximar dois indivíduos. Entretanto, o conceito de similaridade atribui a maximização das semelhanças de dois indivíduos, e para que o sistema de classificação possa ser unificado a definição de similaridade será dado por [36, 37]:

$$S_{ij} = T - \sum_{k=1}^T s_k(i, j) \quad (5-18)$$

$$s_k(i, j) = 1 \quad \text{se } i = j$$

$$s_k(i, j) = 0 \quad \text{se } i \neq j$$

sendo, T o tamanho do string analisado, ou seja, a quantidade de símbolos ou bits que o *string* contém, $s_k(i, j)$ é uma função pulso, onde o valor 1 é retornado se os indivíduos i e j são iguais.

Para que todas as possíveis classes sejam contempladas, cada elemento da população é considerado como protótipo para formação de uma classe. Embora todos os indivíduos possam gerar pelo menos uma classe, serão considerados apenas os agrupamentos que tiverem dois ou mais elementos. A criação de uma classe será efetiva quando os indivíduos envolvidos apresentarem uma distância (D_{ij}) menor ou igual a 1% do espaço de busca normalizado [38]. O processo de seleção das melhores soluções ocorre somente para os indivíduos que se adequam a expressão $(\Phi(a_i) < \langle \Phi \rangle - \sigma_\Phi)$. O restante da população é agrupado em classes de acordo com a distância mínima (Eq. 5-17).

5.2.4 Operadores genéticos

O processo de evolução natural submete os seres vivos ao procedimento de seleção que pode ocorrer através da eliminação dos indivíduos menos

adaptados por meio de predadores ou morte natural (doenças e velhice) ou ao favorecimento dos indivíduos mais adaptados através principalmente do processo de reprodução que pode ser intensificado pela longevidade do indivíduo. Portanto, o processo de reprodução é favorecido em populações com elevado índice de adaptação enquanto que o processo de mutação torna-se mais favorável em populações com baixo índice de adaptação. A partir deste raciocínio inicial o algoritmo genético desenvolvido apresenta associação com a teoria de controladores fuzzy que determinarão qual a taxa de execução de cada operador genético a cada geração. Na estrutura do AG foram adicionados também os seguintes operadores: predador, imigração e habitat. Cada controlador fuzzy determina a probabilidade de execução dos operadores genéticos sobre um ou mais indivíduos. As funções de pertinência são calibradas a cada geração, para os operadores: predador, crossover, mutação e imigração dependem da distribuição normal dos valores da função *fitness*. Os controladores utilizam a média da função *fitness* na população ($\langle\Phi\rangle(a_i)$) e o desvio padrão da função *fitness* (σ_Φ). O operador habitat apresenta uma dependência com a distância euclidiana ou com a similaridade entre os indivíduos analisados. Enquanto o operador genético imigração depende da atividade dos operadores predador e habitat através da quantidade de indivíduos eliminados da população (N_{el}). A descrição dos operadores genéticos foi realizada para problemas de minimização, assim como todas as funções *Fitness*, $\Phi(a_i(t))$, apresentadas anteriormente.

5.2.4.1 Operador Predador

O operador predador elimina indivíduos da população de acordo com a probabilidade de eliminação, definida pela função de pertinência (Eq.5-19), que corresponde a uma função sigmoideal aberta para a direita (Fig. 5.5):

$$P_{pre}(\Phi(a_i)) = \frac{1}{1 + e^{\frac{1}{\sigma_\Phi} \times (\Phi(a_i(t)) - \langle\Phi\rangle + \sigma_\Phi)}} \quad (5-19)$$

sendo que $\Phi(a_i)$ é o valor da função *fitness* para o indivíduo analisado i , $\langle \Phi \rangle$ é a média da função *fitness* e σ_Φ o desvio padrão da função *Fitness*. O gráfico ilustrativo para a Eq. 5-19 é mostrado na Fig. 5.5. A atividade do operador predador é maior quanto maior a função *fitness*, maior a probabilidade de o indivíduo ser eliminado da população, ou quanto mais desfavorável for a aptidão do indivíduo maior a probabilidade de ser eliminado da população. Para cada indivíduo na população é selecionado um número aleatório (r) entre 0 e 1. Se $P_{pre}(a_i(t)) > r$ o indivíduo será eliminado da população.

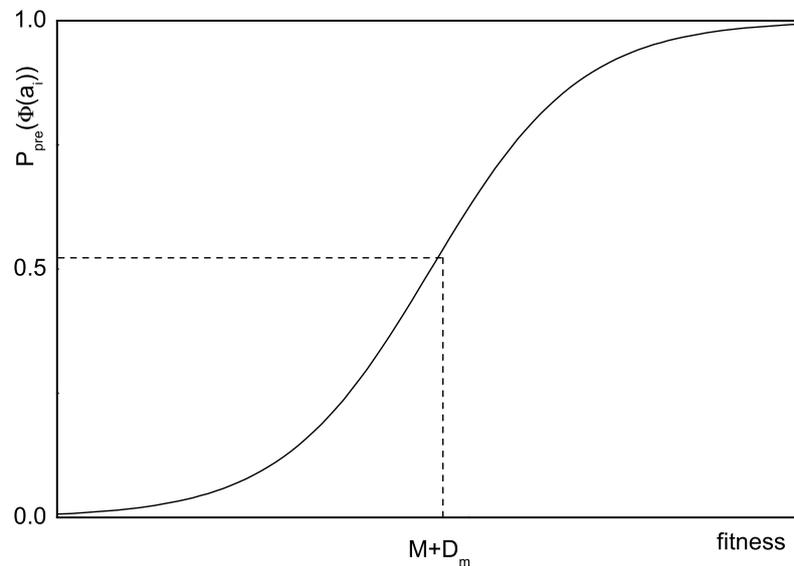


Figura 5.5: Função de pertinência para o operador predador.

5.2.4.2 Operador Habitat

O algoritmo genético desenvolvido tem a capacidade de encontrar múltiplas soluções que geram soluções equivalentes ou que satisfazem critérios de aceitabilidade. Para que o maior número de soluções possíveis seja

encontrado, o operador habitat garante que a população não irá convergir para uma única solução. Sempre que um indivíduo estiver muito próximo de outro, ocorrerá um aumento na probabilidade de execução de um torneio (P_{hab}), governada pela função sigmoide (Eq. 5-20), ilustrada pela Fig. 5.6, que relaciona o grau de proximidade ou similaridade de dois indivíduos. Neste torneio a probabilidade de eliminação (Eq. 5-20) é utilizada para definir qual indivíduo está mais adaptado e conseqüentemente terá menor probabilidade de ser retirado da população [13]. O operador habitat outorga a cada indivíduo a responsabilidade de otimizar uma região do espaço de busca que apresenta formato esférico. A função fuzzy desenvolvida para este operador é modelada por:

$$P_{hab}(R_{ij}) = \frac{1}{1 + e^{(-R_{ij} + R_m)}} \quad (5-20)$$

sendo que a variável R_{ij} define a distância euclidiana entre dois indivíduos, ou a similaridade (Eq. 5-18), R_m é a distância mínima permitida para dois indivíduos, e pode ser estimada como a soma dos erros (ou imprecisão) de cada dimensão otimizada.

5.2.4.3 Operador Imigração

O operador imigração cria novos indivíduos aleatórios em regiões ainda não exploradas pela população, este operador diminui a degenerescência da população e evita a convergência prematura do algoritmo genético. A quantidade de indivíduos criados (N_{imi}) é definida pela Eq. 5-21 (sigmóide aberta para a direita) e corresponde a metade dos indivíduos eliminados pelos operadores predador e habitat (N_{ph}) multiplicado pela probabilidade de execução do operador imigrante [12, 39]. Com o decorrer das gerações a população torna-se mais adaptada e conseqüentemente a quantidade de novos indivíduos adicionados à população torna-se menor. A partir da geração em que operador imigração não consegue definir a criação de nem mesmo um indivíduo,

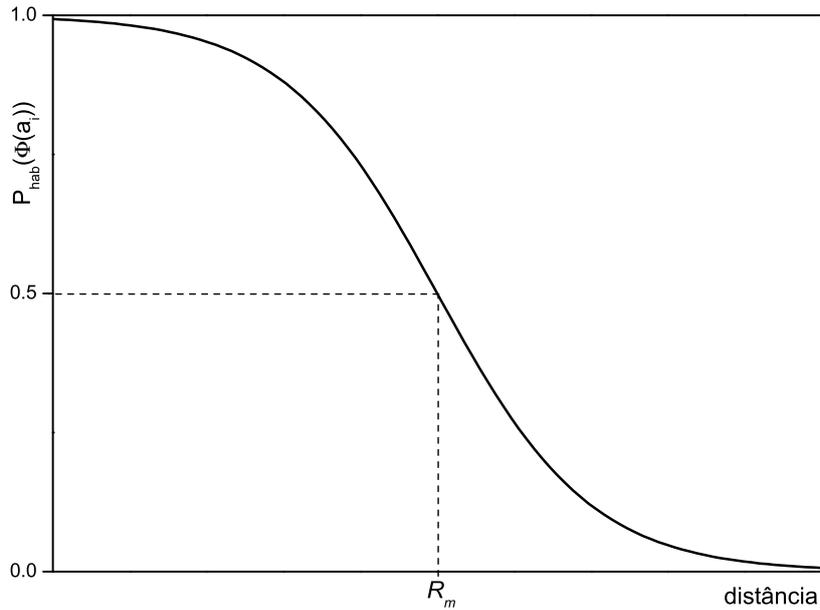


Figura 5.6: Função de pertinência para o operador habitat.

a população torna-se fechada para a entrada de imigrantes e a estratégia do AG passa a ser direcionada para otimização dos indivíduos presentes, pois novos pontos de busca não são mais criados. Esse procedimento pode ser formalmente expresso por:

$$N_{imi}(N_{ph}) = \frac{N_{ph}}{2 \left(1 + e^{\frac{1}{\sigma_{\Phi}} \times (\langle \Phi \rangle - A_i)} \right)} \quad (5-21)$$

sendo N_{ph} a quantidade de indivíduos eliminados pelos operadores predador e habitat, $\langle \Phi \rangle$ é o valor médio da função *Fitness*, σ_{Φ} corresponde ao desvio padrão da função *fitness* e o parâmetro A_i define o valor de ativação do operador imigração e corresponde ao valor limite para a função *fitness* onde o operador começa a perder expressividade, pois a população encontra-se bem adaptada. O valor A_i é definido como sendo o dobro do valor de aptidão global ou parcial em problemas de minimização, ou a metade de $\langle \Phi \rangle$ em problemas de maximização.

Para que seja garantida a busca em regiões não exploradas, cada

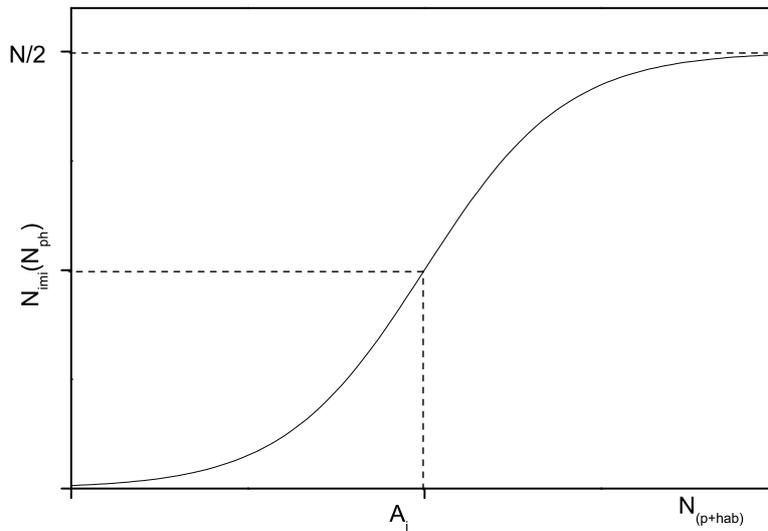


Figura 5.7: Função de pertinência para o operador imigração.

indivíduo criado é comparado com os indivíduos mais adaptados e se o novo indivíduo for muito próximo ou muito similar, este não é adicionado à população e um novo indivíduo é gerado. O limite de proximidade é definido como sendo 50% de similaridade ou o dobro do valor de R_m utilizado pelo operador habitat. Estes valores foram selecionados por corresponderem ao limite mínimo em que o operador imigração não influencia no operador habitat. Desta forma o operador imigração fica impedido de gerar indivíduos que possam competir com as soluções mais adaptadas, retirando assim a possibilidade de uma solução ser encontrada fortuitamente.

5.2.4.4 Operador Crossover

O operador crossover básico, implementado por Holland (1975), consiste selecionar uma posição de corte em dois indivíduos e finalmente realizar a troca entre as partes dos indivíduos, este procedimento, denominado crossover de ponto simples é ilustrado na Fig. 5.8. Outra versão do operador crossover

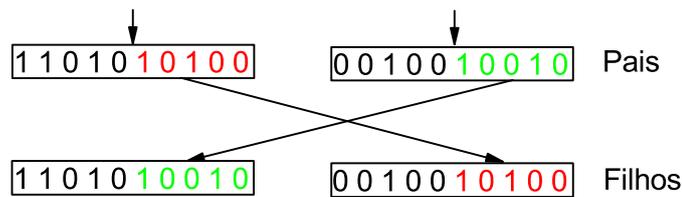


Figura 5.8: Operador crossover de ponto simples.

insere dois pontos de corte (crossover de ponto duplo) no cromossomo, aumentando desta forma a variabilidade dos descendentes gerados, visto que esta é fundamental para que todo o espaço de busca entre os indivíduos possa ser pesquisado. Desta forma o operador crossover uniforme apresenta a maior variabilidade possível, sendo que a permutação dos bits é realizada ponto-a-ponto de forma aleatória, como pode ser exemplificado na Fig. 5.10.

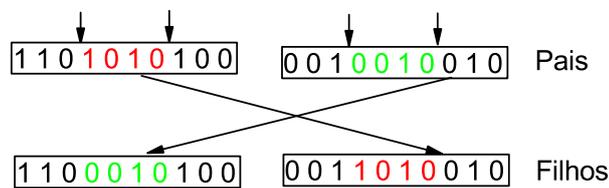


Figura 5.9: Operador crossover de ponto duplo.

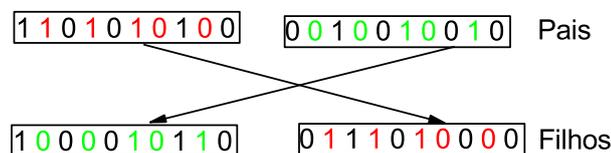


Figura 5.10: Operador crossover uniforme.

A eficiência de cada operador crossover descrito acima depende diretamente da capacidade de gerar indivíduos com maior variabilidade, assim em ordem crescente de eficiência tem-se: Crossover de ponto simples,

crossover de ponto duplo e crossover uniforme. Esta capacidade de gerar variabilidade pode ser ilustrada para dois indivíduos (pais) em um espaço bidimensional (x, y) , como é apresentado na Fig. 5.11. Sendo que um par de indivíduos combinados pelo crossover de ponto simples podem gerar apenas dois tipos de descendentes. Entretanto, o crossover de ponto duplo aumenta consideravelmente a faixa de criação de descendentes. Mas nenhum dos dois tipos de crossover apresentam a eficiência do crossover uniforme, que cobre todo o retângulo no espaço de busca que contém os indivíduos que serão combinados [13, 15].

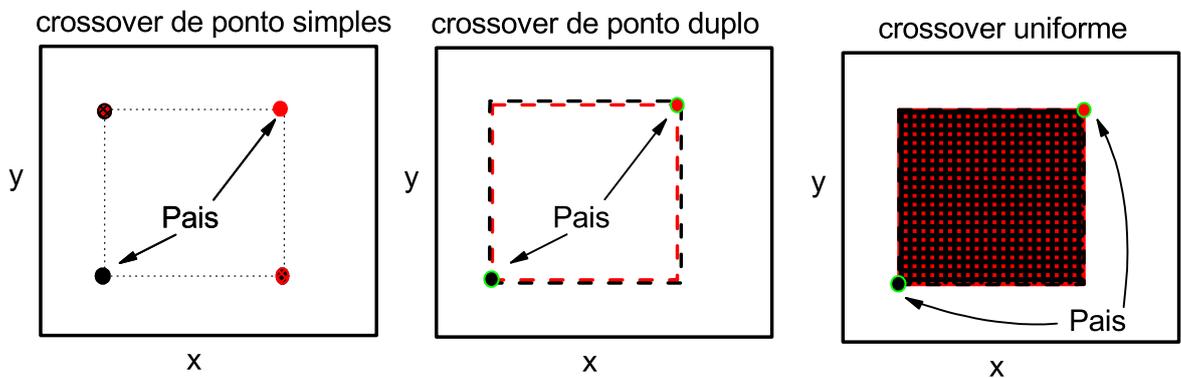


Figura 5.11: Ilustração da área de geração de filhos para os operadores crossover em um espaço (x, y) .

Para um que uma dupla de indivíduos seja selecionado, a probabilidade de ocorrência da recombinação é definida pela Eq. 5-22, e corresponde ao produto de duas funções de pertinência sigmoidais (t-norma Probabilística [3, 22]) abertas para a esquerda, portanto quanto maior a aptidão de cada indivíduo maior será a probabilidade de recombinação do par. O operador crossover é controlado pela função de pertinência (Eq. 5-22) que promove a intercessão das regiões mais adaptadas dos indivíduos envolvidos

no cruzamento, sendo definida por:

$$P_{cross}(\Phi(a_i), \Phi(a_j)) = \frac{1}{1 + e^{\frac{1}{\sigma_\Phi} \times (\Phi(a_i) - \langle \Phi \rangle + \sigma_\Phi)}} \times \frac{1}{1 + e^{\frac{1}{\sigma_\Phi} \times (\Phi(a_j) - \langle \Phi \rangle + \sigma_\Phi)}} \quad (5-22)$$

em que, $P_{cross}(\Phi(a_i), \Phi(a_j))$ define a pertinência para a operação de recombinação de dois indivíduos, $\Phi(a_i)$ e $\Phi(a_j)$ são os valores de aptidão dos indivíduos i e j , e são definidas na subseção *Função Fitness*. A Fig. 5.12 mostra o comportamento típico da função de pertinência de dois indivíduos escolhidos aleatoriamente.

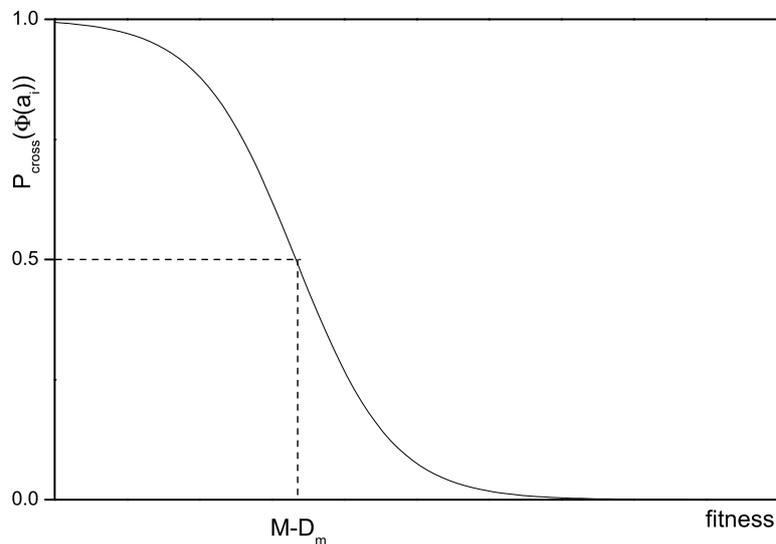


Figura 5.12: Função de pertinência para o operador crossover.

5.2.4.5 Operador Mutação

O operador mutação gera um novo indivíduo através da simples troca de símbolo no vetor de strings binários (Fig. 5.13)(1 para 0 e 0 para 1). O operador mutação, assim como o operador imigrante apresenta a capacidade de reduzir a degenerescência da população e criar novas localidades de otimização evitando os possíveis mínimos locais. A probabilidade de mutação (Eq. 5-23)

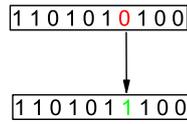


Figura 5.13: Operador mutação.

apresenta uma penalidade intrínseca (P_m) que limita o valor de probabilidade de ocorrência do operador mutação [2, 12]. A expressão formal para esse operador é dada por:

$$P_{mut}(\Phi(a_i)) = P_m \times \frac{1}{1 + e^{\frac{1}{\sigma_\Phi} \times (\Phi(a_i) - \langle \Phi \rangle + \sigma_\Phi)}} \quad (5-23)$$

sendo, que P_m define o valor de probabilidade máxima permitido para o operador mutação. O perfil da Eq. 5-23 é ilustrado na Fig.5.14.

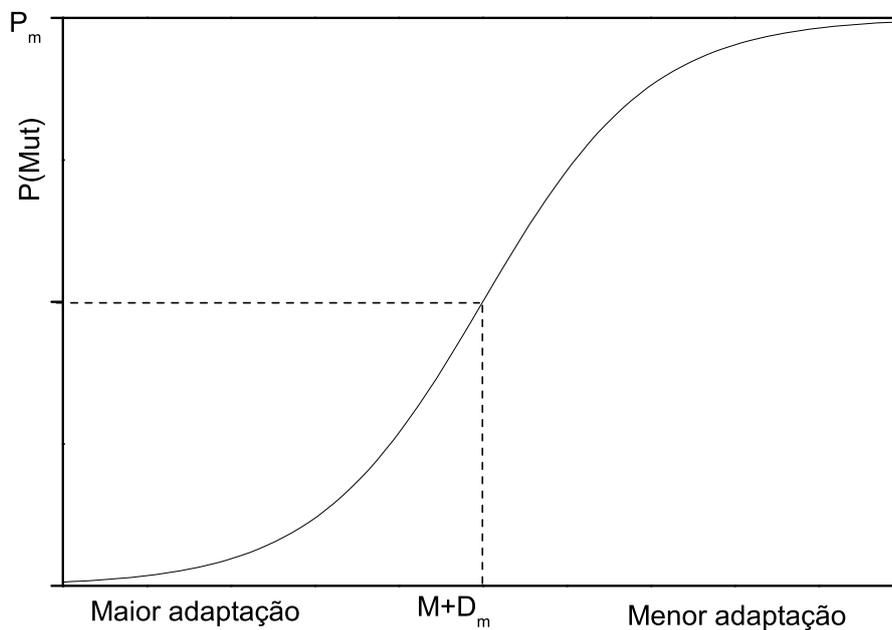


Figura 5.14: Função de pertinência para o operador mutação.

5.2.5 Convergência do AG

A cada geração os indivíduos são agrupados em classes definidas de acordo com a distância euclidiana, ou similaridade entre os membros da população. Dentro de uma classe a distância máxima entre dois indivíduos não pode ser superior a 1% do espaço de busca, este valor limite influencia na quantidade e na precisão das soluções finais. Cada solução é definida como sendo o centro de massa de cada classe. No instante em que as classes são formadas os indivíduos que apresentam um valor de *fitness* inferior a $\langle \Phi \rangle - \sigma_{\Phi}$ são selecionados como soluções especiais, pois apresentam uma aptidão mais favorável do que as soluções normais. A convergência do AG ocorrerá em duas situações distintas:

1. O AG terá convergido se somente se os operadores predador e habitat não forem mais capazes de eliminar indivíduos devido à convergência de toda a população para um único valor de *fitness*.
2. O AG será finalizado se a média da população alcançar o valor limite da função *fitness*, sendo que este limite é escolhido de acordo com o problema otimizado.

5.3 Exemplo de simulação cinética e parametrização de constantes cinéticas

A aplicação das redes de Petri como ferramenta matemática para a determinação de rotas químicas e dos respectivos parâmetros cinéticos ainda apresenta-se de forma restrita, de acordo com a literatura pesquisada [25, 32, 40]. A partir de diversas referências é possível definir duas aplicações principais para as redes de Petri em sistemas bioquímicos. A primeira aplicação

corresponde a descrição lógica-matemática das rotas metabólicas como grafos direcionados [41–44]. A segunda aplicação corresponde a utilização de redes de Petri para simulação de rotas químicas previamente definidas e que apresentam todos os parâmetros cinéticos conhecidos [5, 45–48]. Entretanto, as redes de petri apresentam um potencial de simulação e descrição de rotas químicas robusto como será exposto neste primeiro exemplo de simulação e otimização simultânea da rota química.

Para avaliar a potencialidade do método proposto nesta tese para determinação de rotas químicas e os respectivos parâmetros cinéticos, considere uma rota metabólica hipotética Fig. 5.15, utilizada na referencia [40] para validar o potencial de simulação do software E-CELL [49]. Esta rota apresenta uma sequência de 4 reações catalisadas, sendo o reagente inicial definido como $M1$, cuja concentração inicial é $100\mu M$. A Fig. 5.15 demonstra a rota completa e as respectivas constantes cinéticas para um modelo de ordem 1.

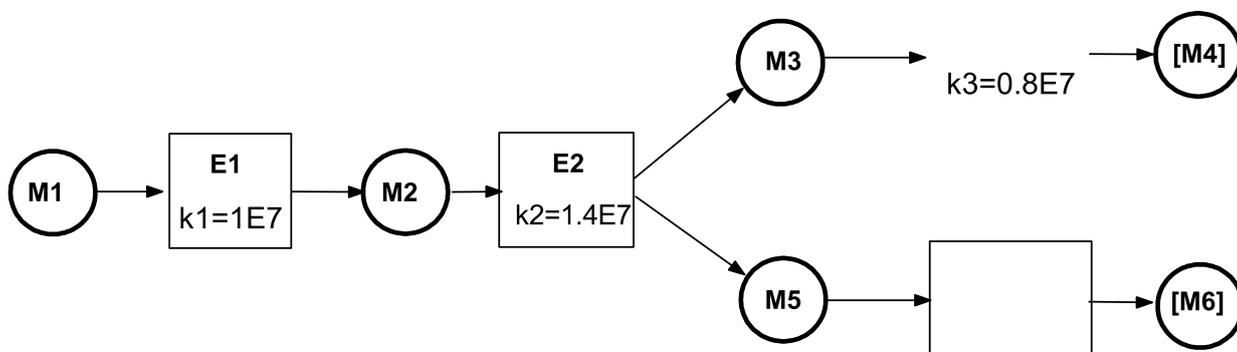


Figura 5.15: Rota metabólica hipotética para demonstração do processo de simulação e otimização.

De acordo com a Ref. [40] o perfil de concentração de todos os metabólitos esta apresentado na Fig. 5.16. Estes valores de concentração por tempo são utilizados como dados de referência para o sistema de otimização (AG) implementado. O objetivo desta análise é retornar por meio do processo

de inferência do AG a rota química precisa e as constantes cinéticas de cada reação. Neste processo a população inicial contém 1000 indivíduos, o tempo de simulação é de 0,05s, com passo igual 0,1ms. Após a evolução de 430 gerações o AG obteve uma convergência satisfatória ($Fitness < 1$).

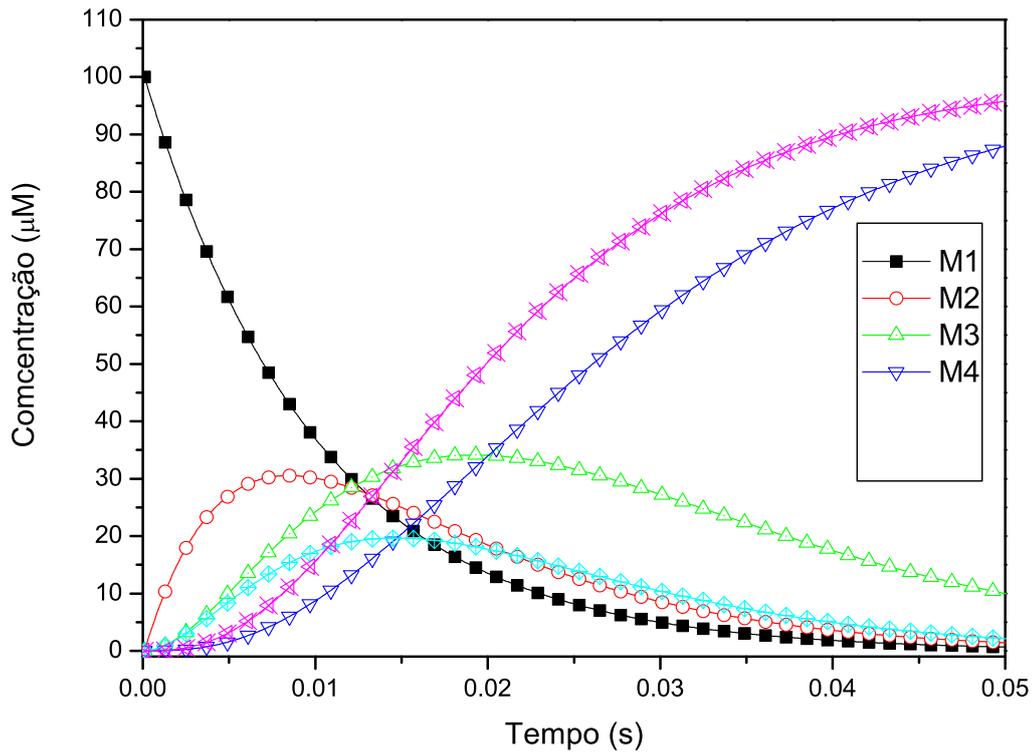
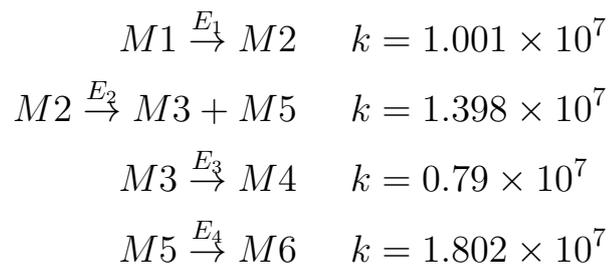


Figura 5.16: Dados de referência para a rede hipotética (Fig. 5.17).

A rede de Petri determinada pelo AG (Fig. 5.17) para simulação da rota Fig. 5.15 contém 4 transições que definem as seguintes reações e constantes cinéticas:



Embora seja uma rota simplificada, o perfil de concentrações do metabólitos (Fig. 5.16) indicam a presença de reações acopladas, como pode ser visto pela concentração dos compostos M2, M3 e M4 que inicialmente são produzidos em maior escala e após o intervalo entre 0,01 e 0,02s são exclusivamente consumidos, para a formação dos produtos M5 e M6, embora neste intervalo o reagente inicial (M1) ainda esteja presente com aproximadamente 30% da concentração inicial.

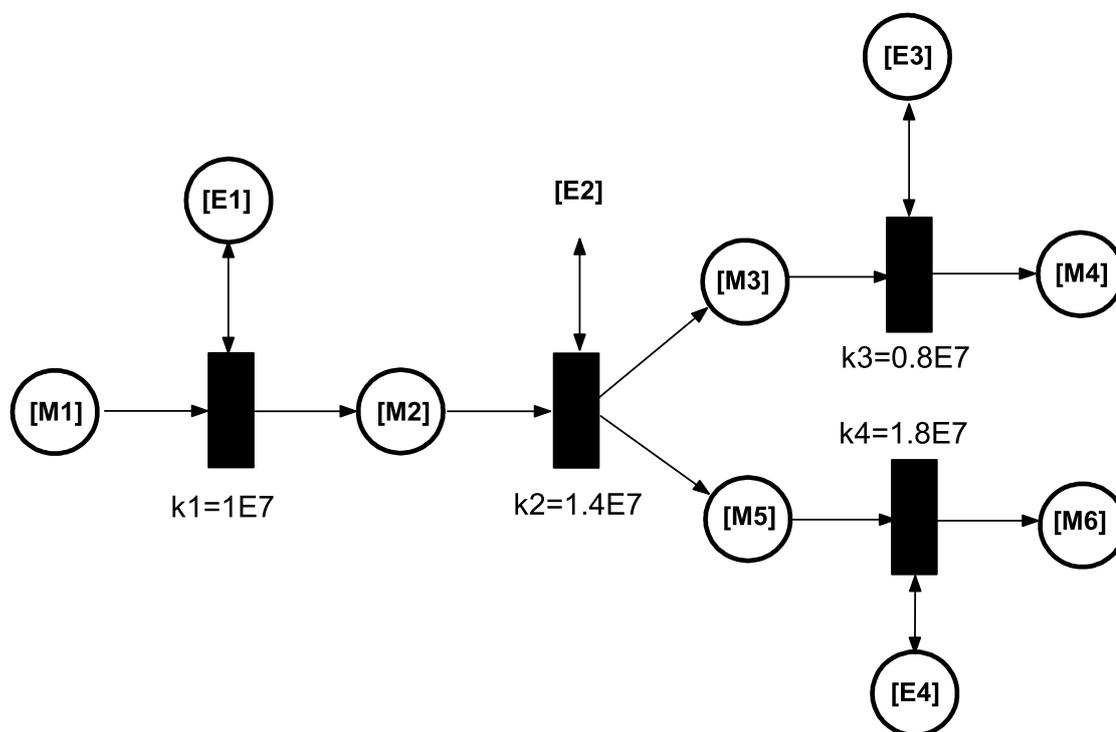


Figura 5.17: Modelo de rede de Petri para a rota metabólica hipotética (Fig. 5.15).

O sistema implementado apresentou neste exemplo um elevado potencial de reprodução de resultados, demonstrando capacidade para inferir sobre a topologia da rede de Petri, que corresponde a própria descrição da rota química. O AG também obteve sucesso na determinação das constantes cinéticas para as reações presentes. Para estender o potencial de aplicação do sistema, os capítulos seguintes apresentarão resultados de

determinação de parâmetros cinéticos e rotas química. Especificamente no capítulo *Determinação de parâmetros cinéticos* o sistema de otimização será utilizado para a determinação dos parâmetros de Arrhenius para o processo de formação de materiais semicondutores constituídos por TiO_2 e SnO_2 , a partir do desenvolvimento destes resultados o algoritmo genético acoplado à rede de Petri apresentam uma elevada aplicabilidade em problemas cinéticos diversos, demonstrando que os dados de referência podem ser substituídos por outras propriedades físico-químicas que apresentam relacionamento com o comportamento cinético. No Capítulo *Determinação e Simulação de rotas metabólicas* o sistema implementado será aplicado em duas situações divergentes de otimização. A primeira é semelhante ao exemplo descrito acima, onde os dados de referência contém o comportamento de todos os compostos envolvidos na rota química. A segunda aplicação envolve a construção de uma rota química onde os dados de referência contém parte do comportamento cinético dos compostos envolvidos.

Capítulo 6

Determinação de parâmetros cinéticos

6.1 Introdução

O sistema de otimização de rotas de reação foi aplicado no estudo cinético do processo de obtenção de compositos semicondutores constituídos por óxido de titânio (TiO_2) e óxido de estanho (SnO_2). Estes compostos formam semicondutores do tipo n com um gap elevado ($eGap=3,6eV$ a $300K$). Este material pode ser empregado em diversos processos catalíticos, pois apresenta uma elevada estabilidade química e térmica, baixo custo, possibilita a inclusão de agentes dopantes para aumentar a seletividade ou a sensibilidade [50, 51]. A produção de materiais contendo nanopartículas de TiO_2 [52] pode ser executada por diversos métodos químicos, tais como: deposição de vapor [53–55], eletrodeposição [56, 57], evaporação por feixe de elétrons [58], pirólise [59], bombardeamento (sputtering) com feixe de estanho (Sn) [60, 61], métodos hidrotérmicos [62], reações em amônia líquida [63], deposição por laser pulsado, [64], processos físico-químicos [65] e precipitação por método sol-gel [66].

A elaboração de métodos de preparação baseados em pirólise pode ser otimizada a partir da determinação do comportamento cinético do

processo de decomposição para a formação de nanopartículas de SnO_2 [67–75]. A literatura descreve diversas aplicações para materiais catalisadores semicondutores. O SnO_2 pode ser empregado na conversão de álcoois e aldeídos em cetonas [76], o SnO_2 suportado em TiO_2 pode ser empregado também na redução simultânea de SO_2 e NO [77, 78]. O potencial catalítico possibilita também a conversão de metanol em óleo combustível com rendimento acima de 93% [79, 80]. A obtenção do comportamento cinético durante o processo de decomposição térmica de compostos organo-estanhos suportados em TiO_2 pode ser obtido utilizando o sistema de otimização de parâmetros cinéticos descrito na seção 2 do capítulo anterior (pág 68). Nesta aplicação o sistema de simulação cinética, Rede de Petri, utiliza lógica fuzzy [16, 81] para determinar a temperatura de cada conjunto de parâmetros cinéticos. Neste capítulo serão descritos o modelo teórico utilizado especificamente para a determinação da energia de ativação, do fator pré-exponencial e a ordem de reação do processo de formação dos compostos a base de TiO_2 e SnO_2 a partir de dados experimentais de curvas termogravimétricas.

6.2 Preparação do material semicondutor

Para a realização deste estudo teórico foram preparadas 3 composições utilizando reagentes Sigma-Aldrich (Milwaukee), cada amostra apresenta as seguintes proporções(m/m) de Sn/TiO_2 , 0% (1), 15% (2) e 30% (3). As análises termogravimétricas (TG e DTA) foram realizadas utilizando um aparelho TA Instruments SDT 2960 Simultaneous DTA-TGA. O processo de decomposição foi realizado com uma taxa de aquecimento de $5^\circ C/min$ até a temperatura de $600^\circ C$ em atmosfera de oxigênio.

Primeiramente é preparada uma solução de $TiCl_4$ e $SnBut_3Cl$ em etanol, em seguida adiciona-se uma solução aquosa de NH_4OH concentrada

formando uma suspensão. O sistema é mantido em refluxo por 90 minutos e em seguida é filtrado e lavado com éter-etílico para a remoção do excesso de etanol. Após secagem para remoção de água cada amostra foi submetida a pirólise até a temperatura de 600°C em atmosfera de oxigênio.

6.3 Modelamento teórico

O modelo cinético utilizado para a determinação de parâmetros cinéticos do processo de formação das misturas (1), (2) e (3) é definido pela Eq. 6-1 [33, 82, 83]

$$\frac{\partial C}{\partial t} = C^n \left(A e^{\frac{-E_a}{RT}} \right) \quad (6-1)$$

sendo A (fator de frequência) e E_a (energia de ativação) os parâmetros de Arrhenius, C corresponde a concentração do reagente consumido ou produto formado e n é a ordem da reação. Integrando-se a Eq. 6-1 obtém-se a concentração em qualquer tempo. Este modelo será usado para estudar processos de decomposição térmica através de dados experimentais de curvas termogravimétricas. A simulação e a determinação dos parâmetros cinéticos (Eq. 6-1) serão feitas utilizando-se a teoria das redes de Petri associadas à lógica fuzzy [84]. Para exemplificar o modelamento da rede de Petri utilizada neste estudo considere as seguintes reações concorrentes:



Matematicamente uma rede de Petri gerada para a representação das reações 6-2 e 6-3 contém 3 estados (lugares) e duas transições. Os estados e as transições são conectados por dois tipos de arcos definidos como pré-condições (I) e pós-condições (O). O conjunto I conecta os reagentes as respectivas transições, ou seja reações, que irão transformá-los. O conjunto O representa

a aplicação da saída, ou seja a formação do produto, e relaciona os arcos direcionados que ligam as transições aos seus respectivos produtos. Para as reações químicas acima, as matrizes I e O terão dimensão 3×2 , ou seja, 3 lugares e 2 transições. O conteúdo dos estados, A , B e C de um sistema é representado por um vetor coluna denominado marcação, M , sendo neste estudo definido como vetor de concentrações dos componentes do sistema químico. A rede Petri para simulação das reações (6-2 e 6-3) pode ser representada graficamente de acordo com a rede da Fig 6.1, sendo C_A , C_B e C_C as concentrações dos componentes A , B e C , respectivamente.

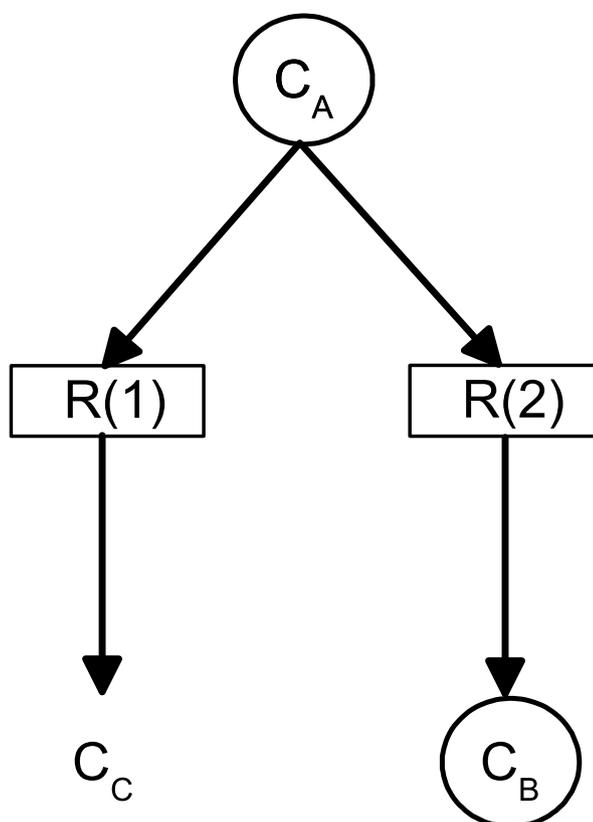


Figura 6.1: Rede de Petri para simulação das reações 6-2 e 6-3.

As transições $R(1)$ e $R(2)$ competem pelo mesmo lugar de entrada, representando a competição entre as reações $A \rightarrow B$ (6-2) e $A \rightarrow C$ (6-3) pelo mesmo reagente (A). A quantidade de produtos (B e C) formados será

governada pelos parâmetros cinéticos. O conjunto de parâmetros (A, E_a, n) que descreverem a cinética mais rápida, também irá sensibilizar a sua respectiva transição, favorecendo a formação do respectivo produto.

Para a rede de Petri da Fig 6.1 representação matemática é definida por:

$$\mathbf{M}(t) = \begin{bmatrix} C_A(t) \\ C_B(t) \\ C_C(t) \end{bmatrix} \quad (6-4)$$

$$\mathbf{PRE} = \mathbf{I}(t) = \begin{bmatrix} \Delta C_A(t) & \Delta C_A(t) \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (6-5)$$

$$\mathbf{POST} = \mathbf{O}(t) = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ \Delta C_B(t) & 0 \\ 0 & \Delta C_C(t) \end{bmatrix} \quad (6-6)$$

As transições do sistema são temporizadas, para cada execução da rede de Petri, o tempo avança em uma fração de Δt . Para o estudo de decomposições térmicas, juntamente com a variação temporal, para cada incremento Δt a temperatura é acrescida em ΔT . A evolução da rede de Petri pode ser representada pela equação de disparo de transições, dada por:

$$\mathbf{M}(t + \Delta t) = \mathbf{M}(t) + \sum_{j=1}^m (-I_j(t) + O_j(t)) \quad (6-7)$$

sendo $\mathbf{M}(t + \Delta t)$ a nova marcação que determina as novas concentrações após a evolução temporal, Δt , $\mathbf{M}(t)$ define as concentrações atuais e corresponde a marcação atual, $I_j(t)$ e $O_j(t)$ correspondem aos vetores de entrada e saída da transição j , respectivamente.

A simulação cinética de formação das misturas contendo TiO_2/SnO_2 pode ser representada pela rede de Petri da Fig. 6.2. Os lugares C_1 e C_2 correspondem aos reagentes, hidróxido de titânio e $SnBu_3Cl$

(cloro-tributilestanho(IV)). Para cada transição R_j existe um controlador fuzzy que define a faixa de temperatura de atuação de cada transição. Os lugares

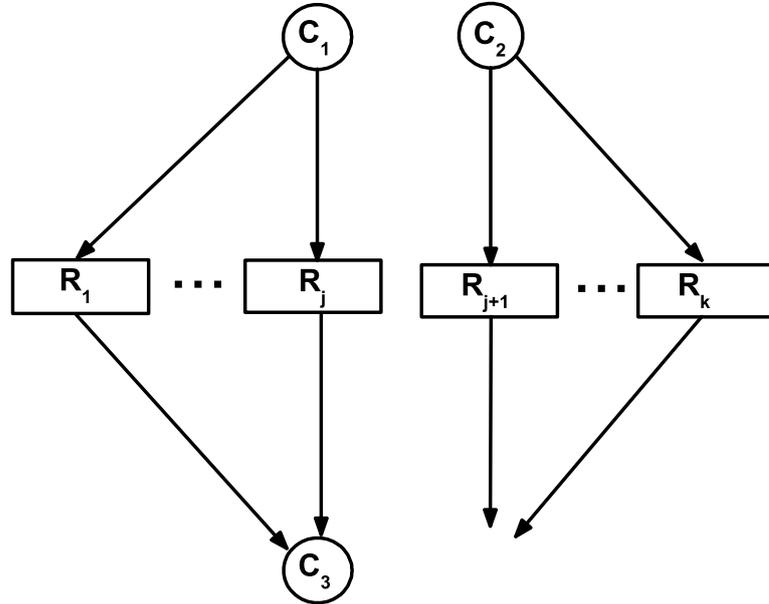


Figura 6.2: Rede de Petri implementada para a simulação da decomposição da mistura $TiO_2/Sn(Org)$.

C_3 e C_4 são as concentrações de TiO_2 , e SnO_2 entre o intervalo t e $t + \Delta t$, cada elemento das matrizes de pré-condições ($\mathbf{I}(t)$) e pós-condições ($\mathbf{O}(t)$), é definido a seguir nas Eq. 6-8 e 6-9

$$\mathbf{I}(t) = \begin{bmatrix} \Delta C_{1,1}(t) & \dots & \Delta C_{1,j}(t) & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & \Delta C_{2,j+1}(t) & \dots & \Delta C_{2,m}(t) \\ 0 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \end{bmatrix} \quad (6-8)$$

$$\mathbf{O}(t) = \begin{bmatrix} 0 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & 0 & \dots & 0 \\ \Delta C_{3,1}(t) & \dots & \Delta C_{3,j}(t) & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \dots & 0 & \Delta C_{4,j+1}(t) & \dots & \Delta C_{4,m}(t) \end{bmatrix} \quad (6-9)$$

O modelamento cinético para o processo de decomposição da mistura

$TiO_2/Sn(orgânico)$ pode ser construído a partir da determinação da ordem de cada reação e pela constante cinética que apresenta uma dependência com o valor da temperatura descrito pelo modelo da Eq.6-1. Desta forma, para cada arco de incidência (**I**) existe um conjunto de parâmetros cinéticos constituídos por fator de frequência (A), energia de ativação da reação (E_a) e ordem da reação (n). Cada transição representa uma reação química que ocorre em uma faixa de temperatura limitada (por temperatura inicial, T_i , e temperatura final, T_o). A incerteza inerente ao processo real (experimento) introduzida nas reações de decomposição devido à temperatura pode ser modelada usando-se a lógica fuzzy [84]. Sendo assim, durante a evolução temporal para diferentes temperaturas um controlador fuzzy foi proposto devido à imprecisão do processo cinético. Particularmente, usou-se a função fuzzy do tipo LR (*left – right*), $f \rightarrow f(T; T_i, T_o, \alpha_i, \alpha_o)$, dada por:

$$f \rightarrow f(T; T_i, T_o, \alpha_i, \alpha_o) = \left(\frac{1}{1 + e^{\alpha_i(T-T_i)}} \right) \left(\frac{1}{1 + e^{\alpha_o(T-T_o)}} \right) \quad (6-10)$$

sendo, T_i e T_o as temperaturas inicial e final para a reação que definem a faixa de temperatura para cada transição, os parâmetros α_i e α_o controlam o grau de inclinação da função fuzzy (Eq. 6-11 próximos aos limites das temperaturas T_i e T_o). Os valores de diferença de concentração (ΔC_1 , ΔC_2 , ΔC_3 e ΔC_4) para um determinado instante t pode ser calculado por:

$$\Delta C_k(T) = \int_t^{t+\Delta t} C_k^{n(T)} \left(A(T) \exp \left(\frac{-E_a(T)}{RT} \right) \right) dt \quad (6-11)$$

O processo de simulação cinética depende da correta determinação dos parâmetros de Arrhenius (A e E_a), da ordem da reação (n), da configuração da função fuzzy que determina a faixa de temperatura em que cada conjunto de parâmetros (transição) está ativo. Todos estes parâmetros podem ser otimizados utilizando-se um algoritmo genético desenvolvido. Os indivíduos do AG foram representados por conjuntos com números reais que representam o conjunto de parâmetros formado por A , E_a , n , T_i , T_o , α_i e α_o . O espaço de busca para cada parâmetro está definido na Tab 6.1. O fator de

Tabela 6.1: Espaço de busca dos parâmetros cinéticos e da função fuzzy (Eq. 6-11)

Parâmetros	Mínimo	Máximo
n	0	∞
$\log(A)$	4	50
$E_a(kJ)$	0	1000
$T_i(^{\circ}C)$	50	550
$T_o(^{\circ}C)$	100	600
α_i	0	50
α_o	0	50

freqüência está entre 10^4 e 10^{20} , a energia de ativação está entre 1 e 1000kJ que corresponde a uma faixa de energia adequada para diversos processos químicos [33,82]. As temperaturas T_i e T_o estão dentro da faixa experimental da curva termogravimétrica (50 e 600°C), os valores α_i e α_o podem variar entre 0 e 50, sendo que o limite superior de 50 define um comportamento semelhante a uma função degrau. A função de avaliação (fitness) é calculada para cada indivíduo da população e é definida como sendo a soma do erro absoluto entre a curva TG teórica ($W_{calc}(T)$) e a curva experimental($W_{exp}(T)$) de acordo com Eq. 6-12:

$$Fitness = \sum_{T=T_i}^{T_o} |W_{calc}(T) - W_{exp}(T)| \quad (6-12)$$

sendo que $W_{exp}(T)$ corresponde ao valor percentual da curva TG experimental para a temperatura T , $W_{calc}(T)$ é o valor percentual da curva TG teórica para a temperatura T , e é calculado de acordo com a Eq. 6-13

$$W_{calc}(T) = \frac{\sum_{i=1}^k M_i(t)}{\sum_{i=1}^k M_i(t_0)} \times 100 \quad (6-13)$$

sendo $M_i(t)$ a concentração de cada componente do sistema no tempo t . O tempo e a temperatura estão relacionados pela taxa de aquecimento (R) da curva termogravimétrica pela relação $T = Rt$, $M_i(t_0)$ define a concentração inicial dos componentes do sistema.

O processo de seleção utiliza o ranking dos indivíduos para propagar

para a próxima geração aproximadamente 75% dos indivíduos da população [85,86] sendo que o restante é eliminado e novos indivíduos são gerados pelos operadores genéticos mutação e crossover. A mutação provoca pequenas alterações aleatórias e pontuais no conjunto de valores reais que geram os parâmetros cinéticos dentro do espaço de busca, definido anteriormente. O operador crossover realiza a combinação de dois indivíduos selecionados aleatoriamente. Para este AG foi utilizado o operador crossover uniforme (pág 84) que promove a troca trechos de tamanhos variados dentro dos conjuntos de dados dos indivíduos gerando outros dois indivíduos. Após a execução dos operadores genéticos uma nova população é gerada e reavaliada. O processo de otimização é finalizado quando a função fitness atinge um valor igual ou inferior a 0.1% que corresponde a uma precisão numérica que tornam as curvas teóricas e experimentais indistinguíveis. O processo de otimização também será finalizado se a população atingir uma estabilidade numérica que impossibilite a geração de novos indivíduos principalmente pelo operador crossover. Esta estabilidade pode ser verificada pelo cálculo do desvio padrão da função fitness em uma dada geração. Para o estudo do processo de decomposição este valor usado foi de 10^{-3} , que representa uma precisão numérica com uma ordem de grandeza a mais em relação a curva TG, sendo que nesta situação todos os indivíduos podem ser considerados indistinguíveis e, portanto, a suas recombinações não possibilitam a geração de soluções mais adequadas. O processo global para a obtenção dos parâmetros cinéticos que descrevem a formação de misturas dos compostos TiO_2/SnO_2 a partir da decomposição térmica de compostos organo estânicos pode ser esquematizado pela Fig 6.3. Para cada conjunto de parâmetros cinéticos (indivíduo) o sistema de simulação dinâmica é executado, gerando um curva TG teórica. O ciclo é finalizado com o calculo da função fitness (Eq. 6-12) e seleção dos indivíduos mais adaptados.

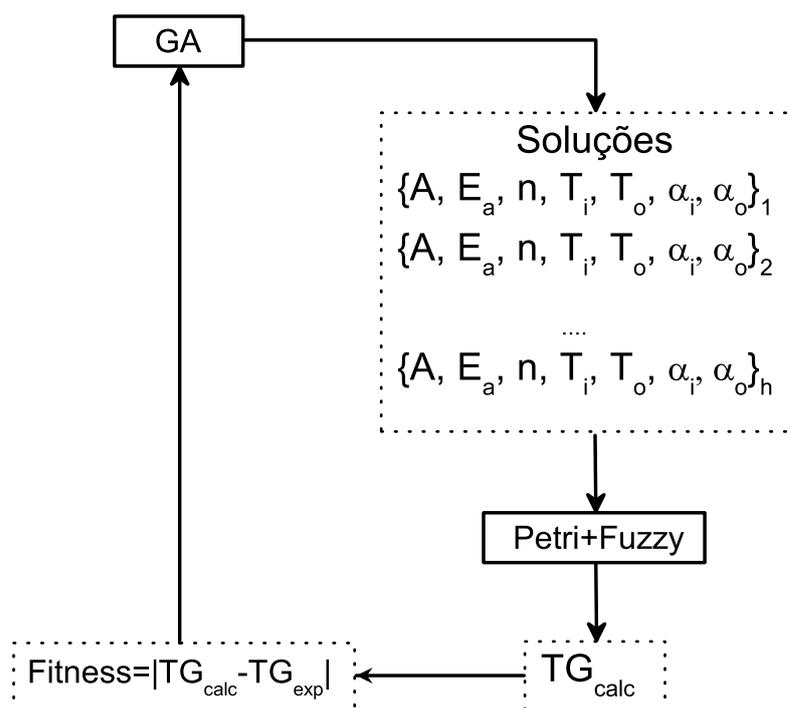


Figura 6.3: Rede de Petri para simulação das reações 6-2 e 6-3.

6.4 Resultados e discussões

Neste estudo foram obtidas curvas termogravimétricas de decomposição para misturas de hidróxido de titânio e cloro tributilestanho ($SnBu_3Cl$). As misturas foram denominadas de acordo com o teor dos compostos de estanho em massa por massa, sendo respectivamente TS0 com 0%, TS15 com 15% e TS30 com 30%, ilustradas na Fig 6.4. Devido a impossibilidade de obtenção de curvas TG para o processo de decomposição do $SnBu_3Cl$, pois este se encontra no estado líquido, as curvas TS15 e TS30 foram utilizadas para obter um comportamento aproximado do processo de decomposição. A curva TG S15 foi obtida pela subtração entre as curvas TS15 e TS0, e a curva TG S30 corresponde a subtração entre as curvas TS30 e TS0. As curvas termogravimétricas obtidas experimentalmente (TS15 e TS30) (Fig.

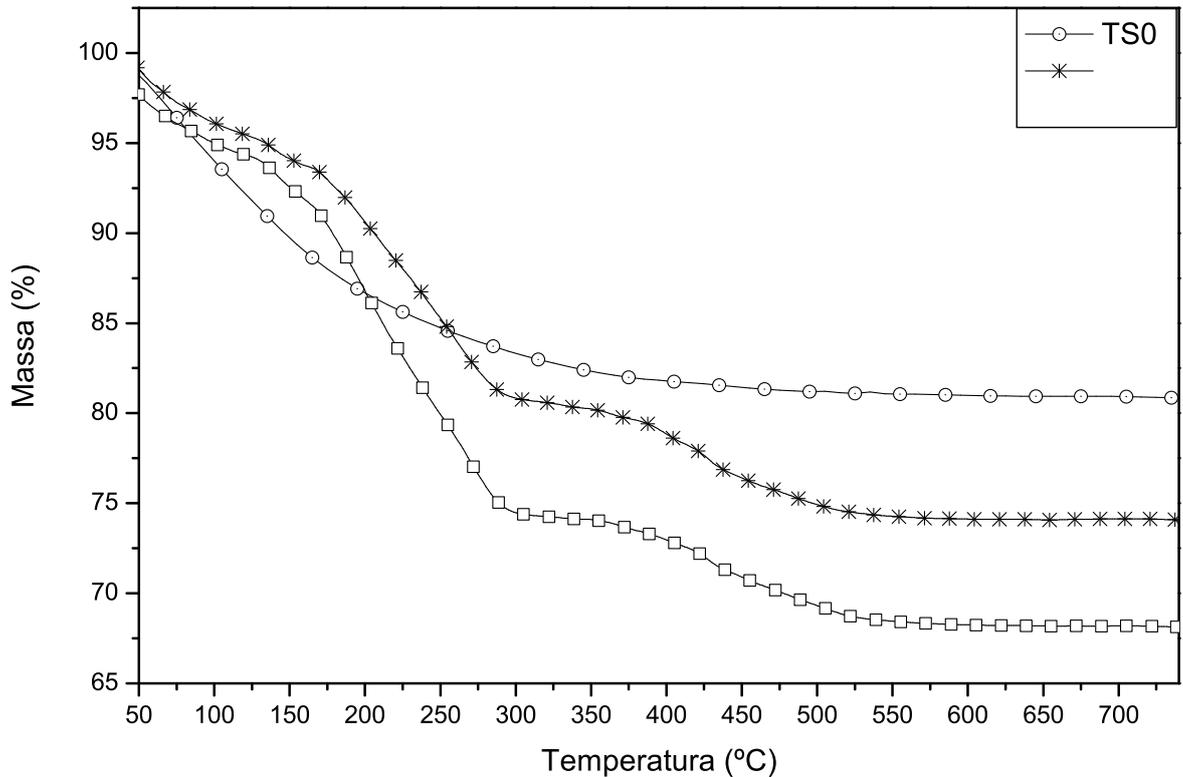


Figura 6.4: Curvas termogravimétricas experimentais para as amostras TS0, TS15 e TS30.

6.4) apresentam dois passos de degradação distintos: o primeiro passo está abaixo de 350°C , e o segundo está entre 350 e 500°C quando o processo de degradação térmica é finalizado [87–90]. Para as três curvas inicialmente ocorre a perda de água contida na estrutura cristalina. O segundo evento corresponde a degradação térmica do grupo butila. A partir de 500°C a fase $\text{TiO}_2 - \text{SnO}_2$ é formada com a presença da fase anatásio, referente ao TiO_2 que não está combinado com o óxido de estanho (SnO_2) [87,88]

A Fig 6.6 apresenta os parâmetros cinéticos n , A e E_a para as curvas termogravimétricas TS0, TS15 e TS30 (Fig. 6.5) referentes às composições de TiO_2 puro (TS0) e as misturas entre TiO_2 e compostos organo estanho nas proporções de 15% (m/m) (curva TS15) e 30%(m/m) (curva TS30). A curva TS0 refere-se à formação do TiO_2 a partir da desidroxilação da amostra

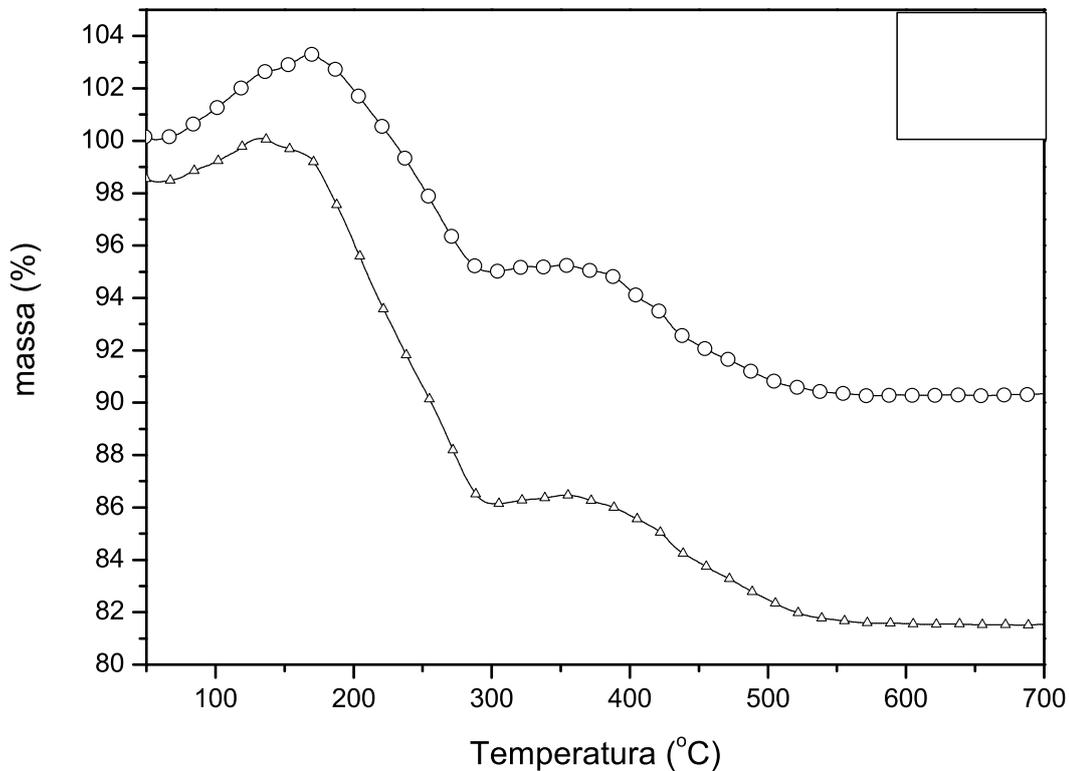


Figura 6.5: Curvas termogravimétricas para as amostras S15 e S30.

de $TiCl_4$ tratada com hidróxido de amônio. A curva TS0 apresenta uma perda de massa contínua, sem a formação de patamares nítidos, como é descrito em estudos anteriores [87–90]. O processo de formação de TiO_2 apresenta ordem de reação igual a um. A energia de ativação até a temperatura de $250^\circ C$ mantém-se constante com valor médio de 80.6kJ , mantendo um aumento contínuo até a temperatura de $500^\circ C$ chegando ao valor de 130.5kJ quando a curva TG não apresenta mais alterações de massa. Esta variação da energia de ativação deve-se a ocorrência de eventos endotérmicos para a formação da fase anatásio [87].

Utilizando os valores E_a e A é possível calcular os valores da constante cinética (k) em função da temperatura como é mostrado na Fig 6.6d, na qual inicialmente ocorre um aumento da velocidade da reação seguida por uma

redução de velocidade provocada pela redução do fator pré-exponencial, visto que a energia de ativação permanece constante ($E_a = 80\text{kJ}$) e portanto não contribui para alteração da velocidade da reação. As curvas termogravimétricas TS15 e TS30 (Fig 6.4) apresentam dois passos de decomposição térmica, o primeiro corresponde a uma perda de massa na faixa de 50 a 300°C, o segundo evento está entre 350 e 500°C. Acima deste valor as curvas não sofrem mais alterações de massa significativas para a determinação de modelos cinéticos de decomposição. O primeiro passo de decomposição refere-se ao processo de desidroxilação para a formação da fase anatásio do TiO_2 , e também a desidroxilação do composto organo estanho, e um possível início do processo de oxidação da cadeia carbônica [87].

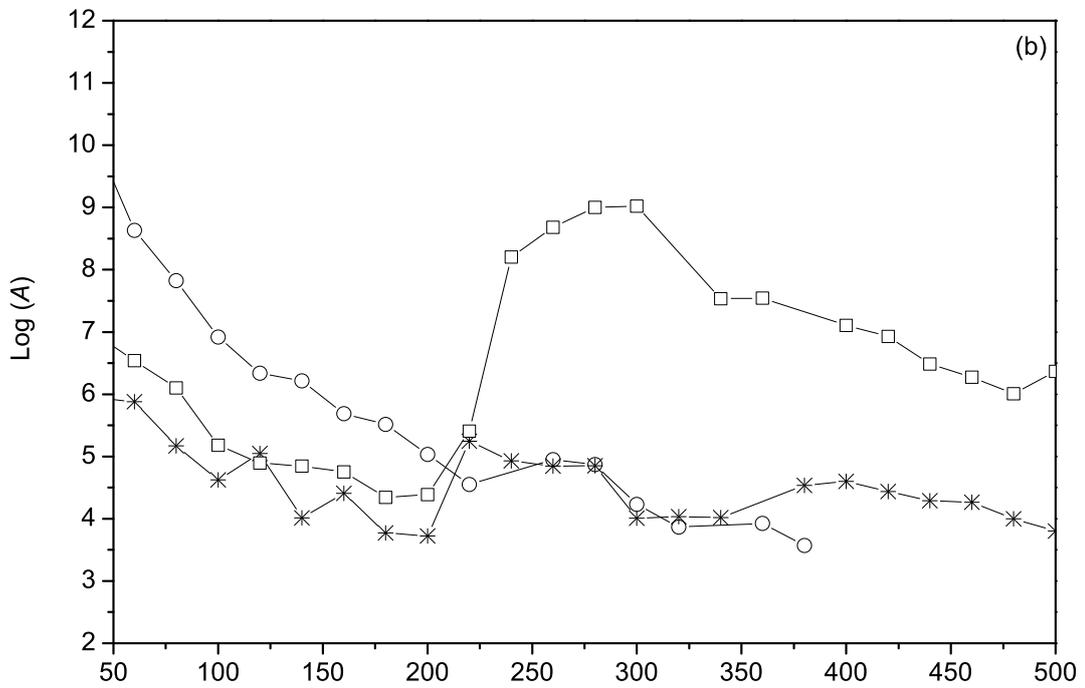
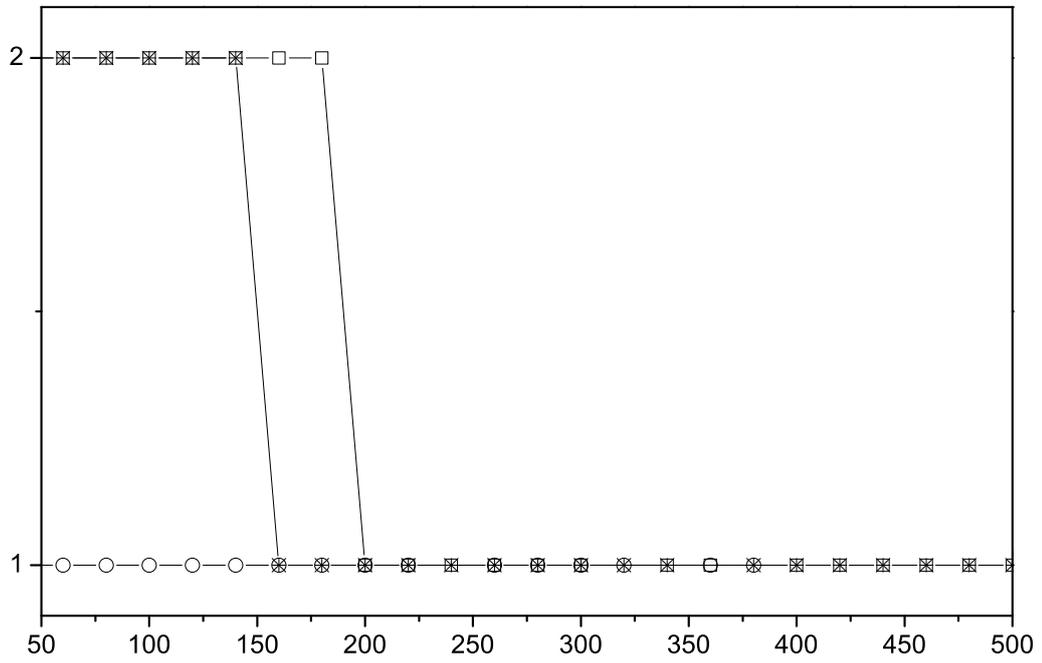
A velocidade de decomposição das curvas TS15 e TS30 (Fig. 6.4) é maior em relação à curva TS0 para a faixa de temperatura entre 50 e 200°C. Nesta etapa o processo exotérmico de decomposição do composto organo estanho favorece uma cinética mais rápida através de uma energia de ativação inferior a energia de ativação da curva TS0, sendo o valor médio igual a 67kJ para a curva TS15 e 72kJ para a curva TS30. Em relação ao fator pré-exponencial (Fig 6.6b) para curva TS15 ocorre uma redução de 5.9 para 3.7 e para a curva TS30 ocorre uma queda semelhante de 6.5 para 4.4, em ambos os casos a queda média foi de 2.15. Esta redução no fator pré-exponencial contribui para a redução da velocidade de reação, assim como o aumento na energia de ativação no final do primeiro passo de degradação. Embora o aumento da energia de ativação seja pequeno o seu efeito é expressivo, o termo exponencial (Eq. 6-1) amplifica as variações da energia de ativação. Por exemplo, uma variação de 80kJ para 100kJ reduz a velocidade da reação em 160 vezes na temperatura de 200°C. Entretanto, a dependência exponencial da constante de velocidade em relação à temperatura proporciona uma compensação mantendo os valores da constante cinética (k) estáveis até a temperatura aproximada de 150°C. Nessa temperatura ocorre

uma significativa elevação da velocidade da reação, que passa de 3.7×10^{-5} para aproximadamente 1.4×10^{-4} na temperatura de 200°C . Este aumento de k está relacionado com o início do processo de decomposição do segundo passo de degradação térmica, que corresponde a decomposição total da cadeia carbônica para a formação do SnO_2 [88]. A partir da temperatura de 200°C o aumento da velocidade da reação também é favorecido pela alteração da ordem de reação que passa de 2 para 1. Para a faixa de temperatura entre 200 e 300°C os parâmetros n , A e E_a sofrem alterações devido à finalização do processo de decomposição do primeiro passo e o início do segundo passo de degradação. A ordem de reação varia de 2 para 1 enquanto o logaritmo do fator pré exponencial é elevado de 3.5 para aproximadamente 5 na curva TS15 (Fig 6.4) e 4.4 para 9.0 na curva TS30 (Fig 6.4). A energia de ativação neste intervalo de temperatura (200 - 300°C) também sofre um acréscimo significativo passando de 68kJ para 91kJ para a curva TS15 e de 71 kJ para 145kJ para a curva TS30. Desta forma, o primeiro passo de decomposição inicia-se com uma ordem de reação que favorece um mecanismo de decomposição mais lento, com ordem de reação igual a 2 e é finalizado com um aumento de velocidade expressivo que é proporcionado pela alteração da ordem de reação também pela elevação do fator pré-exponencial.

A decomposição da cadeia carbônica do composto organo estanho é finalizada no segundo passo de degradação (300 - 500°C), gerando uma mistura de fases do TiO_2 puro (anatásio) e $\text{TiO}_2/\text{SnO}_2$ (anatásio-rutilo) e para as amostras com elevado teor de SnO_2 como por exemplo a amostra TS30 existem também a fase SnO_2 pura (rutila) [88]. A ordem de reação desta etapa permanece constante ($n=1$) assim como a energia de ativação com valor médio para as curvas TS15 e TS30 respectivamente igual a 108kJ e 145kJ . Embora a degradação da cadeia carbônica seja um processo exotérmico [88, 89], o aumento da energia de ativação em relação ao primeiro passo é justificada pela faixa de temperatura em que o processo ocorre, demonstrando a necessidade

de mais energia para romper as ligações da cadeia carbônica formada por grupos *n*-butila em relação a remoção de moléculas de água adsorvidas ou água estrutural que são eliminadas no primeiro passo [88]. O fator pré-exponencial decai e produz a redução da velocidade da reação. Entretanto o aumento da temperatura produz um aumento na velocidade da reação mais acentuado, como pode ser observado na Fig 6.6d em que a média da constante de reação na temperatura de 300°C é de 3.4×10^{-5} para ambas as curvas e passa para 5.1×10^{-5} .

A variação da ordem de reação foi definida como inteira no sistema computacional com base em trabalhos da literatura que relacionam reações de decomposição térmica com ordens de reação inteira [33, 91–93]. Frequentemente a literatura define apenas uma ordem de reação para todo o intervalo de temperatura de uma dada reação, entretanto no presente estudo a metodologia desenvolvida permite variar a ordem de reação a qualquer instante da reação, como pode ser visto na discussão dos resultados, sendo este um avanço no estudo e desenvolvimento de modelos cinéticos robustos. Para demonstrar a capacidade do sistema de otimização e também reafirmar a tendência dos sistemas químicos por ordens de reação inteiras, o parâmetro *n* da curva TS30 foi otimizado considerando ordens de reação semi-inteiras (Fig. 6.7). Inicialmente a curva apresenta uma ordem de reação próxima de 2, com uma variação entre 1.96 e 2.10, a partir da temperatura de 200°C ocorre a mudança de mecanismo de reação e como discutido na apresentação dos resultados (no parágrafo anterior) a ordem da reação é alterada de 2 para 1. Neste exemplo, verificou-se o mesmo comportamento, sendo apenas que o processo de transição ocorre de forma gradual, existindo valores de *n* entre 2 e 1, até o mecanismo se estabilizar em uma faixa que varia entre 0.95 e 1.1. Portanto, verificou-se que para esse sistema químico, a ordem de reação segue de acordo com a literatura, em geral, ordens de reação inteiras [94–97].



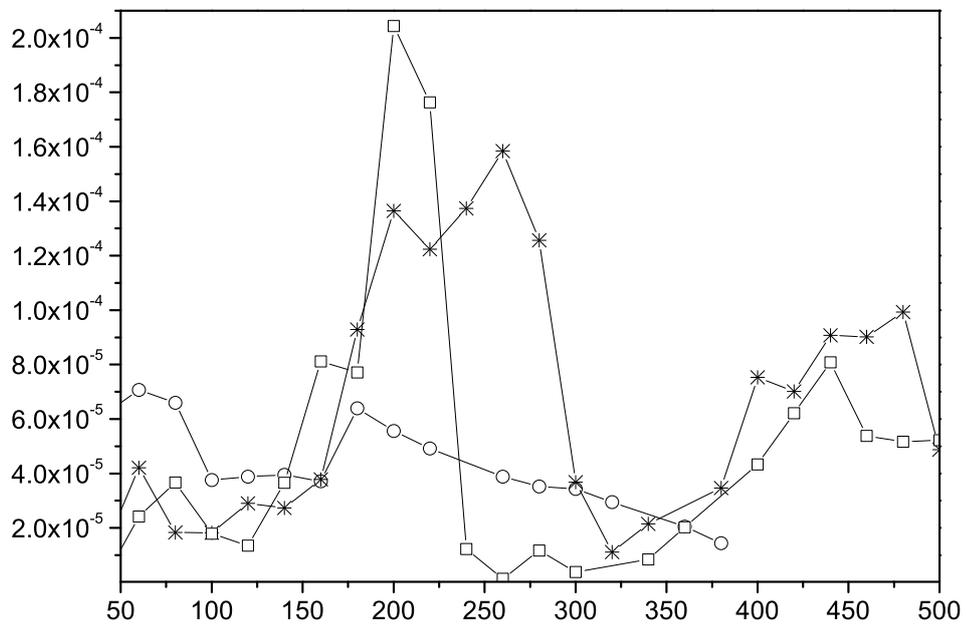
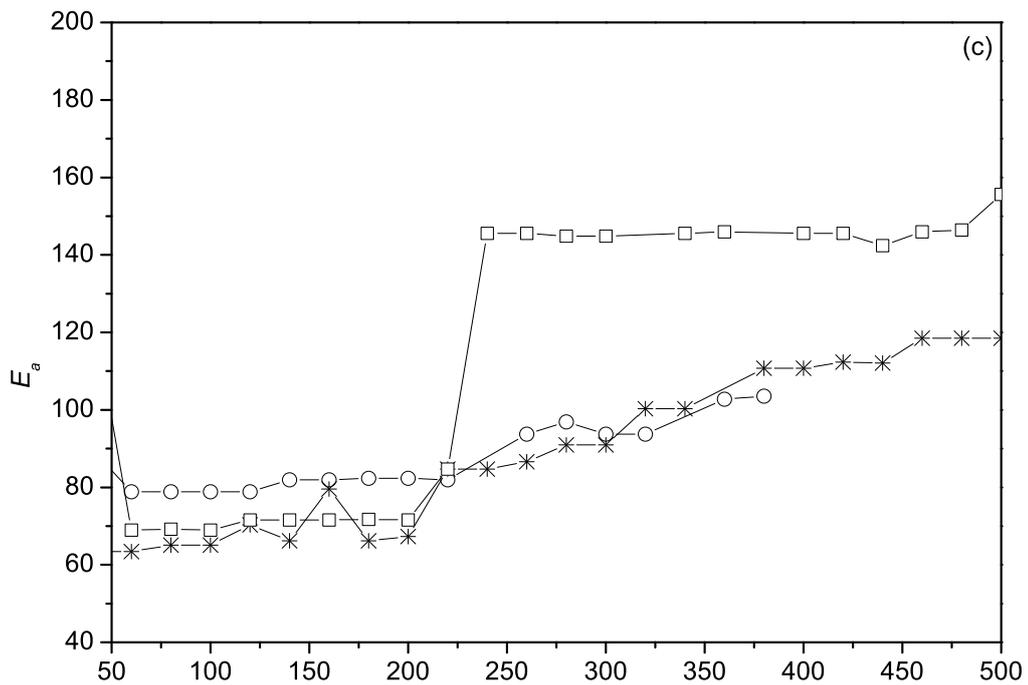


Figura 6.6: Evolução dos parâmetros cinéticos: (a) ordem de reação n_i ; (b) fator pré-exponencial A , (c) energia de ativação E_a e (d) constante cinética (k) para as curvas TG TS0 (circulo aberto), TS15 (asterisco) e TS30 (quadrado aberto).

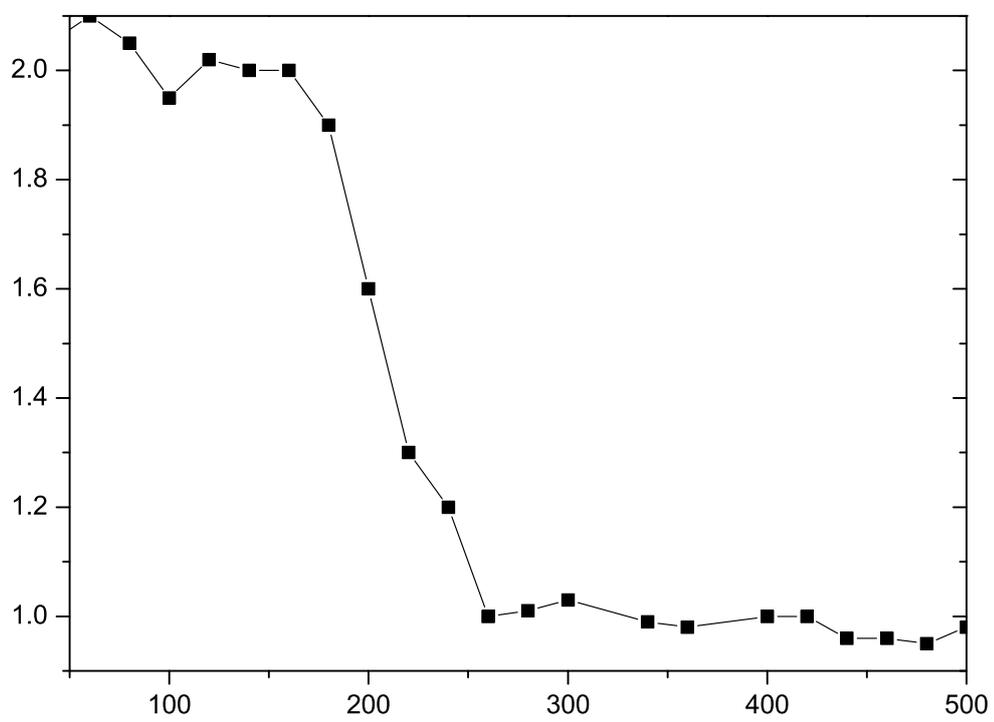


Figura 6.7: Ordem de reação semi-inteira para a curva TG TS30.

Tabela 6.2: Variação de massa para as curvas S15 e S30

Passo	Variação de massa (m/m)(%)	Faixa de temperatura (°C)	Variação de massa (m/m)(%)	Faixa de temperatura (°C)
	S15	S15	S30	S30
1	+1.5%	50-135	+3.3%	50-165
2	-14.1%	135-300	-8%	165-300
3	-4.6%	360-550	-4.6%	370-570

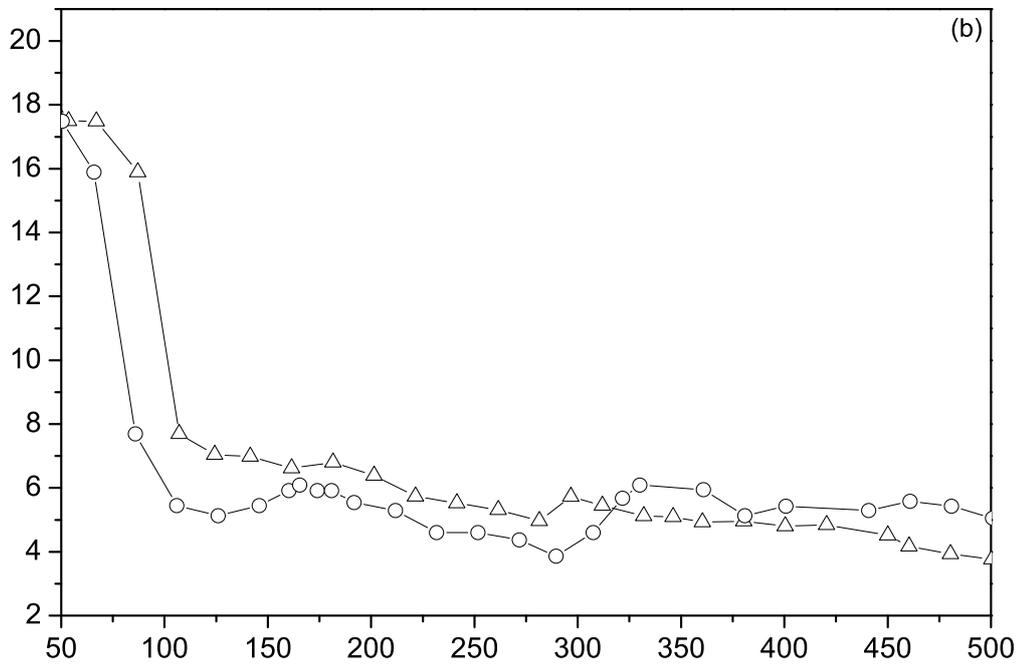
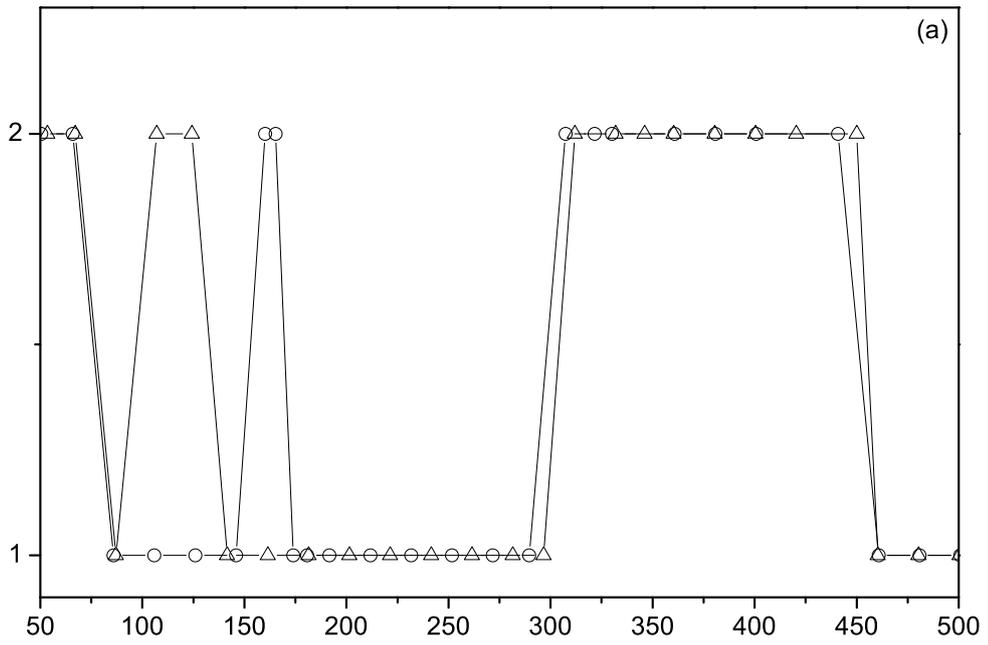
Devido a impossibilidade experimental para a obtenção de curvas TG para os compostos organo estanho puros os parâmetros cinéticos referentes apenas à degradação destes foram obtidos a partir de curvas TG estimadas a partir de uma operação de subtração dos efeitos cinéticos da curva TS0 em relação às curvas TS15 e TS30 (Fig. 6.4). Estas curvas termogravimétricas apresentam 3 passos distintos de alteração de massa em função da temperatura, como é mostrado na Tab 6.2.

A primeira variação de massa corresponde a um acréscimo de aproximadamente 1.5% para a curva S15 e 3.3% para a curva S30. Este aumento de massa pode estar relacionado à transferência de moléculas de água adsorvidas na fase contendo TiO_2 para a fase do composto organo estanho. Assim a redução de massa estimada a partir da curva TS0 torna-se mais lenta. Este comportamento pode ser justificado pela comparação entre as energias de ativação para as curvas S15 e S30 em relação a energia de ativação da curva TS0 que é relativamente inferior. Os valores iniciais médio de E_a para S15 e S30 são respectivamente 127 e 120kJ enquanto o valor médio inicial de E_a para a curva TS0 corresponde a 80kJ. Durante esta etapa a ordem de reação inicial é igual a 2 e após a temperatura de 75°C passa para 1. No intervalo de transição do primeiro passo para o segundo o fator pré-exponencial sofre uma significativa redução em ambas as curvas até a temperatura de 150°C, assim como a energia de ativação reduz de 145 kJ para 88kJ na curva S30 e 150kJ para 75kJ na curva S15. O efeito cinético observado (Fig. 6.8d) corresponde

a um aumento expressivo na velocidade da reação do primeiro passo para a curva S15, sendo que o valor de k inicia-se na ordem de 10^{-6} para a curva S15 e chega a ordem de 10^{-4} na temperatura de 200°C . Para a curva S30 a constante cinética só apresenta elevação expressiva a partir de 150°C .

Assim como no primeiro passo de variação de massa, a segunda reação ($200\text{-}300^{\circ}\text{C}$) inicia-se com uma ordem igual a 2 que é alterada no final para 1. Os valores de energia de ativação não são alterados de forma expressiva, sendo o valor médio da energia de ativação para a curva S15 igual a 85kJ e para a curva S30 tem-se 92kJ (Fig. 6.8c). O fator pré-exponencial sofre reduções contínuas, entretanto o efeito da temperatura sobre o valor de k favorece o seu aumento até o início do terceiro passo de degradação. No segundo passo das curvas S15 e S30 ocorre a perda das moléculas de cristalização [87, 88]. Novamente a energia necessária para a evolução desta etapa é superior nas curvas S15 (85kJ) e S30 (92) em relação a curva TS0 (80kJ).

O último passo de degradação corresponde à formação do óxido de estanho (SnO_4) e é caracterizado por uma energia de ativação constante em ambas as curvas com valor médio de 118kJ , e um fator pré-exponencial médio de 4.9 (Fig 9b). Para este passo verifica-se uma elevada velocidade de formação, como pode ser observado na Fig 9d em que o valor de k aumenta de 1×10^{-5} para 5×10^{-4} na curva S15 e 1×10^{-5} para 1×10^{-4} na curva S30 até a temperatura de 450°C . Neste momento a reação é finalizada com a alteração da ordem de reação que passa de 2 para 1.



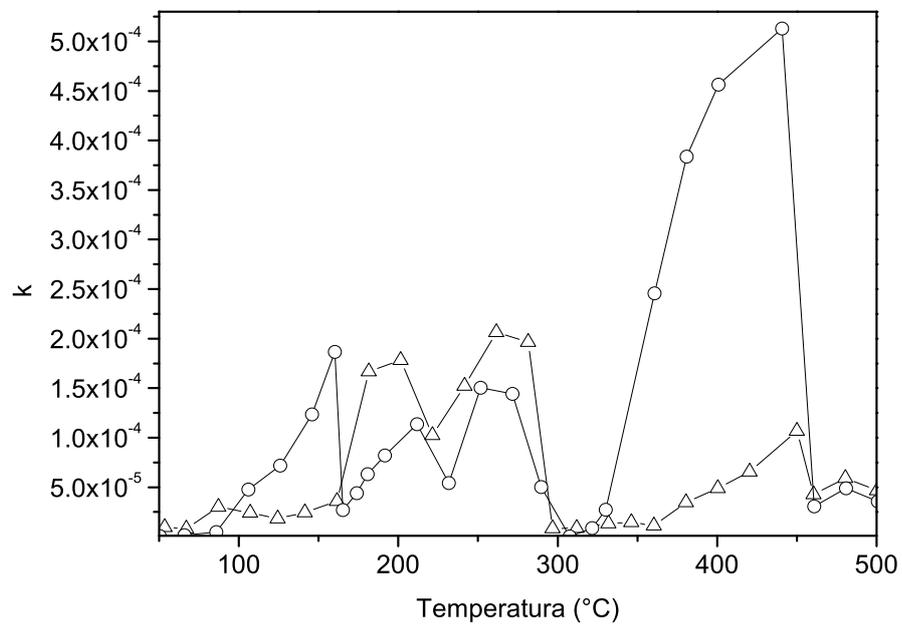
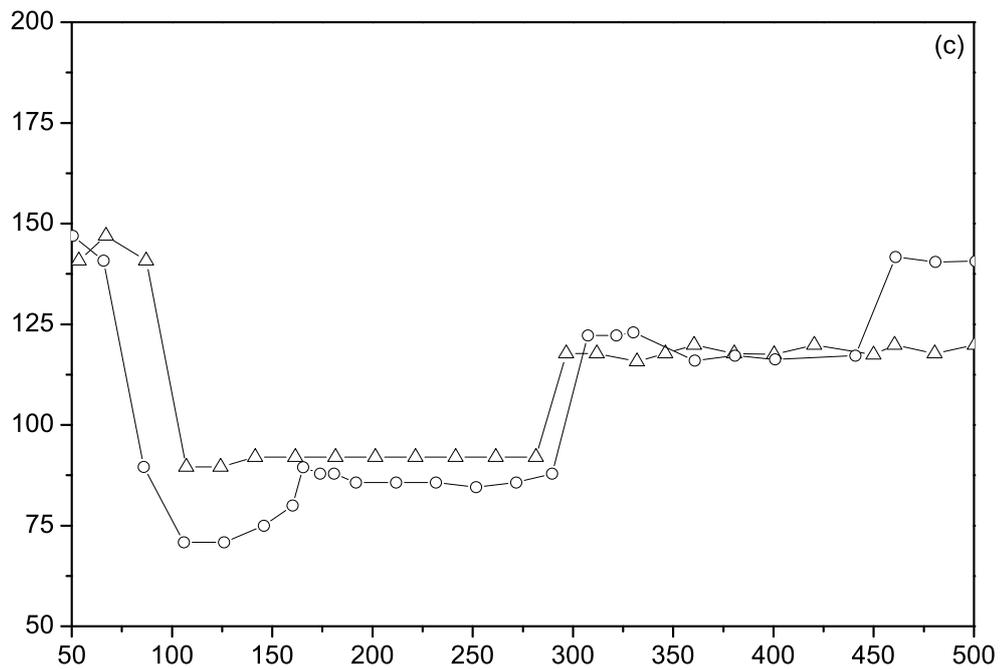


Figura 6.8: Evolução dos parâmetros cinéticos: (a) ordem de reação n ; (b) fator pré-exponencial A , (c) energia de ativação E_a e (d) constante cinética (k) para as curvas TG S15 (círculo aberto) e S30 (triângulo aberto).

6.5 Conclusão

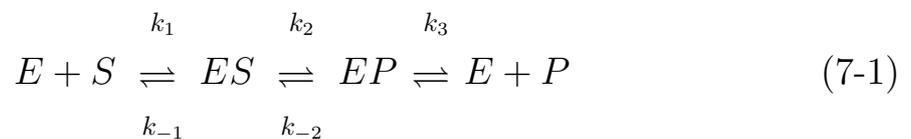
A determinação dos parâmetros de Arrhenius e da ordem de reação (n) foram obtidos de forma satisfatória a partir do sistema constituído pelos módulos de otimização (AG) e simulação dinâmica (Rede de Petri). O sistema químico estudado corresponde ao processo de decomposição de uma mistura de hidróxido de titânio e o composto cloro-tributilestanho(IV). Neste estudo foi proposto um novo modelamento cinético, onde os parâmetros de Arrhenius são descritos como funções da temperatura (Fig. 6.6 e 6.8). Esta abordagem proporcionou a simulação precisa das curvas termogravimétricas, possibilitando também a elaboração de uma sequência de eventos cinéticos fundamentados em descrições contidas na literatura pesquisada. Os resultados desta análise reforçam a aplicabilidade do sistema computacional para a determinação de rotas químicas complexas juntamente com a definição do modelo cinético mais adequado.

Capítulo 7

Determinação e Simulação de rotas metabólicas

7.1 Modelo cinético

Uma reação catalisada por enzima pode ser descrita como uma sequência geral de três etapas, sendo que no primeiro passo ocorre a formação do complexo ES a partir da reação entre a enzima e o substrato, em seguida o substrato ligado ao sítio ativo é convertido em produto. O último passo corresponde a liberação do produto por parte da enzima, que encontra-se novamente disponível para reagir com outra molécula de substrato. O processo catalítico pode ser representado pela seguinte reação:



De acordo com o Capítulo 5 (Cinética química) o modelamento cinético da reação acima pode ser descrito pela Eq. de Michaelis-Menten (pág. 52);

$$v = \frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_{cat}[E][S]}{K_m + [S]} \quad (7-2)$$

sendo, $[P]$ a concentração molar do produto formado, $[S]$ corresponde a concentração do substrato, $[E]$ é a concentração da enzima, K_m é a constante

de Michaelis-Menten e k_{cat} define a constante de velocidade referente a etapa mais lenta após a formação do complexo ES de acordo com a reação catalítica (Eq. 7-1).

Esta equação (Eq. 7-2) pode ser simplificada, se $[S] \ll K_m$; neste caso o modelo cinético de Michaelis-Menten é transformado em um processo denominado *pseudo-primeira ordem* em relação a enzima e também em relação ao substrato, o resultado desta aproximação pode ser descrito da seguinte forma:

$$v = k[E][S] \quad (7-3)$$

sendo k a constante cinética de segunda ordem e corresponde a razão k_{cat}/K_m .

7.2 Biosíntese do ácido fosfatídico

Os compostos glicero-fosfolipídeos são os principais componentes das membranas celulares. Os fosfolipídeos são formados por duas cadeias de ácidos graxos ligadas a uma molécula de glicerol. O terceiro sítio do glicerol está ligado a um grupo fosfato-hidrofílico, o qual está ligado a um composto hidrofílico, como por exemplo, colina. Cada molécula de fosfolipídeos tem uma cauda hidrofóbica composta por duas cadeias de ácidos graxos e uma extremidade hidrofílica. Nos tecidos animais, os triacilgliceróis e os glicerofosfolipídeos, como a fosfatidiletanolamina, compartilham os precursores acil-graxo-CoA e o L-glicerol 3-fosfato assim como vários passos enzimáticos em suas respectivas vias de biosíntese. A maior parte do glicerol 3-fosfato é derivado da diihroxiacetona fosfato (DHAP), um intermediário da via glicolítica, pela ação da enzima glicerol 3-fosfato desidrogenase ligada a NADH; no fígado e nos rins, ele também é formado do glicerol pela ação da glicerol quinase. Os outros precursores do triacilgliceróis são os acil-graxos-CoA, formados dos ácidos graxos pelas acil-CoA sintetases, as mesmas enzima responsáveis pela ativação dos ácidos graxo para a β oxidação [1, 8, 98, 99].

O primeiro estágio na biosíntese dos triacilgliceróis é a acilação dos dois grupos hidroxilas livres do L-glicerol 3-fosfato por duas moléculas de acil-graxo-CoA para liberar o diacilglicerol 3-fosfato, comumente chamado de ácido fosfatídico ou fosfatidato. Embora o ácido fosfatídico ocorra apenas em micro quantidades nas células é um intermediário central na biosíntese dos lipídeos; ele pode ser convertido tanto em triacilgliceróis como em glicerofosfolipídeos na via que leva aos triacilgliceróis, o fosfatidato é hidrolizado pelo ácido fosfatídico fosfatase para formar um 1,2-diacilglicerol. Os diacilgliceróis são então convertidos em triacilgliceróis por transesterificação com um terceiro acil-graxo-CoA [1, 8, 98, 99].

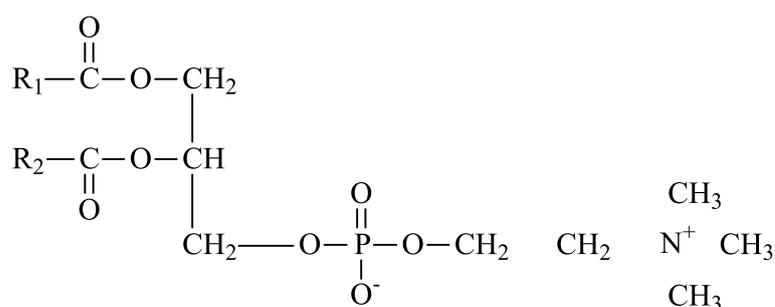


Figura 7.1: Ácido fosfatídico.

A primeira aplicação bioquímica para o sistema desenvolvido corresponde à rota bioquímica de produção de 1,2-diacilglicerol 3-fosfato. A rota metabólica analisada é constituída por 4 reações acopladas de acordo com a Fig 7.2 [1, 40, 100–103]. Estas quatro reações são apresentadas na Tab. 7.1, com as respectivas enzimas catalisadoras. Na terceira coluna da Tab 7.1 são apresentadas as constantes de reação determinadas experimentalmente para cada reação [40, 100–103]. Estas quatro reações estão completamente descritas na literatura [40, 100–103], onde foi possível extrair dados do perfil de concentração por tempo (Fig. 7.3) para os instantes iniciais do processo de formação *in vitro* do 1,2-diacilglicerol 3-fosfato.

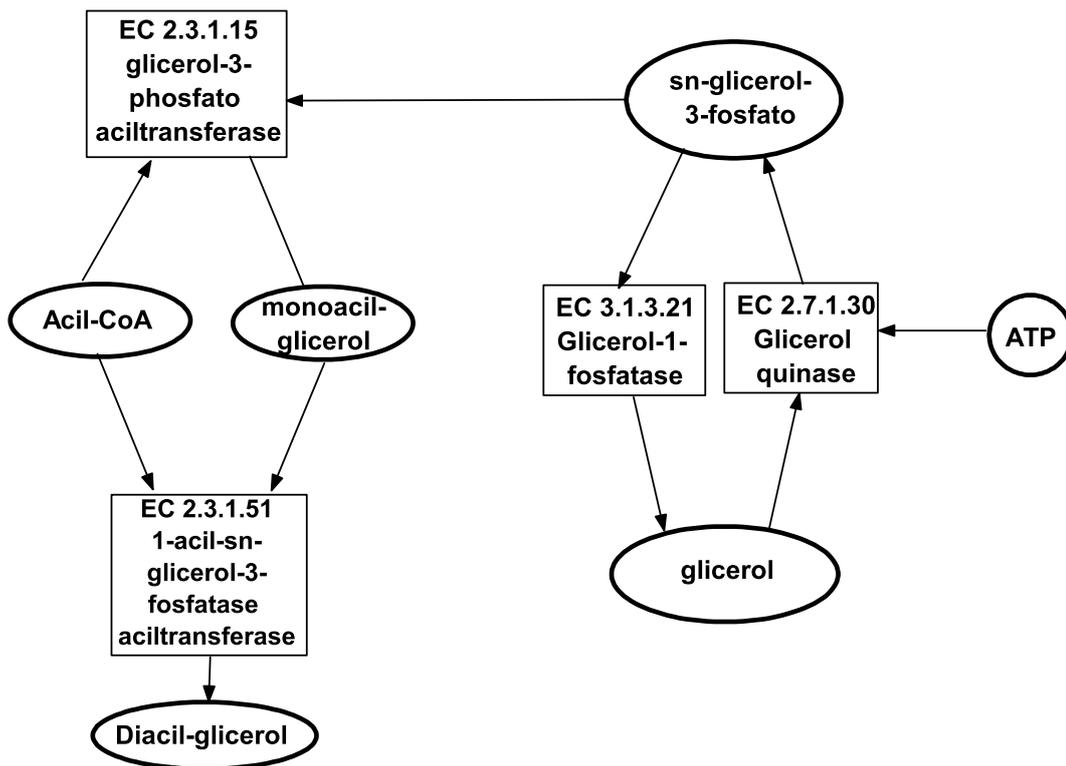


Figura 7.2: Rota metabólica para síntese do 1,2-diacilglicerol 3-fosfato.

Para otimização da rota Fig. 7.2 através do AG (Cap. 5 - pág. 67) foi definida uma população com 1000 indivíduos. Cada indivíduo descreve as reações presentes na rota, e os substratos presentes em cada reação. Para esta simulação, a concentração de cada enzima é mantida constante em 1mM. A quantidade de acil-CoA é definida a partir de uma taxa de difusão constante e fixada em $1\mu M/s$ [40] que fornece o substrato para o processo bioquímico. A concentração inicial para os substratos ATP e Glicerol são fixados em 0,1mM (ou $100\mu M$).

De acordo com o perfil de concentração de referência (Fig. 7.3) a rota inicia-se com o consumo dos substratos de partida (ATP e Glicerol) e formação imediata do substrato intermediário (sn-glicerol-3-fosfato). Neste instante inicial ($t < 5ms$) a produção de 1,2-diacilglicerol ainda é inexpressiva, pois a quantidade acil-CoA ainda não forneceu material suficiente para o

Tabela 7.1: Reações catalisadas para a biosíntese do 1,2-diacilglicerol 3-fosfato

Enzima	EC	Reação catalisada	Constante cinética ($\times 10^5$)	Ref.
Glicerol quinase	2.7.1.30	$\text{ATP} + \text{glicerol} \rightarrow \text{ADP} + \text{sn-glicerol-3-fosfato}$	278	[40, 100]
Glicerol 3-fosfatase	3.1.3.21	$\text{sn-glicerol-3-fosfato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{glicerol} + \text{fosfato}$	5.52	[40, 101]
Glicerol-3-fosfato aciltransferase	2.3.1.15	$\text{acil-CoA} + \text{sn-glicerol 3-fosfato} \rightarrow \text{CoA} + \text{1-acil-sn-glicerol 3-fosfato}$	1.46	[40, 101]
1-acil-sn-glicerol 3-fosfatase aciltransferase	2.3.1.51	$\text{acil-CoA} + \text{1-acil-sn-glicerol 3-fosfato} \rightarrow \text{CoA} + \text{1,2-diacil-sn-glicerol 3-fosfato}$	2.63	[40, 103]

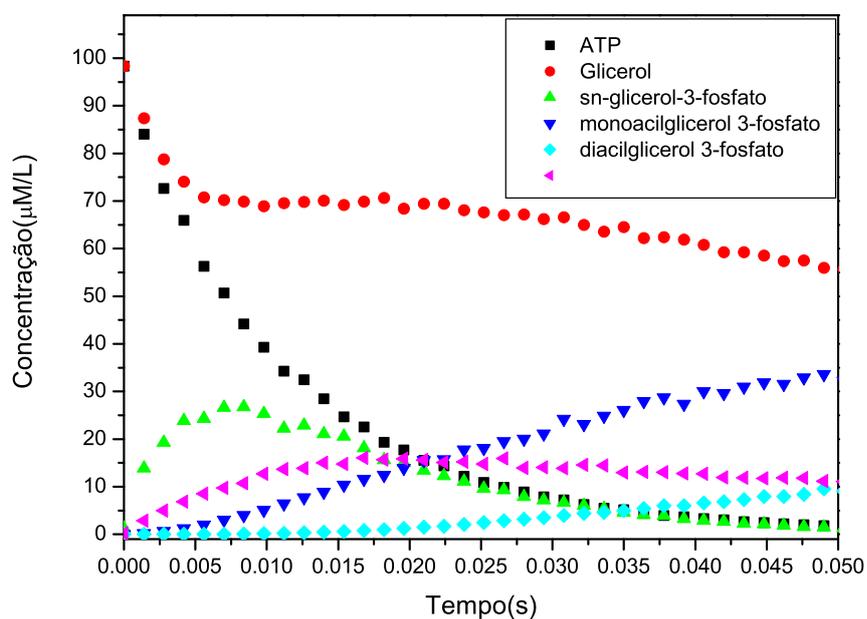


Figura 7.3: Dados de referência [47] para o perfil de concentração para os substratos da rota descrita na Fig. 7.2.

processo. Como pode ser observado na Fig 7.3, a partir do instante 10ms a produção de monoacilglicerol 3-fosfato torna-se mais expressiva ($C > 5 \mu M$) para o 1,2-diacilglicerol 3-fosfato a concentração de $5 \mu M$ é alcançada a partir do instante 35ms. Neste mesmo instante o sn-glicerol-3-fosfato passa a ser consumido para a produção de 1,2-diacilglicerol 3-fosfato sendo também consumido para manter a concentração de glicerol aproximadamente estável em uma faixa de concentração entre 60 e $70 \mu M$. O processo cinético de formação do substrato sn-glicerol-3-fosfato é 10^2 vezes mais rápido do que a formação dos compostos monoacilglicerol ou 1,2-diacilglicerol. Durante toda a reação as concentrações dos compostos monoacilglicerol 3-fosfato e 1,2-diacilglicerol 3-fosfato alcançam os valores de 40 e $20 \mu M$, respectivamente. Entretanto em apenas 5ms, ou seja, 10 vezes mais rápido, o sn-glicerol-3-fosfato atinge a sua concentração máxima de $30 \mu M$.

A construção da rota metabólica para as primeiras gerações do AG apresentam um aspecto pouco representativo para a descrição do perfil de concentração. A partir da geração 100 a rota metabólica já começa a apresentar elementos que serão encontrados na solução final do processo de evolução. Para exemplificar, a Fig. 7.4 mostra a rota metabólica descrita pelo melhor indivíduo na geração 100 com um valor de fitness de 15.6. Para esta rota (Fig. 7.4) a seguinte reação: ($ATP + glicerol \rightarrow ADP + sn - glicerol - 3 - fosfato$); já se encontra no sentido correto de execução. Entretanto, algumas reações parecem distantes do objetivo da simulação, como por exemplo a reação $acil-CoA + monoacilglicerol 3-fosfato \rightarrow ATP$ que não apresenta qualquer base química, e também posiciona o substrato ATP como um produto, sendo que esta espécie é constantemente consumida de acordo com a rota de referência (Fig. 7.2). Outra característica particular desta rota refere-se a exclusão do 1,2-diacilglicerol-3-fosfato do processo cinético, sendo que a concentração desta espécie permanece igual a zero durante toda a simulação.

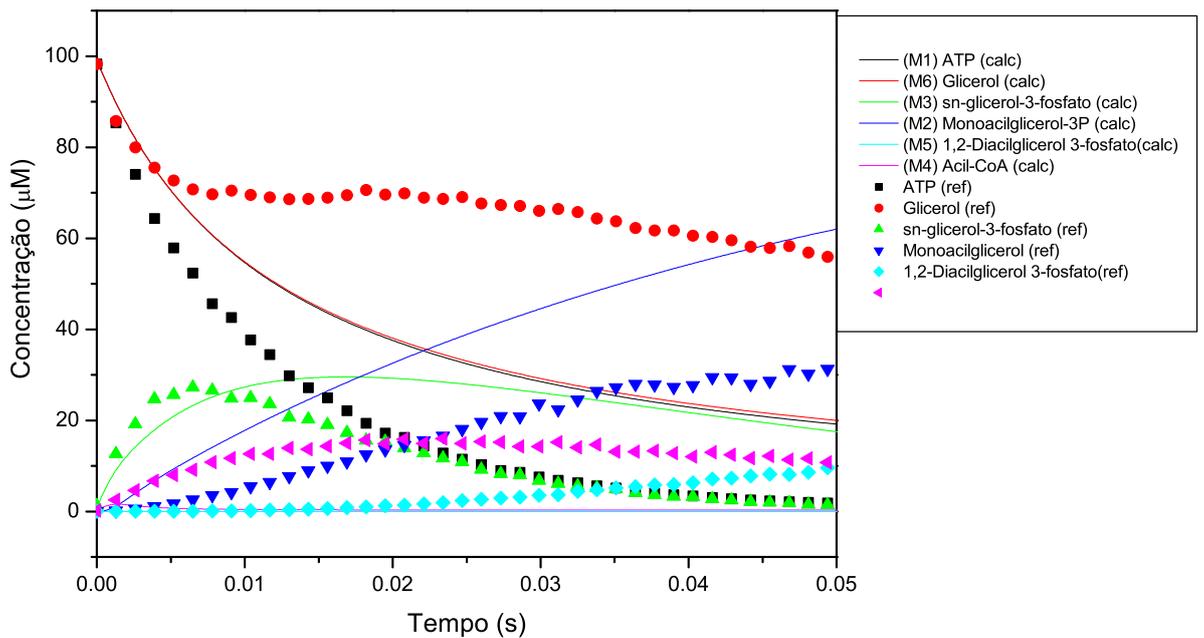
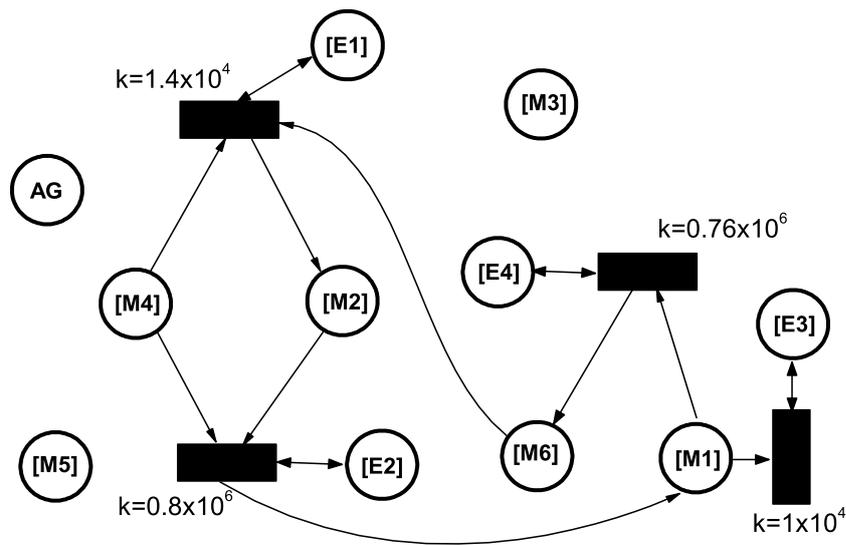


Figura 7.4: Rota metabólica e perfil de concentração gerado pelo melhor indivíduo da geração 100.

O processo de evolução do AG proporcionou à solução descrita anteriormente o primeiro lugar no ranking de adaptação. Entretanto, durante a evolução dos próximos ciclos do algoritmo genético a informação deste

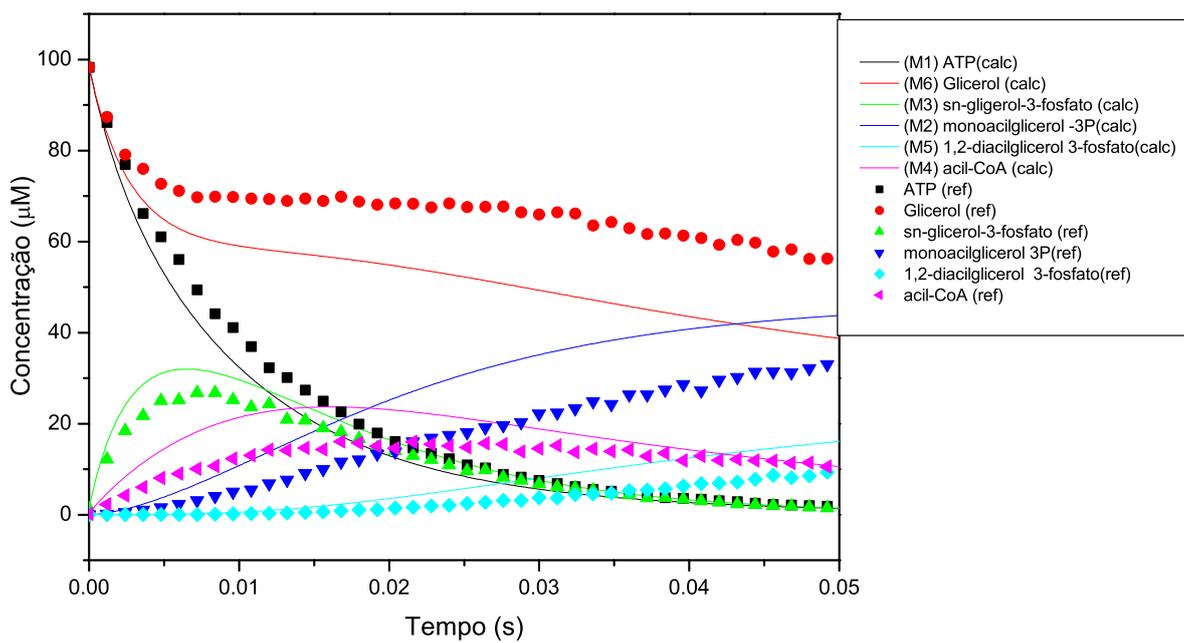
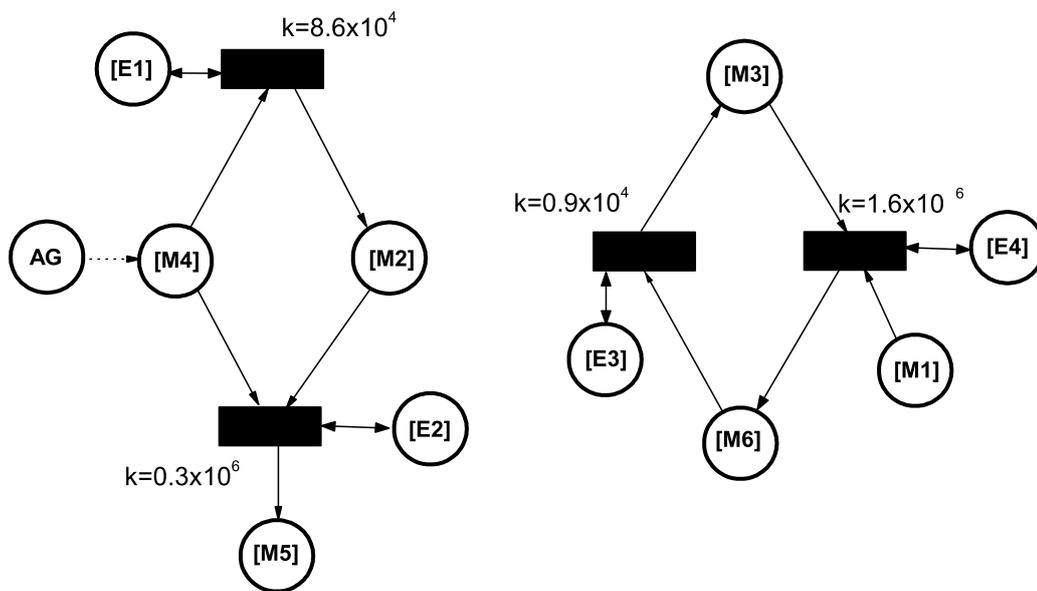


Figura 7.5: Rota metabólica e perfil de concentração gerado pelo melhor indivíduo da geração 200.

indivíduo tornou-se obsoleta, acarretando na sua eliminação por parte do operador predador. Na geração 200 o melhor indivíduo descreve a rota metabólica representada pela rede de Petri da Fig. 7.5, juntamente com o seu perfil de concentração. Esta rota contém todas as reações executadas na ordem correta, entretanto os valores das constantes cinéticas não estão em acordo com os dados de referência e devido a esta característica o valor da função fitness é de 6.20.

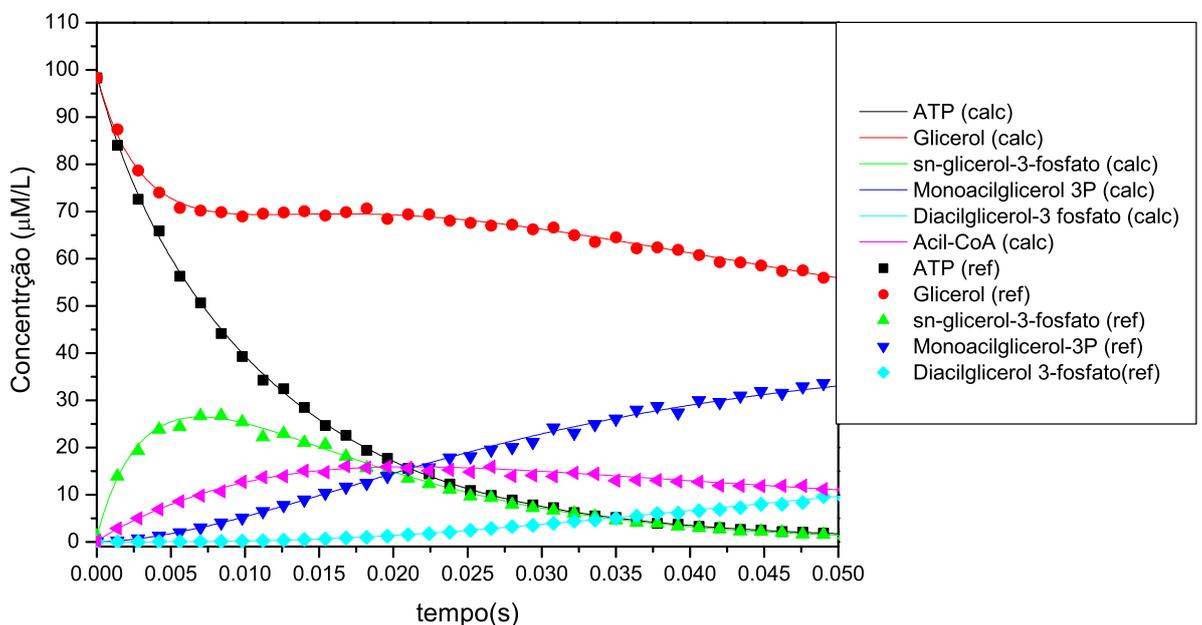


Figura 7.6: Perfil de concentração definido pela melhor classe da população na geração 523.

O critério de convergência do AG foi ativado para a geração 523. Para esta geração o melhor indivíduo apresenta um valor de fitness de 0.15. A Fig. 7.6 mostra o perfil de concentração obtido para a melhor classe de indivíduos comparado com o perfil de concentração dos dados de referência. As diferenças observadas entre os dois perfis de concentração estão dentro de uma margem máxima de 1%.

Para este perfil de concentração o AG determinou a rota química apresentada na Fig. 7.7 após 523 gerações. Os valores das constantes cinéticas

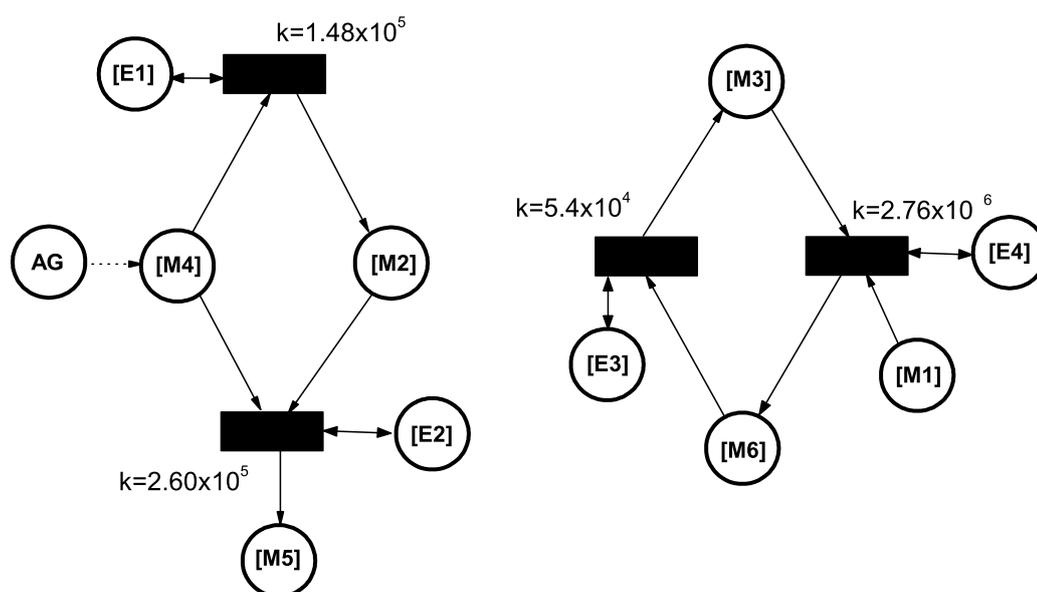


Figura 7.7: Rede de Petri definida como solução para o processo de otimização da rota da Fig 7.2.

otimizadas estão na Tab 7.2. De acordo com o desvio definido para cada constante cinética, apenas a constante referente a enzima glicerol 3-fosfato apresentou uma faixa que não contempla o valor de referência, sendo que para este valor o erro em relação a referência foi de 2.2%. Para as outras enzimas o erro percentual não ultrapassa o valor de 1.1% em relação a referência.

Tabela 7.2: Constantes cinéticas otimizadas

Enzima	EC	$k(\text{AG}) \times 10^5$	$k(\text{Ref.}) \times 10^5$	Erro(%)
Glicerol quinase	2.7.1.30	276 ± 4	278	0.7%
Glicerol 3-fosfatase	3.1.3.21	5.40 ± 0.05	5.52	2.2%
Glicerol-3- fosfato aciltransferase	2.3.1.15	1.48 ± 0.04	1.46	0.7%
1-acil- sn-glicerol 3-fosfatase aciltransferase	2.3.1.51	2.60 ± 0.05	2.63	1.1%

A partir dos valores da constante de velocidade (Tab 7.2) é possível calcular a velocidade da reação para qualquer concentração de substrato de acordo com a descrição da cinética de Michaelis-Menten (pág. 57). Desta forma a construção de um perfil de concentração possibilita a simulação da rota

metabólica em qualquer configuração de concentração dos substratos. Para exemplificar, a partir da rota metabólica otimizada, pode ser gerado o perfil de concentração da Fig 7.8, na qual todos os substratos, exceto o 1,2-diacilglicerol tem concentração inicial igual a $100\mu M$. Nesta simulação as concentrações de glicerol e monoacilglicerol são aproximadamente constantes (entre 90 e $110\mu M$). O sn-glicerol-3-fosfato embora seja inicialmente consumido para a formação do monoacilglicerol 3-fosfato a reação $ATP + \text{glicerol} \rightarrow ADP + \text{sn-glicerol-3-fosfato}$ tem a função de recompor o estoque de sn-glicerol-3-fosfato na rota metabólica, mantendo-o aproximadamente constante. Para os substratos acil-CoA e sn-glicerol-3-fosfato as velocidades de consumo são consideravelmente maiores e reduzem as concentrações para níveis próximos de zero, assim como ocorre com os dados de referência. Com a nova composição do sistema reacional o 1,2-diacilglicerol-3-fosfato é rapidamente formado, mas devido ao consumo do acil-CoA presente, a velocidade reduz impedindo a continuidade do processo.

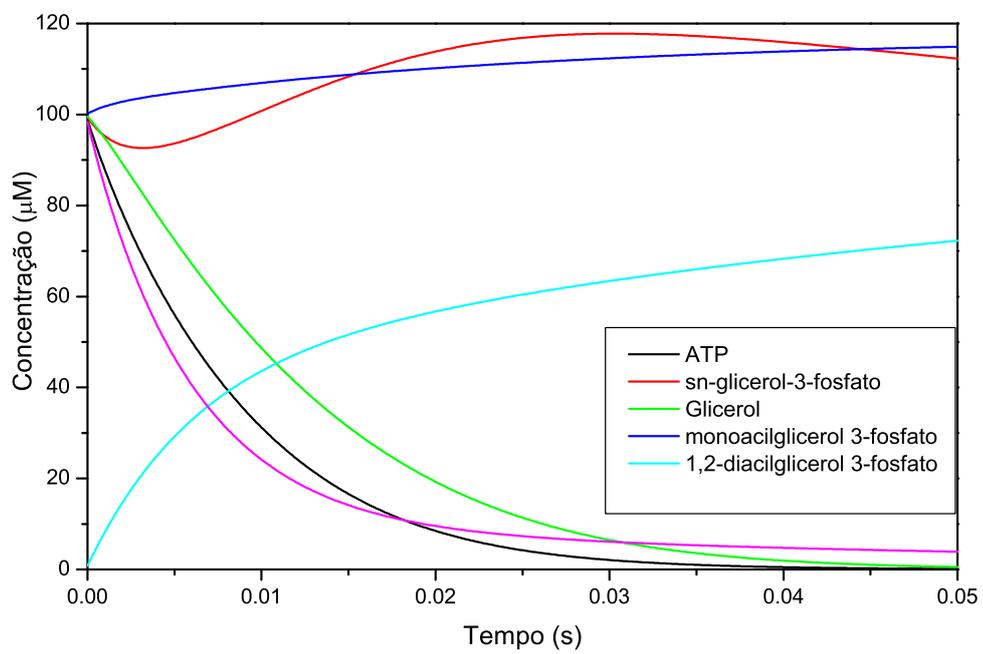


Figura 7.8: Perfil de concentração simulado a partir da rota otimizada (Fig 7.7).

7.3 Ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico é a junção metabólica central da célula, sendo a rota do metabolismo aeróbico de qualquer molécula que possa ser transformada em um agrupamento acetila ou em um ácido dicarboxílico tais como glicídios, ácidos graxos e aminoácidos. O ciclo corresponde também a uma fonte de precursores para forma de armazenamento de energia (ATP, GTP, NADH, dentre outros) e também biossíntese de diversas moléculas tais como aminoácidos, bases de nucleotídeos, colesterol e porfirinas. [98, 99]

Diferente de uma via metabólica linear como a glicólise ou gliconeogênese, o ciclo do ácido cítrico retorna sempre a sua posição de partida, comportando-se como um catalisador de múltiplas etapas. O ciclo do ácido cítrico leva a oxidação completa dos átomos de carbono dos grupos acetila da Acetil-CoA, convertendo-os em CO_2 e impulsionando a síntese de ATP a partir da energia liberada, o que corresponde a dois terços dos processos de oxidação de átomos carbonos que ocorre nas células. De acordo com os banco de dados consultados [1, 8], o ciclo do ácido cítrico é constituído por 21 reações (Fig 7.9), entretanto existem uma cadeia de reações principais onde são processadas as reações de oxidação e liberação de energia, esta sequência envolve um ciclo de 8 etapas catalisadas por diferentes enzimas (Fig 7.9).

O ciclo inicia-se com uma reação de condensação do oxaloacetato com acetil-CoA gerando citrato, que em seguida é isomerizado a isocitrato. A descarboxilação oxidativa do isocitrato fornece o α -cetogluturato, liberando uma molécula de CO_2 . A segunda molécula de dióxido de carbono é eliminada na reação de descarboxilação do α -cetogluturato originando a succinil-CoA. A ligação tioéster da succinil-CoA apresenta uma energia elevada sendo clivada por um ortofosfato para produzir succinato e guanosina trifosfato (GTP), espécie energeticamente semelhante ao ATP. O succinato é oxidado a fumarato que é então hidratado formando malato. A reação final do ciclo corresponde

a oxidação do malato a oxaloacetato. Os dois átomos de carbono são introduzidos no ciclo na forma de um grupo acetil e duas moléculas de CO_2 são liberadas por descarboxilações sucessivas. Para as quatro reações de oxiredução do ciclo 3 pares de elétrons são transferidos para 3 moléculas de NAD^+ e um par é transferido para uma molécula de FAD. Estas moléculas reduzidas são posteriormente oxidadas pela cadeia transportadora de elétrons, gerando 9 moléculas de ATP. A Fig 7.9 mostra o ciclo do ácido cítrico inserido no contexto metabólico mais amplo envolvendo reações de regulação e biossíntese a partir de moléculas intermediárias do ciclo [1, 8].

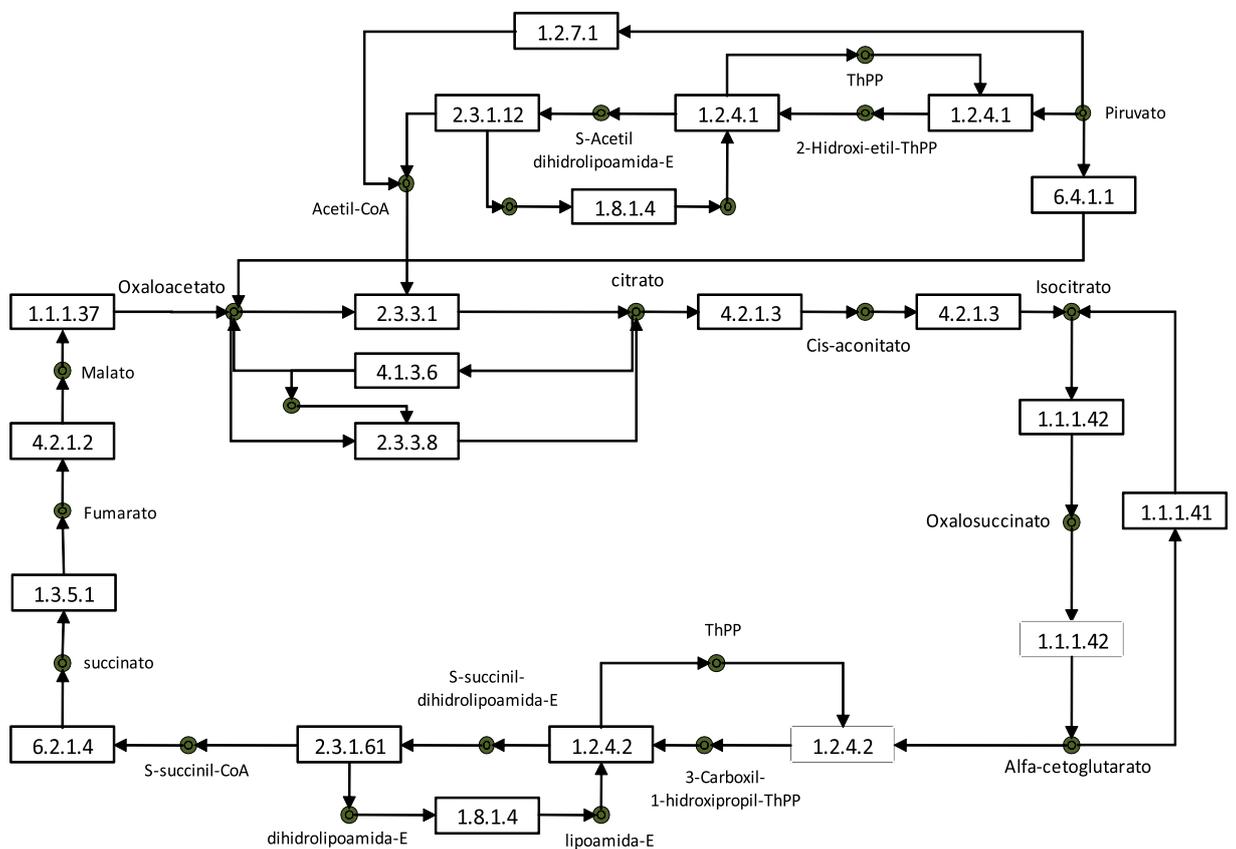


Figura 7.9: Ciclo do ácido cítrico (Ref. [1]).

A otimização do ciclo do ácido cítrico por parte do sistema implementado apresentou um processo consideravelmente mais complexo,

pois envolveu uma elevada quantidade de reações e uma base de referência incompleta. O ciclo do ácido cítrico não pode ser considerado como uma ilha metabólica onde a sequência de 8 reações ocorre sem interferências de outros processos metabólicos, assim, todos os substratos descritos de acordo com o banco de dados KEGG [1] foram inseridos como componentes do ciclo. Para esta composição de substratos as concentrações iniciais foram definidas de acordo com o valor da constante de Michaelis-Menten [98]. Para estes substratos foram utilizados como base de referência as concentrações de equilíbrio para o microorganismo *E-coli*, pois não existem bases de dados cinéticos de perfil de concentração por tempo para estes compostos descritos na literatura consultada a partir dos bancos de dados das Refs. [1] e [8]. Entretanto a formação das moléculas carreadoras de energia: NADH, $FADH_2$ e GTP puderam ser utilizados assim como na aplicação da rota de formação do 1,2diacilglicerol (seção anterior). O CO_2 liberado pelo ciclo também compõe a base de referência. O tempo de simulação utilizado foi de 120 segundos sendo este valor elevado o suficiente para que as concentrações de todos os substratos pudessem estar na condição de equilíbrio dinâmico, isto é, embora os processos catalíticos estejam em transformação constante dos respectivos substratos a característica cíclica da rota metabólica proporciona uma composição quase estável para os substratos intermediários. A Tab 7.3 mostra os valores de concentração de referência [104–124] e também as concentrações definidas pelo sistema de otimização.

A entrada de átomos de carbono no ciclo do ácido cítrico é definida pelo suprimento de piruvato que a rota tem a disposição, assim; para que a rota metabólica não fosse paralisada por falta de um substrato iniciador a concentração de piruvato foi definida como permanentemente constante. Para a obtenção dos resultados da Tab. 7.3 foram realizados 20 ciclos de otimização que resultaram na definição de uma faixa de concentração estatística. Para cada execução do processo de otimização foi definida uma população de 1000

Tabela 7.3: Concentração dos substratos definidos no ciclo do ácido cítrico (Fig 7.9)

Composto	Conc. Ref (mM)	Concentração otimizada (mM)
piruvato(*)	0.020	constante
oxaloacetato	0.67	0.65 ± 0.03
acetil-CoA	0.020	0.022 ± 0.003
CoA	0.025	0.030 ± 0.003
dihidrolipoamida	0.023	0.028 ± 0.003
S-acetildihidrolipoamida	0.024	0.028 ± 0.003
Lipoamida	0.20	0.24 ± 0.04
citrato	0.14	0.17 ± 0.03
acetato	0.012	0.015 ± 0.003
cis-aconitato	0.058	0.061 ± 0.006
Isocitrato	2.70	2.65 ± 0.08
Oxalocuccinato	3.5	3.45 ± 0.06
α -cetoglutarato	5.8	5.7 ± 0.1
S-succinildihidrolipoamida	0.10	0.12 ± 0.02
succinil-CoA	0.10	0.11 ± 0.02
Succinato	0.25	0.25 ± 0.03
Fumarato	1.17	1.13 ± 0.04
Malato	0.014	0.015 ± 0.003

indivíduos. O critério de convergência segue o mesmo princípio das demais rotas químicas otimizadas, ou seja, a execução do AG é finalizada quando o desvio da função Fitness é inferior a 1% da média da população, sendo que para a otimização do ciclo do ácido cítrico foram necessárias em média 930 ± 60 gerações. Devido a um tempo de simulação elevado (120 segundos) com um passo temporal pequeno (0.1ms) o tempo de simulação da rede de Petri proporcionou a elevação do tempo computacional de todo o processo de otimização. Para cada otimização foram necessárias aproximadamente 3 dias de processamento utilizando a estrutura computacional do cluster (Apêndice A).

A concentração inicial de cada substrato foi definida de forma aleatória, mas próxima da concentração de equilíbrio. Embora esta definição de concentração inicial possa favorecer a convergência do processo de otimização, a concentração se manterá constante somente se o processo cinético estiver corretamente otimizado, caso contrário ocorrerá o consumo e formação de forma desfavorável à constituição de referência.

A evolução temporal da concentração dos substratos diretamente envolvidos com as reações de formação de compostos energéticos é apresentada na Fig 7.10. O comportamento do processo de simulação demonstra que a partir do instante 10s os substratos estão próximos da concentração de equilíbrio, exceto o α -cetoglutarato que atinge a concentração próxima ao equilíbrio após 40 segundos de simulação. Algumas reações, tal como a conversão de citrato em cis-aconitato apresentam níveis de concentração dos substratos e produtos que se diferenciam em mais de uma ordem de grandeza, estas diferenças estão fundamentadas no comportamento cinéticos das respectivas enzimas, que pode favorecer a reação no sentido contrário, desta forma a retirada do produto (cis-aconitado) desloca o processo cinético para a reposição de cis-aconitato, mantendo o ciclo no sentido que favorece a produção de moléculas energéticas, tais como NADH, FADH₂ e GTP.

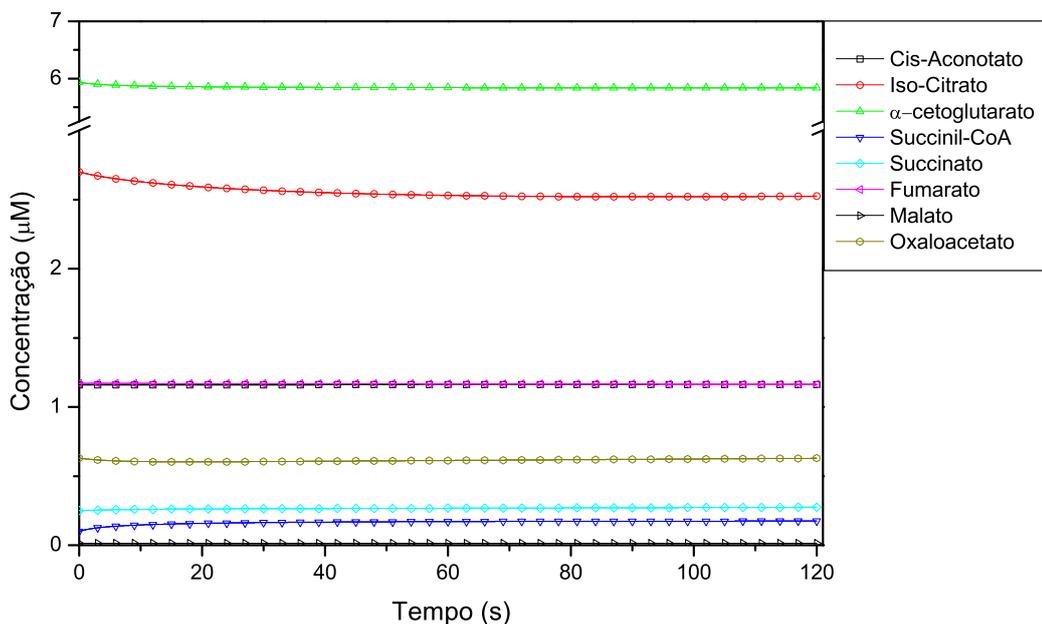


Figura 7.10: Evolução temporal dos substratos do ciclo do ácido cítrico.

Durante a evolução da rota do ciclo do ácido cítrico os compostos GDP, NAD^+ e FAD são constantemente consumidos para as respectivas formações dos compostos NADH (Fig 7.11), GTP (Fig 7.12) e FADH_2 (Fig 7.13). O processo de simulação utilizou duas condições experimentais para cada precursor: primeiramente concentração inicial de cada precursor citado (GDP, NAD^+ e FAD) foi definida como sendo igual a $100\mu\text{M}$, desta forma a rota metabólica não apresentará restrição de substratos. A segunda condição manteve a concentração dos precursores constantes em 7.6, 4.5 e $5.0\mu\text{M}$, respectivamente.

Dentre os três compostos energéticos o NADH é formado em maior quantidade, pois existem três pontos de formação para o mesmo composto. Embora as reações de formação dos compostos energéticos tenham constantes de velocidade diferentes, a concentração dos substratos envolvidos exerce um controle cinético e proporciona uma evolução aproximadamente estequiométrica ($3\text{NADH}:1\text{FADH}_2:1\text{GTP}$). O comportamento cinético similar

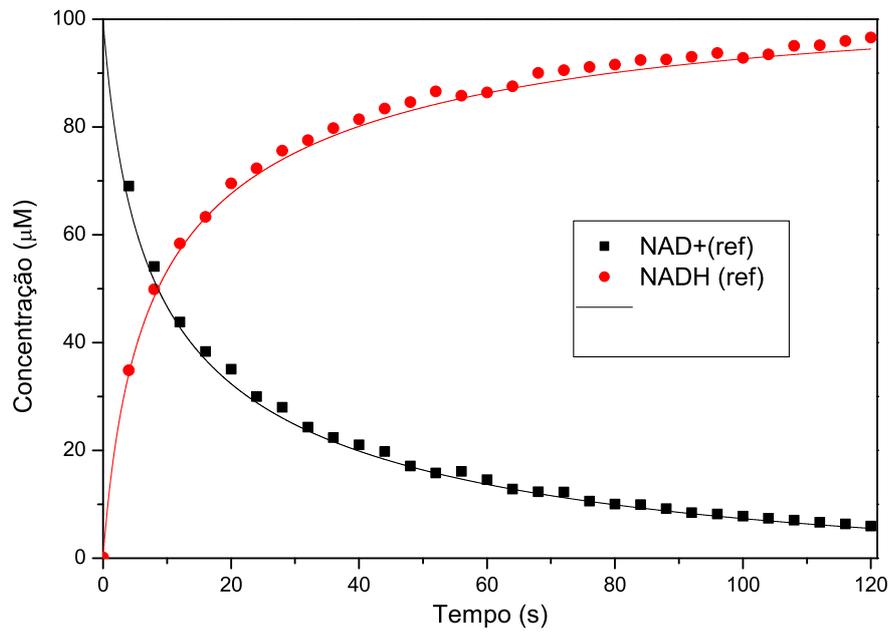


Figura 7.11: Perfil de concentração para os compostos NAD+ e NADH.

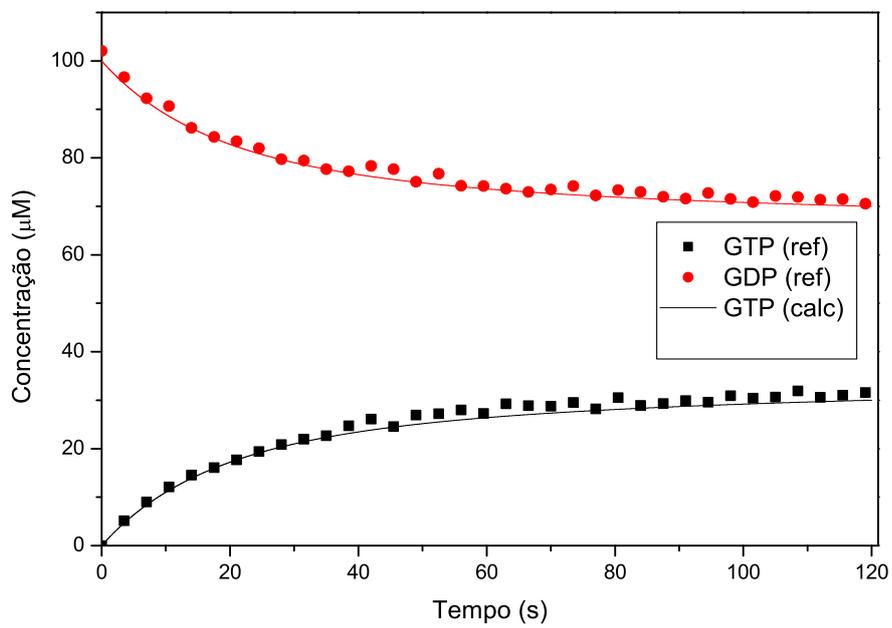


Figura 7.12: Perfil de concentração para os compostos GDP e GTP..

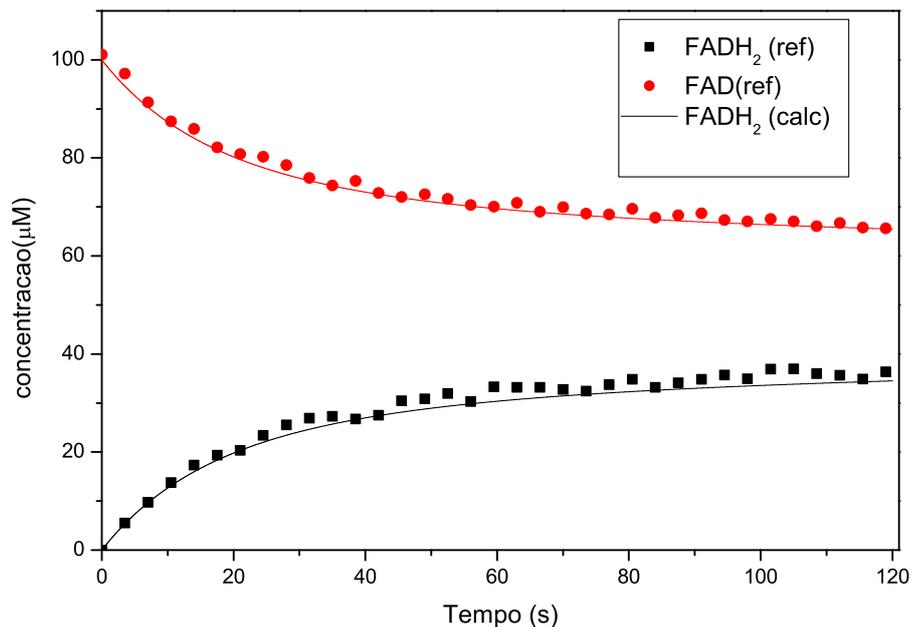


Figura 7.13: Perfil de concentração para os compostos FAD e FADH₂.

para a formação dos compostos citados reforça a declaração de que o ciclo atua como um catalisador de múltiplas etapas, apresentando intermediários que tem concentração aproximadamente constantes (Tab 7.3 e Fig 7.10) e produzindo compostos que do ponto de vista cinético apresentam um perfil de concentração global descrito pela cinética de Michaelis-Menten.

O processo de oxidação do ciclo do ácido cítrico libera CO₂ a partir de duas reações de descarboxilação. A concentração de dióxido de carbono é apresentada na Fig 7.14. O dióxido de carbono formado atua no equilíbrio ácido-base da célula, sendo que maior parte encontra-se na forma de bicarbonato ($CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$). Para a execução do sistema a concentração de referência para o dióxido de carbono é definida na faixa entre 22 e 32 μM [125, 126], sendo que a concentração média definida pelo sistema é de $28 \pm 5 \mu M$. O desvio na definição do teor de CO₂ deve-se ao grau de liberdade elevado para a definição do valor de referência.

O processo de otimização e simulação do ciclo do ácido cítrico também

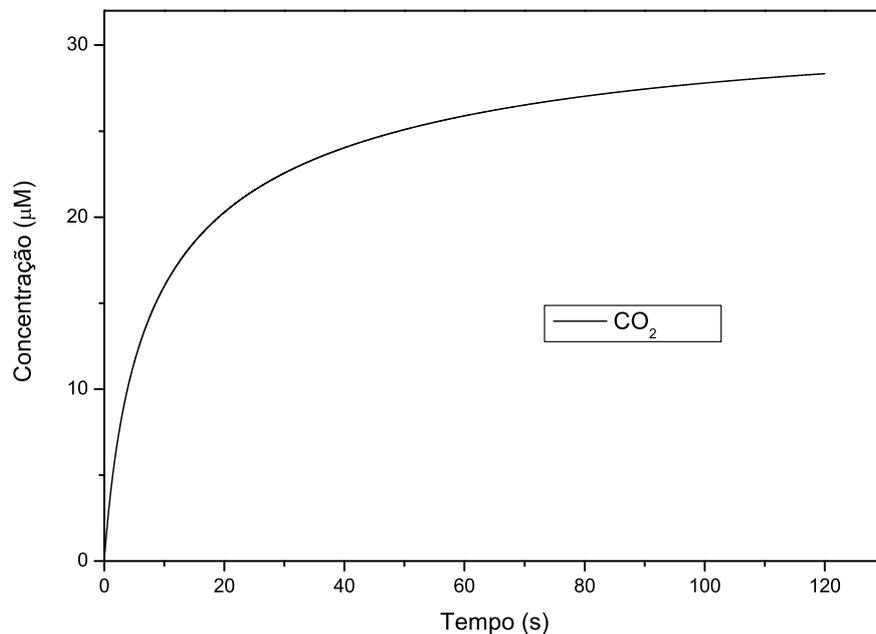


Figura 7.14: Formação de CO₂ liberado durante o ciclo do ácido cítrico.

foi conduzido utilizando concentrações constantes para os substratos NAD⁺, FAD e GDP, neste caso foram utilizadas respectivamente 7.6, 4.5 e 5.0 μM. O perfil de concentração de cada produto é apresentado na Fig 7.15. O comportamento cinético da rota metabólica direcionado durante o processo de otimização pelos dados de referência conduzem a formação dos compostos NADH, FADH₂ e GTP para níveis fisiológicos adequados, sendo estes definidos na literatura [114,115,119,126] definidos respectivamente como: concentração NADH entre 7 e 12 μM, concentração de FADH₂ entre 3 e 5 μM e concentração de GTP entre 3 e 6 μM. Como pode ser observado as concentrações no final da simulação estão de acordo com as faixas fisiológicas e também mantêm uma relação de proporcionalidade, sendo que o teor de NADH é aproximadamente 3 vezes superior às quantidade de FADH₂ e GTP.

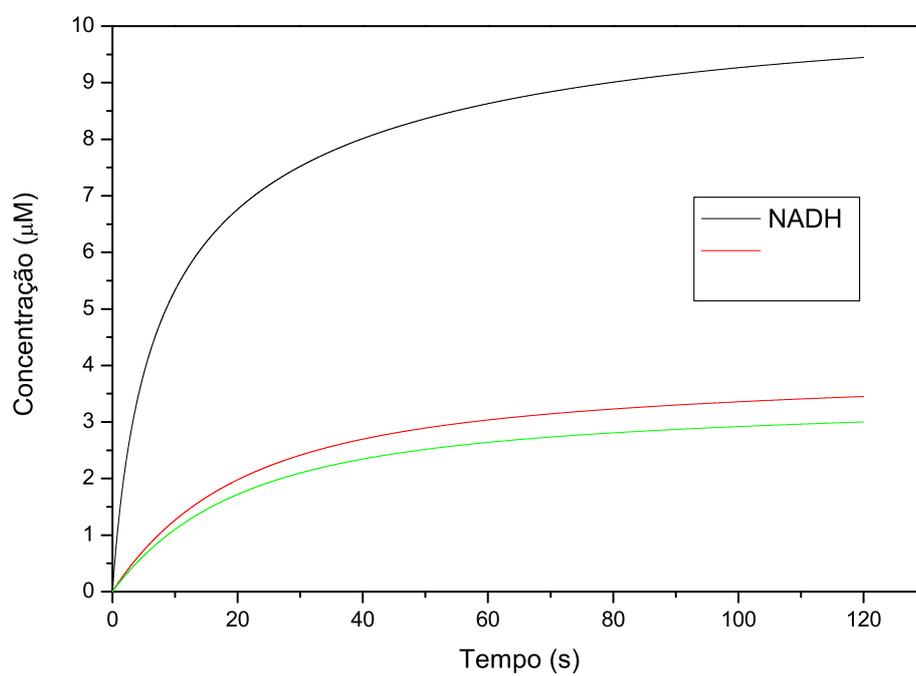


Figura 7.15: Formação de NADH, FADH₂ e GTP a partir de precursores com concentração fisiológica constante.

7.4 Conclusão

A identificação de rotas metabólicas e a parametrização de modelos cinéticos é essencial para compreensão do comportamento de células e possibilita o desenvolvimento de tecnologias baseadas no conhecimento de processos bioquímicos. Entretanto, a elevada complexidade das rotas metabólicas combinadas com a descrição ainda incompleta dificulta sobremaneira tais estudos. Neste capítulo o sistema inteligente desenvolvido (Cap. 5 - pág. 67) foi aplicado em duas situações; a primeira corresponde a uma rota parcial para a produção de 1,2-diacilglicerol, neste caso todos os componentes apresentavam um perfil completo de concentração por tempo, possibilitando uma determinação precisa das constantes cinéticas e da própria rota química. A segunda aplicação, apresentava uma base de referência incompleta. Apesar do ciclo do ácido cítrico ser descrito em diversos livros e artigos, o perfil cinético dos substratos não é descrito de forma completa, sendo relatado apenas o comportamento de alguns substratos: NADH e NAD⁺, FAD, FADH₂, GDP e GTP. Em particular, a segunda aplicação da metodologia inteligente demonstra em primeiro lugar a elevada aplicabilidade do sistema implementado, pois a utilização de uma base de referência incompleta pode ser facilmente utilizada pela função fitness para o cálculo da aptidão dos indivíduos. Para a maior parte dos substratos do ciclo do ácido cítrico a base de referência cinética foi substituída pela concentração do substrato em uma condição de equilíbrio dinâmico. Os resultados demonstram a capacidade do sistema de otimização e simulação em reproduzir o comportamento cinético adequado, gerando um rede de petri que pode ser aplicada em diversos ensaios simulados, analisando por exemplo a influência da deficiência ou sobrecarga de qualquer substrato.

Apêndice A

Cluster computacional

A.1 Introdução

Cluster é o nome dado a um sistema montado com mais de um computador, cujo objetivo é fazer com que todo o processamento da aplicação seja distribuído entre computadores de forma que pareça com que eles sejam um computador apenas. Com isso, é possível realizar processamentos que até então somente computadores de alta performance seriam capazes de fazer [127].

Cada computador de um cluster é denominado nó ou nodo. Todos devem ser interconectados, de maneira a formarem uma rede, de qualquer topologia. Essa rede precisa ser criada de forma que permita o acréscimo ou a retirada de um nó (em casos de danos, por exemplo), mas sem interromper o funcionamento do cluster. O sistema operacional usado nos computadores deve ser preferencialmente de um mesmo tipo, ou seja, Windows ou Linux [127,128].

Independente do sistema operacional usado, é preciso usar um software que permita a montagem do cluster em si. Esse software é o responsável, entre outras coisas, pela distribuição do processamento. Esse é um ponto crucial na montagem de um cluster. É preciso que o software trabalhe de forma que erros e defeitos sejam detectados, oferecendo meios de providenciar reparos, mas sem interromper as atividades do cluster. Obviamente, esse tipo de necessidade pode ser controlada através de um equipamento específico, ou

seja, não depende apenas do software [127].

Para que exista, um cluster precisa de pelo menos dois computadores e evidentemente, quanto mais computadores existir no cluster, maiores serão os custos de implementação e manutenção, que não estão relacionados apenas com os preços dos computadores, mas também pelos equipamentos (switches, cabos, hubs, nobreaks, etc).

Aplicações para Clusters

Os clusters podem ser usados para uma infinidade de aplicações. Basicamente, para qualquer atividade que exija processamento mais intensivo. Como exemplos de aplicações, temos previsão meteorológica (previsão do tempo e condições climáticas), simulações geotérmicas (eventos no solo), renderização de efeitos especiais (filmes), simulações financeiras, cálculos químicos [127].

Basicamente, qualquer tipo de aplicação crítica, ou seja, aplicações que não podem parar de funcionar ou não podem perder dados, como por exemplo, os sistemas de bancos. Assim, o cluster deve contar com nobreaks ou geradores que garantam o funcionamento do sistema mesmo nos casos de queda de energia, além de meios de manutenção e detecção de falhas [127].

A.2 Cluster Beowulf

O nome Beowulf vem de um poema épico tradicional, escrito em inglês antigo, onde são narradas os feitos do herói Beowulf (destruidor de monstros). Esse tipo de cluster, voltado à computação paralela, foi fundamentado em 1994, pela NASA, com a finalidade de processar as informações espaciais que a agência recolhia. Desde então, grandes empresas (como HP e IBM) e universidades vêm construindo clusters deste tipo [127, 128].

O que distingue o Cluster Beowulf dos outros tipos são as seguintes características [127, 128]:

- A conexão dos nós pode ser feita por redes do tipo Ethernet (mais comum);
- Existe um servidor responsável por controlar todo o cluster, principalmente quanto a distribuição de tarefas e processamento, podendo haver mais de um servidor, dedicado a tarefas específicas, ou monitoração de falhas;
- O sistema operacional é baseado no Linux, sendo necessário que ele contenha todos os programas para cluster;
- Pode-se usar computadores comuns, inclusive modelos considerados obsoletos;
- não é necessário usar equipamentos próprios para clusters. Basta equipamentos comuns à redes e os tradicionais PCs.

De maneira generalizada, o Cluster Beowulf permite a construção de sistemas de processamento que podem alcançar altos valores de gigaflops (um gigaflop equivale a 1 bilhão de instruções de ponto flutuante por segundo), utilizando computadores comuns com sistema operacional de código-fonte livre, ou seja, além de gratuito, pode ser melhorado para a sua finalidade. Tais características fizeram do Cluster Beowulf um tema muito explorado principalmente em universidades.

Entre os requisitos para o sistema operacional de um Cluster Beowulf, estão a necessidade de se ter as bibliotecas para Parallel Virtual Machine (PVM) ou para Message Passing Interface (MPI). Ambos os tipos são usados para a troca de mensagens entre os nós do cluster. O MPI é mais avançado que o PVM, pois pode trabalhar com mensagens para todos os computadores ou para apenas um determinado grupo.

A.3 Estrutura Física

O Cluster montado, em nosso Laboratório, tem como finalidade o processamento de códigos para o projeto de simulação de vias metabólicas, minimização de estruturas biológicas através de modelagem por funções de energia potencial, dinâmica molecular e modelagem por homologia. Todos os códigos, rotinas, e software executados no cluster, incluindo o algoritmo genético descrito no Capítulo II, são implementados utilizando programação lógica (ProLog). Entretanto, não existe nenhuma ferramenta computacional destinada a execução paralela de códigos estruturados em ProLog. Desta forma, para a obtenção de resultados promissores em tempo hábil, parte do tempo dedicado ao projeto de doutorado foi destinada ao desenvolvimento de ferramentas computacionais que permitam a elevação do potencial computacional do Laboratório.

Para a confecção do cluster foram utilizadas cinco máquinas sendo 1 servidor e 4 escravos, para isso foram utilizados as seguintes configurações:

- Servidor: Xeon dual core, 3.4GHz, 2048Mb de RAM;
- escravo 1: Core2dual 2.4GHz, 1024 (667MHz)MB de RAM e HD 120 GB;
- escravo 2: Pentium 4 HT, 3.0GHz, 1024 MB de RAM (533MHz) e HD 100 GB;
- escravo 3: Pentium 4 HT, 3.0GHz, 1024 MB de RAM (533MHz)e HD 100 GB;
- escravo 4: Pentium 4 HT, 3.0GHz, 1024 MB de RAM (533MHz)e HD 100 GB.

A estrutura física do cluster pode ser representada pela Fig. A.1. Os computadores foram conectados utilizando uma topologia estrela através

de um *Switch 3Com* de 8 portas com barramento de 100Mbps, todos os computadores estão equipados com placas de rede PCi 10/100Mbps utilizando as Configurações básicas. O sistema operacional que compõem o cluster corresponde a distribuição Linux Debian 4, kernel 2.6.18.

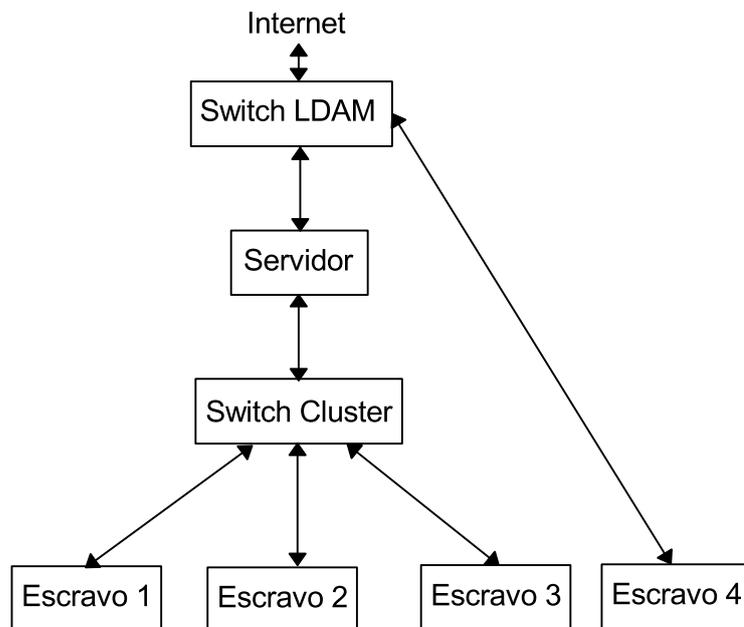


Figura A.1: Estrutura do cluster computacional.

A.4 Configuração do cluster

O servidor do cluster apresenta duas placas de rede, sendo que uma esta habilitada para conexão com outras máquinas do laboratório e com a internet, enquanto a segunda placa de rede esta habilitada em uma rede privada, juntamente com as máquinas escravas 1, 2, 3 e 4. A configuração das máquinas segue a definição dos números de IPs para redes privadas do tipo C(RFC 1597) onde os IPs podem variar de 192.168.0.0 a 192.168.255.255 [129]. Esta atribuição de IPs impede que as máquinas que ficam dedicadas exclusivamente

às atividades do cluster possam ser acessadas pela internet de forma direta, mas apenas passando pelo servidor. A Tab. A.1 contém as atribuições de IPs para as máquinas do cluster. O cluster construído apresenta a possibilidade de utilização dos sistemas operacionais Linux ou Windows [130], sendo que o servidor deve obrigatoriamente utilizar o sistema operacional linux.

Tabela A.1: Determinação dos nomes das máquinas do cluster e dos respectivos IPs

Tipo	Sistema operacional	Nome	IP/Máscara
Servidor	linux	grayskull	192.168.100.1/255.255.255.0
Escravo 1	linux	mentor	192.168.100.10/255.255.255.0
Escravo 2	linux	fera	192.168.100.20/255.255.255.0
Escravo 3	linux	mandibula	192.168.100.30/255.255.255.0
Escravo 4	windows	esqueleto	150.164.19.249/255.255.255.0

Para a Configuração de cada nó que utiliza o sistema linux os seguintes arquivos foram alterados da seguinte forma [127, 130]:

/etc/hosts

grayskull grayskull.eternia

mentor mentor.eternia

fera fera.eternia

mandibula mandibula.eternia

/etc/hosts.equiv (arquivo que define a confiança entre as máquinas)

grayskull

mentor

fera

mandibula

esqueleto

/home/.rhosts

grayskull

mentor

fera

mandibula

esqueleto

/root/.rhosts grayskull

mentor

fera

mandibula

esqueleto

/etc/securetty (arquivo indicado para comunicação entre as máquinas sem a necessidade de senha)

rsh

ssh

rlogin

Configuração servidor de tempo (NTPD)

A configuração do servidor de tempo tem função vital no cluster, pois na estrutura do cluster não pode existir uma diferença de sincronismo, assim a configuração de um servidor de tempo é fundamental e pode ser configurado da seguinte forma [127, 130]:

Servidor */etc/ntp.conf*

server 127.0.0.1 prefer

fudge 127.0.0.1 stratum 0

driftfile /etc/ntp/drift

authenticate no

Escravo */etc/ntp.conf*

server 192.168.100.1

driftfile /etc/ntp/drift

authenticate no

Servidor NFS

Este serviço faz o espelhamento das pastas definidas entre as máquina do cluster, fazendo um sincronismo entre as pastas afim de que todas contenham os mesmos arquivos:

Master: */etc/exports*

Servidor */etc/exports*

*/usr/local *(rw,no_root_squash)*

Escravo */etc/fstab*

192.168.100.1:/usr/local /usr/local nfs exec,dev,suid,rw 1 1

A.5 Programação paralela

Dentre algumas ferramentas para processamento em clusters, o MPI (Message Passing Interface) é constituído por um padrão de troca de mensagens com sintaxe definida, mas preservando características exclusivas de cada arquitetura, inclusive para arquiteturas de memória compartilhada. O principal objetivo do MPI é otimizar a comunicação e aumentar o desempenho computacional das máquinas, não possuindo dessa forma gerenciamento dinâmico de processos e processadores [128].

O MPI funciona da seguinte forma: cada máquina (node) recebe uma copia do código fonte e um nome, cada node começa a executar o programa a partir da primeira linha de comando utilizando as seguintes diretrizes [127,128]:

1. Executar todas as linhas de comando não nomeadas;
2. Executar as linhas de comando nomeadas com o mesmo nome do node;
3. Não executar as linhas de comando com o nome de outro node.

Embora o padrão de comunicação MPI seja largamente empregado, é fácil ver que alguns códigos são executados de forma redundante (item 1). A utilização

do MPI equivale a acrescentar para a cada comando do código fonte uma regras de produção: *se(Node = i) então (executa comando), se não (não executa comando)* o que sobrecarrega ainda mais o código fonte, que por estar sendo processado em um cluster deve apresentar uma complexidade e um custo computacional elevado. Desta forma existe a necessidade de criação de um sistema de gerenciamento, monitoramento e alocação de processos que maximize o potencial computacional do cluster.

A.5.1 Alocação e encerramento de processos

O sistema de alocação (Fig. A.2) corresponde a uma rede de Petri colorida temporizada, que avalia a presença do código-fonte, os parâmetros do código fonte e dependências entre códigos. O sistema de alocação e encerramento de processo é dividido em duas partes: Servidor e escravo. O servidor envia para os diretórios mapeados os códigos-fontes que serão executados. Cada nó escravo recebe apenas os códigos-fontes que serão executados, e as especificações de cada código, tais como parâmetros e o identificador de semáforo. O semáforo pode apresentar três cores diferentes: verde, amarelo e vermelho. A indicação verde, sensibiliza a transição que libera a execução do código-fonte. Caso um código fonte seja dependente de um cálculo alocado em outro nó (nó mestre), o semáforo vem com a indicação amarela seguida do identificador do nó mestre e do código-fonte que deverá ser concluído para que este seja inicializado. A partir deste instante o sistema de alocação passa a monitorar em tempo real a atividade do nó mestre até que este conclua o processamento e disponibilize os resultados para que o nó dependente possa ser processado. A partir da ativação do estado execução (Fig. A.2) a rede inicia o código-fonte, atribuindo simultaneamente uma chave de identificação para posterior realocação ou cancelamento do processo.

O encerramento do processo pode ser realizado de duas formas: se o

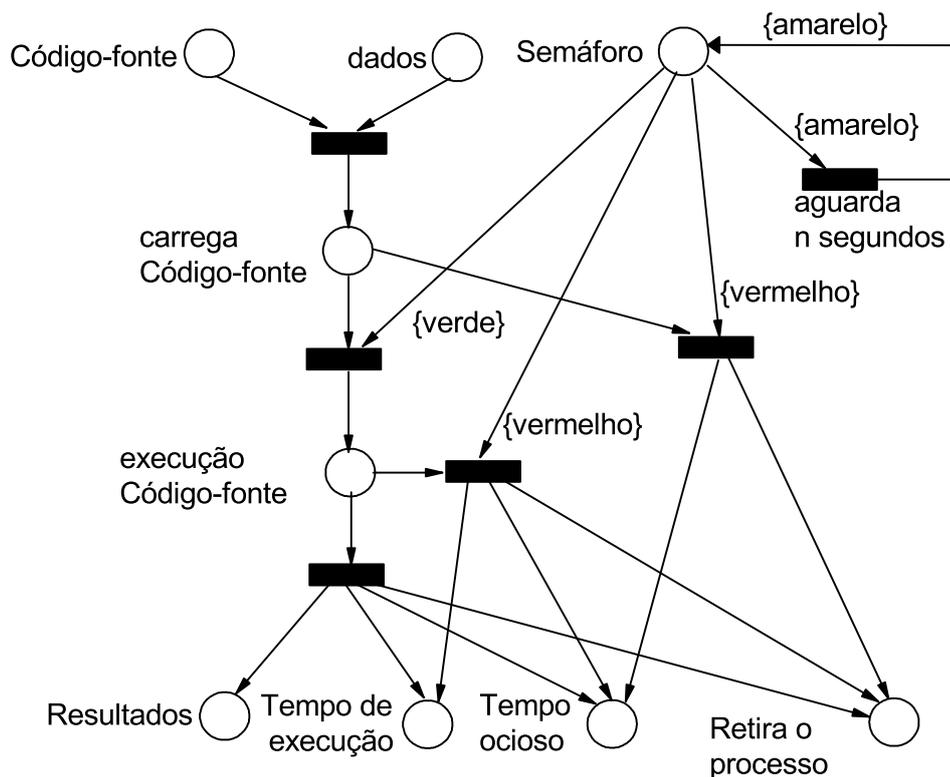


Figura A.2: Rede de Petri que define o sistema de alocação e encerramento de processos.

processamento for concluído a rede de Petri ativa a transição de encerramento, colocando assim a informação gerada pelo processo concluído a disposição de outro processo que dependa deste. O processamento pode também ser interrompido pelo servidor através de uma requisição de cancelamento, que equivale a conclusão do processo, entretanto, as informações (resultados do processamento) poderão estar incompletas. O encerramento de um processo pode ser útil para a substituição de processos ou aborto de sistemas ou análises ineficientes, que são avaliadas por outros procedimentos habilitados para esta finalidade.

A.5.2 Realocação dinâmica de processos

Diversos algoritmos de otimização apresentam unidades de processamento altamente semelhantes ou até mesmo repetidas, como por exemplo, os indivíduos de uma população ou os operadores genéticos, ou os neurônios em uma rede neuronal. É devido a estrutura heterogênea do cluster, pode acontecer que por alguns instantes alguns nós fiquem ociosos por serem mais rápidos, enquanto outros ficam sobrecarregados. Nesta situação estática, onde os processos não podem migrar entre os processadores, a máquina mais lenta acaba definindo o ritmo do processamento do cluster.

Para evitar esta perda de performance, juntamente com o sistema de alocação e encerramento de processos, existe o sistema de realocação dinâmica de processos. Esta é uma operação simples, mas que requer um criterioso sistema de transporte de dados, código-fonte e estágio de execução. Juntamente com o encerramento de cada ciclo global do código-fonte são enviados os tempos de execução e o tempo ocioso da máquina. A partir desta duas medidas de tempo, a máquina que apresenta o maior tempo de execução com menor tempo de ociosidade perde um processo para a máquina que tem o menor tempo de execução com maior tempo de ociosidade. Em suma, um processo da máquina mais lenta é transferida para a máquina mais rápida. Esta transferência equilibra o desempenho das máquinas do cluster fazendo com que o cluster evolua para a distribuição de processos mais eficientes. Assim a máquina mais rápida ganha novos processos, reduzindo o tempo de processamento das máquinas mais lentas. Se esta realocação for mal sucedida e o nó menos sobrecarregado passa a ser o mais lento, uma nova realocação é realizada transferindo um processo por vez para outras máquinas.

A.5.3 Vantagens do sistema de alocação de processos

Primeiramente o sistema tem a capacidade de alocar e gerenciar a execução paralela de códigos-fontes desenvolvidos em ProLog, mas esta não

é a característica mais promissora do sistema, que pode gerenciar clusters heterogêneos obtendo o máximo de desempenho. O sistema também pode gerenciar clusters com sistemas operacionais diferentes, embora a maior parte dos nodes estejam instalados com o sistema Linux, a quarta máquina escrava (esqueleto) opera com sistema Windows. Esta versatilidade permite ao sistema aumentar rapidamente a estrutura do cluster. Atualmente toda a comunicação do cluster é realizada por protocolo SSH e troca de arquivos. Entretanto no futuro o sistema poderá transferir informações utilizando protocolo de sistemas de trocas de mensagens por protocolo TCP/IP potencializando a possibilidade de agregação de qualquer computador ligado a internet.

A estrutura do sistema de paralelização lógica possibilita o desenvolvimento de algoritmos genéticos distribuídos, alocando a população em ilhas ou em células. A distribuição pode ser realizada também por procedimentos, alocando por exemplo cada operador genético em um nó, e o sistema de classificação em outro nó. O desenvolvimento de redes de Petri também pode ser realizado, neste caso a presença de sequências paralelas será altamente otimizada com a utilização de um cluster. Embora não esteja totalmente concluído, futuramente o sistema poderá otimizar de forma paralela redes neurais e otimização de estruturas tridimensionais de proteínas, a partir da alocação distribuída de módulos de modelagem molecular.

Apêndice A

Publicações

A.1 Artigos

Relacionado diretamente com o trabalho desenvolvido nesta tese produzidos os seguintes artigos:

- Experimental and Theoretical Studies of the Thermal Behavior of Titanium Dioxide/SnO₂ Based Composites (publicado)
- Simulação e parametrização de rotas metabólicas utilizando algoritmo genético e rede de Petri funcionais (submetido).
- Kinetic Analysis of Modified Semi-Carbonated Hydrated Lime Carbonation at Low Temperature (Submetido).
- Estudo cinético e aplicação de material absorvente constituído por concreto celular autoclavado com agente hidrofobizantes para a absorção de compostos apolares (fase de redação).
- Genetic Algorithms for Ab Initio Protein Folding (fase de redação).

O conteúdo inventivo do artigo intitulado "*Experimental and Theoretical Studies of the Thermal Behavior of Titanium Dioxide/SnO₂ Based Composites*" que originou o capítulo 6 desta tese foi adicionado ao software "GEBEL" que apresenta toda metodologia descrita pela patente "PROCESSO DE INTERPRETAÇÃO DE DADOS TERMOGRAVIMÉTRICOS UTILIZANDO

TÉCNICAS DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL”, desta forma o potencial de aplicações do software pode ser ampliado e está sendo colocado a disposição de outros pesquisadores do Departamento de química que dispõem de dados termogravimétricos para estudos cinéticos.

A.2 Patentes depositadas

Juntamente com o desenvolvimento do projeto de doutorado, foram realizadas outras atividades de pesquisa, relacionadas principalmente como o desenvolvimento de protótipos tecnológicos, da tese de Doutorado desenvolvida por Julio Conway e orientada pelo professor Jadson Cláudio Belchior, que resultaram na formulação descritivas de relatórios técnicos para a requisição de pedidos de patentes. O primeiro depósito de patente tem como título “DISPOSITIVO E MÉTODO NÃO INVASIVO PARA DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE METAIS NO PLASMA SANGÜINEO”, este desenvolvimento contribuiu para análise do processo de inferência de diagnósticos (rede neural), sendo que o estudo corresponde ao desenvolvimento de um dispositivo e método para a determinação e monitoramento da concentração de íons metálicos no sangue de forma totalmente não invasiva. O dispositivo compreende um medidor de pressão sanguínea (esfigmomanômetro) e um medidor de glicose para aquisição de sinais biométricos. Estes sinais são então convertidos para sinais digitais e são processados utilizando redes neurais artificiais e bancos de dados específicos ao perfil de cada paciente, para relacionar as medidas clínicas com as respectivas concentrações de metais no sangue.

O desenvolvimento do segundo pedido de depósito foi formulado com a utilização do algoritmo genético proposto nesta tese, e esta relacionado a determinação da composição de misturas de óxidos/hidroxidos a partir da curva TG da mistura. As misturas analisadas tiveram a composição final

determinada pelo GA a partir das respectivas curvas termogravimétricas. O título da patente é "MATERIAIS CERÂMICOS PARA ABSORÇÃO DE GASES ÁCIDOS, PROCESSO DE PREPARAÇÃO DOS MESMOS E PROCESSO PARA A ABSORÇÃO E REGENERAÇÃO DE CO_2 ". A patente descreve o processo de preparação de cerâmicas para absorção de gases ácidos, agravantes do efeito estufa, que são liberados em sistemas de combustão, ou que estão presentes em ambientes fechados.

O terceiro pedido de patente utilizou o processo de simulação cinética par a determinação do processo de fabricação de materiais absorventes de compostos apolares para a patente "MATERIAL ABSORVENTE PARA COMPOSTOS OU MISTURAS APOLARES". Esta patente consiste em um material absorvente para compostos apolares ou misturas de compostos apolares, tais como solventes orgânicos, petróleo, óleos lubrificantes, óleos comestíveis. O material absorvente é composto por uma matriz inorgânica de elevada porosidade, baixa densidade e elevada resistência mecânica. Esta matriz é hidrofobizada adquirindo a capacidade de absorção de compostos ou misturas de compostos apolares por seleção.

Referências Bibliográficas

- [1] <http://www.genome.jp/kegg/>, 2009.
- [2] Z. Michalewicz;. *Genetic Algorithms+Data Structures=Evolution Programs*. Springer-Verlag, New York - EUA, 1996.
- [3] J.-S.R. Jang; C.-T. Sun; R. Mizutani;. *Neuro-Fuzzy and Soft Computing*. Prentice Hall, London - Inglaterra, 1997.
- [4] G. Koh1; H. F. C. Teong; MV Clement; D. Hsu; P.S. Thiagarajan;. *Bioinformatics*, 22:271–280, 2006.
- [5] E. O. Voit; S. Marino; R. Lall;. *In Silico Biology*, 5:83–92, 2005.
- [6] E. Sakamoto; H. Iba;. *Proc. IEEE Cong. Evol. Comput.*, 1, 2001.
- [7] J. Cardoso; R. Valette;. *Redes de Petri*. UFSC, Florianópolis, 1997.
- [8] <http://www.brenda.org/>, 2009-2010.
- [9] <http://www.rcsb.org>, 2009.
- [10] <http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>, 2009.
- [11] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>, 2009.
- [12] C. Wu;Y. Liang; H.P. Lee; C. Lu;. Generalized chromosome genetic algorithm for generalized traveling salesman problems and its applications for machining. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*.
- [13] T. Bacl; D.B. Fogel; Z. Michalewicz;. *Evolutionary Computation 1: Basic Algorithms and Operators*. Institute is Phisics Publishing, Bristol - Inglaterra, 2000.

- [14] T. Bacl; D.B. Fogel; Z. Michalewicz;. *Evolutionary Computation 2: Basic Algorithms and Operators*. Institute is Physics Publishing, Bristol-Inglaterra, 2000.
- [15] Y. Tina; R. Riolo;R. Worzel;. *Genetic Programming Theory and Practice II*. Springer Science + Business Media, Inc., Boston - EUA, 2005.
- [16] R. A. Lordeiro; F. F. Guimarães; J. C. Belchior; R. L. Johnston. *Inter. J. Quan. Chem.*, 95:112–125, 2003.
- [17] E. S. Abreu e Silva; H. A. Duarte; J. C. Belchior;. *Chem. Phys.*, 323:553–562, 2006.
- [18] L.A. Zadeh;. *Fuzzy Logic for the management of Uncertaly*. John Wiley, New York - EUA, 1992.
- [19] L.A. Zadeh;. Fuzzy sets as a basis for a theory of possibility. *Fuzzy Sets and Systems*, 1:3–26, 1978.
- [20] L.A. Zadeh;. Fuzzy sets. *Inform. and Cont.*, 8:338–353, 1965.
- [21] B. Debska; B. Guzowska-Swider;. Fuzzy definition of molecular fragments in chemical structures. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 40:325–329, 2000.
- [22] H.F. Pop; C. Sârbu; O. Horowitz; D. Dumitrescu;. A fuzzy classification of the chemical elements. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 36:465–482, 1996.
- [23] D. Driankov; H. Hellendoorn; M. Reinfrank;. *An In-troduction to Fuzzy Control*. Springer-Verlag, London - Inglaterra, 1993.
- [24] S. P. M. Morasca; M. Trubian;. Timed high-level nets. *The Journal of Real-Time Systems*, 3:165–189, 1991.
- [25] W. M. Zuberek;. Timed petri nets: Definitions, properties, and applications. *Microelectronics and Reliability*, 31(4):627–644, 1991.

- [26] T. Murata;. Petri nets: properties, analysis and applications. *Proceedings of the IEEE*,.
- [27] J. L. Peterson;. Petri nets. *ACM Computing Surveys*, 9:223–252, 1977.
- [28] G. Chiola; M. A. Marsan; G. Conte;. Generalized stochastic petri nets: A definition at the net level and its implications. *IEEE Transactions on Software Engineering*, 19:89–106, 1993.
- [29] W. Reisig;. *A Primer in Petri Net Design*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1992.
- [30] D. René; A. Hassane;. *Petri Nets and Grafcet Tools for modelling discrete event systems*. Prentice Hall, 1992.
- [31] D. Andreu; J-C. Pascal; R. Valette;. Fuzzy petri net-based programmable logic controller. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*,.
- [32] M.A. Marsan; G. Balbo; G. Conte;. A class of generalized stochastic petri nets for the performance analysis of multiprocessor systems. *ACM Transactions on Computer Systems*, 2:93–122, 1984.
- [33] J. I. Steinfeld; J. S. Francisco; W. L. Hase;. *Chemical kinetics and dynamics*. Upper Saddle River, New Jersey, 1999.
- [34] P. W. Atkins; L. Paula. *Físico-Química Biológica*. LTC, Rio de Janeiro-Brasil, 2006.
- [35] Grafahrend-Belau; F.Shreiber; M. Heiner; A. Sackmann; B. H. Junker; E. *BMC Bioinformatics*, 9:1–17, 2008.
- [36] J. C. Belchior; G.P. Voga;. *Processo de análise e seqüenciamento molecular para classificação e identificação de RNA, DNA e/ou proteínas utilizando técnicas de inteligência artificial*. PI0205900-2, 2002.

- [37] J. C. Belchior; G.P. Voga;. *Process of molecular analysis and sequencing for the classification and identification of RNA, DNA, and/or proteins utilizing techniques of artificial intelligence*. PCT/BR03/00194., 2003.
- [38] A.F. Kohn;. *Reconhecimento de Padrões*. Departamento de engenharia eletrônica da escola Politécnica-USP, São Paulo - Brasil, 1998.
- [39] R. L. Haupt; S.E. Haupt;. *Practical genetic algorithms; 2º ed.* John Wiley, New Jersey - EUA, 2004.
- [40] M. Tomita; K. Hashimoto; K. Takahashi; T. Simon; Y. Matsuzaki;. *Bioinformatics*, 15:72–84, 1999.
- [41] R. Kuffner; R. Zimmer; T. Lengauer;. *Bioinformatics*, 16:825–836, 2000.
- [42] C. Chaouiya;. *Briefings en Bioinformatics*, 8:210–219, 2007.
- [43] C. Li; Qi-Wei; M. Nakata; H. Matsuno; S. Miyano;. *J. Biosci.*, 32:113–127, 2007.
- [44] S. Hardy; P. N. Robillard;. *Bioinformatics*, 24:209–217, 2008.
- [45] R. Breitling; D. Gilbert; M. Heiner; R. Orton;. *Briefings en Bioinformatics*, 9:404–421, 2008.
- [46] A. M. Kierzek;. *Bioinformatics*, 18:470–480, 2002.
- [47] S. Shuster; T. Pfeiffer; F. Moldenhauer; L. Koch e T. Dandekar;. *Bioinformatics*, 18:351–361, 2002.
- [48] M. Peleg; I. Yeh e R. B. Altman;. *Bioinformatics*, 18:825–837, 2002.
- [49] www.ecell.org, 2009-2010.
- [50] S. R. Wang; J. Huang; Y. Q. Zhao; S. P. Wang; X. Y. Wang; T. Y. Zhang; S. H. Wu; S. M. Zhang; W. P. Huang;. *J. Mol. Catal. A-Chem.*, 259:245–252, 2006.

- [51] W. Gopel; K.D. Schierbaum. *Sensors Actuat. B-Chem.*, 26:1–12, 1995.
- [52] A. M. B. van Mol; Y. Chae; A. H. McDaniel; M. D. Allendorf. *Thin Solid Films*, 502:72–78, 2006.
- [53] J. C. Alonso; M. Garcia; A. Ortiz;. *J. Semicond. Sci. Technol.*, 11:243–247, 1996.
- [54] K. L. S. Price; I. P. Parkin; A. M. E. Hardy; R. J. H. Clark; T. G. Hibbert; K. C. Molloy;. *Chem. Mater.*, 11:1792–1799, 1999.
- [55] S. H. Park; Y. C. Son; W. S. Willis; S. L. Suib; K. E. Creasy;. *Chem. Mater.*, 10:2389–2398, 1998.
- [56] Z. Zainal; M. Z. Hussein; A. Kassim; A. Ghazali. *J. Mater. Sci. Lett.*, 16:1446–1449, 1997.
- [57] B. Subramanian; T. Mahalingam; C. Sanjeeviraja; M. Jayachandran; M. Chockalingam;. *Bull. Electrochem*, 14:398–401, 1998.
- [58] D. Barreca; S. Garon; P. Zanella; E. Tondello;. *J. de physique IV*, 9:667–673, 1999.
- [59] E. Shanthi; A. Banerjee; V. Dutta; K. L. Chopra;. *J. Appl. Phys.*, 53:1615–1621, 1982.
- [60] A. L. Dawar; J. C. Joshi;. *J. Mater. Sci.*, 9:1–23, 1984.
- [61] H. Hiramatsu; W. S. Seo; K. Koumoto;. *Chem. Mater.*, 10:3033–3039, 1998.
- [62] R. J. Francis; S. J. Price; J. S. Evans; S. O'Brien; D. O'Hare; S. M. Clark. *Chem. Mater.*, 8:2102–2108, 1996.
- [63] G. A. Shaw; I. P. Parkin;. *Main Group Met. Chem.*, 19:183–187, 1996.
- [64] C. Y. Tan; Y. Y. Xia; Y. P. Chen; S. Y. Li; J. T. Liu; X. D. Liu; B. Z. Xu; J. H. Li; W. J. Cao;. *J. Appl. Phys.*, 73:4266–4269, 1993.

- [65] P. Balaz; T. Ohtani; Z. Bastl; E. Boldizarova;. *J. Sol. State Chem*, 144:1–7, 1999.
- [66] R. Larciprete; E. Borsella; P. De Padova; P. Perfetti; C. Crotti;. *J. Vac. Sci. Technol. A-Vac Surf. and Films.*, 15:2492–2501, 1997.
- [67] A. G. Pereira; A. O. Porto; G. G. Silva; G. M. Lima; H. G. L. Siebald; J. L. Neto;. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 4:4528–4532, 2002.
- [68] A. G. Pereira; L. A. R. Batalha; A. O. Porto; G. M. Lima; G. G. Silva; J. D. Ardisson; H. G. L. Siebald. *Mat. Res. Bull.*, 38:1805–1817, 2003.
- [69] G. M. Lima; A. O. Porto; J. D. Ardisson; A. C. Doriguetto; J. Ellena; C. L. Donnici; C. C. Menezes;. *Polyhedron*, 23:2103–2109, 2004.
- [70] J. M. Wu;. *J. Phys. Chem. C*, 112:13192–13199, 2008.
- [71] A. G. Pereira; A. O. Porto; G. M. Lima; H. G. L. Siebald; J. D. Ardisson;. *Solid State Commun.*, 127:223–227, 2003.
- [72] M. G. Coelho; G. M. Lima; R. Augusti; D. A. Maria; J. D. Ardisson;. *Applied Organometalic Chem.*, 24:650–655, 2010.
- [73] A. C. B. Silva; A. F. Mesquita; E. Moura Neto; A. O. Porto; G. M. Lima; J. D. Ardisson; F. S. Lameiras;. *Solid State Comm.*, 135:677–682, 2005.
- [74] A. C. B. Silva; A. F. Mesquita; E. Moura Neto; A. O. Porto; G. M. Lima; J. D. Ardisson; F. S. Lameiras;. *Materials Research Bull.*, 40:1497–1505, 2005.
- [75] A. C. Bose; P. Thangadurai; S. Ramasamy; V. Ganesan; S. Asokan;. *Nanotech.*, 17:1752–1757, 2006.
- [76] R. Kneip; D. Mootz; U. Severin; H. Wunderlich;. *Acta Crystallogr. Sect.*, 38:2022–2023, 1982.

- [77] C. L. Bowes; S. Petrov; G. Vovk; D. Young; G. A. Ozin; R. L. Bedard;. *J. Mat. Chem.*, 8:711–720, 1998.
- [78] A. Huijser; P. L. Marek; T. J. Savenije; L. D. A. Siebbeles; T. Scherer; R. Hauschid; J. Szmytkowski; H. Kalt; H. Hahn; T. S. Balaban;. *J. Phys. Chem. C*, 111:11726–11733, 2002.
- [79] F. R. Abreu; M. B. Alves; C. C. S. Macedo; L. F. Zara; P. A. Z. Suarez;. *J. Mol. Catalysis A-Chemical*, 227:263–267, 2005.
- [80] H. Lin-Rui; Y. Chang-Zhou; Y. Peng;. *J. Haz. Mat. B*, 139:310–315, 2007.
- [81] H. C. W. Lau; T. M. Chan; G. T. S. Ho; C. X. H. Tang. *Exp. Sys. with Aplic.*, 36:7964–7974, 2009.
- [82] M. Mortimer; P. Taylor. *The molecular World: Chemical Kinetics and Mecanism*. The Open University, Cambridge, 2002.
- [83] G. Silva; E. C. Mattos; N. M. Nakamura;. *Quimica Nova*, 27:889–899, 2004.
- [84] J.-S. R. Jang; C.-T Sun; E. Mizutani;. *Neuro fuzzy and Soft computing*;. Prentice-Hall, London, 1997.
- [85] Z. Michalewicz. *Genetic Algorithms +Data Structures=Evolution Programs*. Springer-Verlag, Berlin, 1996.
- [86] C. Wu; Y. Liang; H. P. Lee; C. Lu;. *Phys. Rev. E*, 70:016701, 2004.
- [87] M. M. Viana; V. F. Soares; N. D. S. Mohallem;. *Ceramics International*, 36:2047–2053, 2010.
- [88] Li. Kairong; Y. Wang; S. Wang; B. Zhu; S. Shang; W. Huang; S. Wu;. *J. Nat. Gas. Chem.*, 18:1–4, 2009.
- [89] E. M. El-Marghraby;. *Physica B*, 405:2385–2389, 2010.

- [90] R. Camaratta; A. Zimmer; C. P. Bergmann;. *Surface & Coating Technology*, 203:3626–3630, 2009.
- [91] B. Carroll; E. P. Manche. *Analytical Chemistry*, 42:1296–1297, 1970.
- [92] R. G. Ferrillo; A. Granzow;. *J. Thermal of Analysis*, 29:1237–1242, 1984.
- [93] N. Hurduc; C. Damian; V. Toader; N. Durduc;. *High Performance Polymer*, 19:477–496, 2007.
- [94] D. Dollimore; G. A. Gamlen; T. Taylor. *J. Thermochemica Acta*, 75:59–69, 1984.
- [95] J. Pysiak; B. Sabalski. *J. of Ther. Anal.*, 17:287–303, 1979.
- [96] J. Pysiak; B. Pacewska;. *Thermochemica Acta*, 29:879–894, 1984.
- [97] C. R. Araujo; C. G. Mothé. *Analytica*, 4:37–43, 2003.
- [98] D. L. Nelson; M. M. Cox;. *Lehninger Princípios de bioquímica*. Sarvier LTDA, São Paulo-Brasil, 2006.
- [99] B. Alberts. *Biologia Molecular da Célula*. Artmed, Porto Alegre-Brasil, 2010.
- [100] D.W. Pettigrew; W.Z. Liu; C. Holmes; N. D. Meadow; S. Roseman;. *J. Bacteriol.*, 178:2846–2852, 1996.
- [101] I. Salles; N. Forchhammer; C. Croux; L. Girbal; P. Soucaille;. *Metab. Eng.*, 9:152–159, 2007.
- [102] S. Kitaura;. *J. Biochem.*, 127:419–425, 2000.
- [103] J. J. Clarenbach; G.L. Vega; B. Adams-Huet; R. V. Considine; M. Ricks; A. E. Sumner;. *J. Biochem.*, 55:187–194, 2007.
- [104] A. Krebs; W.A. Bridger;. *Can. J. Biochem.*, 58:309–318, 1980.
- [105] S. E. Rios; T. Nowak;. *Arch. Biochem. Biophys.*, 404:25–37, 2002.

- [106] E. Chabriere; M. H. Charon; A. Volbeda; L. Pieulle; E. C. Hatchikian; J. C. Fontecilla-Camps;. *Nature Struct. Biol.*, 6:182–190, 1999.
- [107] M. D. Allen; R. N. Perham;. *FEBS Lett.*, 413:339–343, 1997.
- [108] S. Kale; P. Arjunan; W. Furey; F. Jordan;. *J. Biol. Chem.*, 282:28106–28116, 2007.
- [109] L. J. Reed; C. R. Willms;. *Methods Enzymol.*, 9:247–265, 1996.
- [110] M. Rault-Leonardon; M. A. L. Atkinson; C. A. Slaughter; C. R. Moomaw; P. A. Srere;. *Biochemistry*, 34:257–263, 1995.
- [111] 404:25–37, 2002.
- [112] C. Sivaraman;. *J. Biosci.*, 6:379–401, 1984.
- [113] P. A. Jordan; Y. Tang; A. J. Bradbury; A. J. Thomson; J. R. Guest;. *Biochem.*, 344:739–746, 1999.
- [114] T. K. Kim; R. F. Colman;. *Protein Sci.*, 14:140–147, 2005.
- [115] J. H. Hurley; R. Chen; A. M. Dean;. *Biochemistry*, 35:5670–5678, 1996.
- [116] L. J. Reed; D. J. Cox;. *The Enzymes*, 1:213–240, 1970.
- [117] K. Koike; H. Ishibashi; M. Koike;. *Hepatology*, 27:1467–1474, 1998.
- [118] U. Gehring; D. I. Arnon;. *J. Biol. Chem.*, 247:6963–6969, 1972.
- [119] D. L. Bailey; M. E. Fraser; W. A. Bridger; M. N. James; W. T. Wolodko;. *J. Mol. Biol.*, 285:1655–1666, 1999.
- [120] G. Cecchini; I. Schröder; R. P. Gunsalus; E. Maklashina;. *Biochim. Biophys. Acta*, 1553:140–157, 2002.
- [121] J. J. Robinson; J. H. Weiner;. *Can. J. Biochem.*, 60:811–816, 1982.
- [122] I. A. Rose; T. M. Weaver;. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101:3393–3397, 2004.

- [123] J. C. March; M. A. Eiteman; E. Altman;. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68:5620–5624, 2002.
- [124] J. S. Park; K. Y. Han; J. A. Song; K. Y. Ahn; H. S. Seo; J. Lee;. *Biotechnol. Lett.*, 29:1513–1518, 2007.
- [125] R. W. Von Korff;. *The J. of Bio. Chem.*, 240:1351–1358, 1965.
- [126] Y. Takamura; G. Nomura. *J. of General Microbio.*, 134:2249–2253, 1988.
- [127] Ewing Lusk;. *Beowulf Cluster Computing with Linux*. The MIT Press, 2003.
- [128] R. Buya;. *High Performance Cluster Computing: Architectures and Systems*. Prentice Hall, New Jersey-EUA, 1999.
- [129] <http://www.rfc-editor.org/rfc/rfc791.txt>, 08/2008.
- [130] B. McCarty;. *Learning Debian GNU/Linux*. O' Reilly, <http://www.by.kernel.org/pub/docs/linux/>, 08/2008.