

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LARISSA MADUREIRA PACHOLAK DO ESPIRITO SANTO

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE MONTE CARLO PARA SIMULAR A  
HIDRÓLISE DE OLIGÔMEROS DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO POR UMA  
ENDOPOLIGALACTURONASE

CURITIBA  
2015

LARISSA MADUREIRA PACHOLAK DO ESPIRITO SANTO

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE MONTE CARLO PARA SIMULAR A  
HIDRÓLISE DE OLIGÔMEROS DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO POR UMA  
ENDOPOLIGALACTURONASE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof.º: Dr. David Alexander Mitchell

Co-orientador: Prof.º: Pós-Dr. Ivo Neitzel

CURITIBA  
2015

---

S237a

Espirito Santo, Larissa Madureira Pacholak do  
Aplicação do método de Monte Carlo para simular a hidrólise de  
oligômeros de ácido d-galacturônico por uma endopoligalacturonase/ Larissa  
Madureira Pacholak do Espirito Santo. – Curitiba, 2015.  
123 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia,  
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, 2015.

Orientador: David Alexander Mitchell – Co-orientador: Ivo Neitzel.  
Bibliografia: p. 51-55.

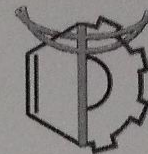
1. Método de Monte Carlo. 2. Modelos Matemáticos - Otimização. 3.  
Pectina. 4. Galactose. 5. Enzimas. I. Universidade Federal do Paraná.  
II. Mitchell, David Alexander. III. Neitzel, Ivo. IV. Título.

CDD: 664.25

---



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Setor de Tecnologia  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos trinta e um dias do mês de março de 2015, no Auditório Superior do Prédio da Engenharia Química no Centro Politécnico – UFPR foi instalada pelo Dr. David Alexander Mitchell, professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, a Banca Examinadora para a septuagésima quinta defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos. Estiveram presentes no ato, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo à determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, foi constituída pelos professores doutores: David Alexander Mitchell (PPGEQ/UFPR), Fernando Augusto Pedersen Voll (PPGEQ/UFPR) e Vivian Rotuno Moure (PGBIOQ/UFPR). Às 14h00min, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata **Larissa Madureira Pacholak do Espírito Santo** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada *“Aplicação do método de Monte Carlo para simular a hidrólise de oligômeros de ácido D-galacturônico por uma endopoligalacturonase”*. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela APROVAÇÃO da candidata, (de acordo com a determinação dos artigos 68º e 69º da Resolução 65/09 – CEPE/UFPR de 30.10.2009).

Curitiba, 31 de março de 2015.

Prof. Dr. David Alexander Mitchell  
(PPGEQ/UFPR) – Orientador

Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll  
(PPGEQ/UFPR) – Membro Titular Interno

Dra. Vivian Rotuno Moure  
(PGBIOQ/UFPR) – Membro Titular Externo

## AGRADECIMENTOS

À Deus, o Grande Arquiteto do Universo, pelas bênçãos concedidas durante a realização deste trabalho e em toda minha vida.

À família que Deus me deu e que me faz entender o real sentido da palavra *amor*: minha mãe Isabel e o Luiz, meu pai Bernardo e minha querida irmã Letícia, que sempre me incentivaram, mesmo na distância, me apoiaram e acreditaram em meu sucesso.

Ao meu querido esposo Michel, sem o qual eu não conseguiria ter chegado até aqui, obrigado pela paciência e compreensão que você teve todo este tempo, e pelo seu sincero amor. Tenho certeza que foi Deus que uniu nossos caminhos.

Agradeço a todos os meus familiares e amigos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho, direta ou indiretamente.

Ao meu orientador professor David Mitchell, pela orientação, conhecimento transmitido, oportunidade, dedicação e por acreditar em mim.

Ao meu Co-orientador professor Ivo Neitzel, com profunda admiração, eu agradeço também, pelo conhecimento transmitido e acima de tudo pelo apoio, estímulo e torcida por meu sucesso, sempre acreditando em meu trabalho.

A professora Rubiane Ganascim Marques, uma pessoa muito especial, agradeço por ter me incentivado a iniciar esta jornada, obrigada por sua amizade e por ter sempre acreditado em mim.

A minha querida amiga Naiana, agradeço por ter sua amizade, uma pessoa sem igual, sempre disposta ajudar sem pedir nada em troca, a qual ficará para sempre guardada em meu coração.

Aos meus colegas de mestrado Luana Pitol, Jéssica Jakubiak, Marcus Brandalize e Elisa França Carneiro pela grande ajuda durante as aulas.

Ao Wellington, pela grande ajuda durante a realização deste trabalho

Aos professores do PPGEQ, pelo conhecimento transmitido, em especial ao professor Marcelo Kaminski Lenzi, que sempre acreditou e confiou em meu trabalho, e à Cintya, pela ajuda nas questões burocráticas.

Aos membros da banca, professor Dr<sup>o</sup>.: Fernando Augusto Pedersen  
Voll e a professora Dr<sup>a</sup>.: Vivian Rotuno Moure

À UFPR.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

“A gravidade explica os movimentos dos planetas, mas não pode explicar quem colocou os planetas em movimento. Deus governa todas as coisas e sabe tudo que é ou que pode ser feito.”

*Isaac Newton*

## RESUMO

A hidrólise da pectina por misturas de enzimas pectinolíticas é uma etapa importante em biorrefinarias de resíduos cítricos. No entanto, apesar da hidrólise enzimática da pectina ter sido estudada por muitos anos, há relativamente poucos modelos matemáticos que descrevam a cinética deste processo. O desenvolvimento de modelos cinéticos com base nas equações diferenciais é bastante difícil devido à estrutura complexa da pectina e a mistura complexa de enzimas pectinolíticas envolvidas na sua degradação. Um modelo capaz de descrever a degradação enzimática de substratos pectínicos será uma importante ferramenta para o projeto de um processo de hidrólise de pectina em uma biorrefinaria de polpa cítrica. Com isso o objetivo do presente trabalho foi de iniciar o desenvolvimento de um modelo de Monte Carlo com um sistema mais simples, ou seja, um modelo com uma enzima trabalhando com oligômeros de ácido D-galacturônico de cadeia linear. Os dados detalhados da hidrólise dos oligômeros pela enzima endopoligalacturonase foram obtidos da literatura (Bonnin *et al.*, 2001, Study of the mode of action of endopolygalacturonase from *Fusarium moniliforme*, Biochimica et Biophysica Acta 1526, 301-309). A partir destes dados foi implementado um modelo que descreve as preferências de uma enzima endopoligalacturonase do *Fusarium moniliforme* durante a hidrólise dos oligômeros de ácido D-galacturônico com grau de polimerização (GP) entre 2 a 7, estes substratos foram referidos de acordo com o seu GP, como monômeros (S = GalA), dímeros (S = GalA<sub>2</sub>), trímeros (S = GalA<sub>3</sub>), tetrâmeros (S = GalA<sub>4</sub>), pentâmeros (S = GalA<sub>5</sub>), hexâmeros (S = GalA<sub>6</sub>) e heptâmeros (S = GalA<sub>7</sub>) de ácido D-galacturônico, onde o "S" representa substrato. Os valores dos parâmetros relativos as constantes de especificidade, foram determinados usando a função "fminsearch" do MATLAB, que utiliza o método simplex para minimização de uma função objetivo. Neste caso particular, a sub-rotina que foi usada para calcular a função objetivo continha um programa que realizou cinco simulações Monte Carlo. A grande vantagem da análise realizada, é que ela permite atribuir as preferências para as várias reações que são possíveis para cada oligômero, isto é, ao contrario de Bonnin *et al.* (2001) que atribuiu uma constante de especificidade para cada oligômero. Ao se determinar uma constante de especificidade para cada reação de encontro da enzima com o substrato, é possível identificar qual é o tipo de substrato que a enzima prefere, bem como o tipo de ligação que a enzima prefere para fazer a reação de hidrólise, ou seja, com a definição de mais de uma constante de especificidade foi possível perceber que a enzima prefere o centro da molécula de substrato. Com este estudo foi possível identificar que a aplicação do modelo desenvolvido é viável, pois o ajuste foi realizado como todos os dados simultaneamente, e seria interessante continuar o estudo para estender o modelo para descrever situações mais complexas envolvendo substratos ramificados e misturas de enzimas com diferentes ações. Uma vez desenvolvido o modelo final será uma ferramenta útil na concepção e otimização de biorreatores enzimáticos para hidrólise de pectina em ácido D-galacturônico.

Palavras-chave: Método de Monte Carlo. Pectina. Ácido D-galacturônico. Endopoligalacturonase. Constante de especificidade.



## ABSTRACT

The hydrolysis of the pectin mixtures of pectinolytic enzymes is an important step in biorefinery citrus waste. However, despite pectin enzymatic hydrolysis has been studied for many years, there are relatively few mathematical models describing the process kinetics. The development of kinetic models based on differential equations is very difficult due to the complex structure of pectin and the mixture of pectinolytic complex enzymes involved in its degradation. Modelling the enzymatic degradation of pectic substrates will be important for the design of a pectin hydrolysis process in citrus pulp biorefineries. Therefore, the objective of this study is to start the development of a Monte Carlo model with a simpler system, in other words, a model with an enzyme working with acid oligomers D-galacturonic straight chain. The detailed data of the oligomers by the hydrolysis of endopolygalacturonase enzyme were obtained from the literature (Bonnin et al., 2001, Study of the mode of action of endopolygalacturonase from *Fusarium moniliforme*, Biochimica et Biophysica Acta 1526, 301-309). From these data, a model is implemented which describes the preferences of a *Fusarium moniliforme* endopolygalacturonase enzyme for the hydrolysis of oligomers of D-galacturonic acid with a degree of polymerisation (DP) between 2 and 7, these substrates were listed according to their GP, as monomers (S = GalA), dimers (S = GalA<sub>2</sub>), trimers (S = GalA<sub>3</sub>), tetramers (S = GalA<sub>4</sub>), pentamers (S = GalA<sub>5</sub>), hexamers (S = GalA<sub>6</sub>) and heptamers (S = GalA<sub>7</sub>) of D-galacturonic acid, where "S" represents a substrate. The parameter values for the constants of specificity were determined using the tool "fminsearch" MATLAB, which uses the simplex method to minimize an objective function. In this particular case, the subroutine that was used to calculate the objective function contained a program that held five Monte Carlo simulations. The great advantage of the analysis that was made is that it allows you to assign preferences for the various reactions that are possible for each oligomer, that is, as opposed to Bonnin et al. (2001) attributed a specificity constant for each oligomer. When determining a specificity constant for each enzyme against reaction with the substrate, it is possible to identify what kind of substrate the enzyme prefers, as well as the type of connection that the enzyme prefers to make the hydrolysis reaction, or that is, the definition of more than one specificity constant was revealed that the enzyme prefers the center of the substrate molecule. In this study it was identified that the application of the developed model is viable, because the adjustment is performed with all data simultaneously and continue the study would be interesting to extend the model to describe situations involving more complex branched substrates and enzyme mixtures with different actions. Once developed the final model will be a useful tool in the design and optimization for bioreactors enzymatic hydrolysis of pectin as D-galacturonic acid.

Keywords: Monte Carlo method. Pectin. D-galacturonic acid. Endopolygalacturonase. Specificity constant.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MODELO DE ESTRUTURA PARA A MOLÉCULA DA PECTINA	19
FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO DO MECANISMO DE MULTIPLO ATAQUE DA B-AMILASE..	24
FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS COMPLEXOS PRODUTIVOS DA ENZIMA DO FUSARIUM MONILIFORME E OLIGÔMEROS DE GALA DE GP 2 – 7.....	27
FIGURA 4 - PERFIL DE HIDRÓLISE DOS SUBSTRATOS DE GP 2 A 7..	30
FIGURA 5 – ESQUEMA DAS POSSÍVEIS REAÇÕES.....	36
FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DA ESTRUTURA LÓGICA DO MODELO.....	41
FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DE OTIMIZAÇÃO DO MODELO. ....	43
Figura 8 - COMPARAÇÃO DOS DADOS CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO DURANTE A HIDRÓLISE DO DOS OLIGÔMEROS DE GP 3 A 7. .	46
FIGURA 9 – SIMULAÇÃO DOS OLIGÔMEROS FORMADOS DURANTE A HIDRÓLISE DOS SUBSTRATOS DE GP 3 A 7 E COMPARAÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS CORRIGIDOS E DA SIMULAÇÃO. ....	49

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DA POLPA DE LARANJA.....	17
TABELA 2 - PARÂMETROS CINÉTICOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS OLIGÔMEROS COM VÁRIOS GRAUS DE POLIMERIZAÇÃO.....	26
TABELA 3- CÁLCULO DE $K_{int}$ COM VÁRIOS COMPRIMENTOS DE SÍTIO ATIVO PARA CADA GRAU DE POLIMERIZAÇÃO DE OLIGÔMEROS DE GalA. ....	28
TABELA 4 – RECUPERAÇÃO FRACIONADA DOS RESÍDUOS DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO .....	45
TABELA 5- VALORES ESTIMADOS PARA $k_1$ , $P_{corte}$ E $k_S(m,L-m)$ .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

FDCA	-	Ácido 2,5-furanodicarboxílico
PET	-	Politereftalato de etileno
GP	-	Grau de polimerização
“S”	-	Substrato.
$k_{cat}$	-	Número de renovação
$K_m$	-	Constante de Michaelis-Menten
$V_{max}$	-	Valor máximo da velocidade inicial
$k_{cat}/K_m$	-	Constante de especificidade
$K_{int}$	-	Constante de ligação intrínseca
$F_t$	-	Recuperação fracionada de resíduos de GalA no tempo $t$
$C_{exp(i,t)}$	-	Concentração relativa do oligômero de comprimento
$C_{corr(i,t)}$	-	Valor corrigido da concentração relativa do oligômero
E	-	Enzima
ES	-	Complexo enzima-substrato
$P_1 + P_2$	-	Produtos 1 e 2
$k_1, k_2$ e $k_{-1}$	-	Constantes de velocidade
$L$	-	Comprimento da molécula de oligossacarídeo
$m$	-	ligação glicosídica $m$ -ésima
$P_{lig(m,L-m)}$	-	Probabilidade de ligação
$N_{GalAL}$	-	Número de oligossacarídeos de comprimento $L$ na mistura
$P_{corte(m,L-m)}$	-	Probabilidade de corte
$P_{liberar(m,L-m)}$	-	Probabilidade de liberar um oligômero
$N_E$	-	Moléculas de enzima
$N_L$	-	Moléculas de oligossacarídeo
$C_{rel(i,t)}$	-	Concentrações relativas a partir do tempo
$F_{obj}$	-	Função objetivo

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
2.1 BIORREFINARIA DE RESÍDUOS CÍTRICOS.....	16
2.2 OBTENÇÃO DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO A PARTIR DA PECTINA .	18
2.2.1 <i>Pectina</i> .....	18
2.2.2 <i>Enzimas hidrolíticas que despolimerizam a homogalacturonana</i> .....	19
2.2.3 <i>Obtenção do ácido D-galacturônico</i> .....	20
2.3 MODELAGEM MONTE CARLO APLICADA À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE OLIGOSSACARÍDEOS .....	21
2.3.1 <i>Método de Monte Carlo</i> .....	22
2.3.2 <i>Estudos sobre os mecanismos de hidrólise de uma enzima com diferentes modos de atuação</i> .....	23
2.4 O ESTUDO REALIZADO POR BONNIN ET AL. (2001) .....	25
2.4.1 <i>Modos de clivagem dos oligômeros</i> .....	29
2.4.2 <i>Perfis de hidrólise dos oligômeros formados</i> .....	29
3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	32
3.1 JUSTIFICATIVA .....	32
3.2 OBJETIVOS .....	32
4. TRATAMENTO DOS DADOS E MODELAGEM MATEMÁTICA .....	33
4.1 ANÁLISE E CORREÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS DE BONNIN <i>et al.</i> (2001) .....	33
4.2 DESENVOLVIMENTO DA SIMULAÇÃO MONTE CARLO .....	34
4.2.1 <i>Esquemas de reações e suposições</i> .....	34
4.2.2 <i>Análise de probabilidade da etapa de ligação</i> .....	37
4.2.3 <i>Análise da probabilidade da etapa de “corte ou não”</i> .....	38

4.2.4 <i>Formulação do problema para facilitar a estimativa das constantes de especificidade para as várias reações</i> .....	39
4.2.5 <i>Simulação baseada no método Monte Carlo</i> .....	40
4.2.6 <i>Otimização para determinar os valores de <math>k_1</math> e <math>P_{\text{corte}}</math></i> .....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 <i>Correção dos dados experimentais de Bonnin et al. (2001)</i> .....	44
5.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO MODELO MATEMÁTICO.....	47
5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO I - Dados experimentais corrigidos e sem correção.....	56
ANEXO I I- Dados de entrada do modelo .....	64

## 1. INTRODUÇÃO

O ácido D-galacturônico é o principal monossacarídeo constituinte da pectina que, por sua vez, corresponde a até 74% (m/m) da pectina de polpa cítrica isolada (SIGMA ALDRICH, 2015), pode ser recuperado e comercializado para a utilização na indústria química e de alimentos, ou pode ser utilizado como precursor de compostos químicos de alto valor agregado (RICHARD e HILDITCH, 2009). Desta maneira, há o potencial do desenvolvimento de biorrefinarias de polpa cítrica, que utilizarão cascas e bagaço de laranja para a obtenção de uma série de produtos, incluindo a pectina, oligossacarídeos e o ácido D-galacturônico.

A obtenção do ácido D-galacturônico se dá através da despolimerização da pectina através da hidrólise ácida e hidrólise enzimática. A melhor opção para hidrolisar a pectina da casca de laranja para ácido D-galacturônico seria utilizar a hidrólise ácida e a enzimática em conjunto fazendo um pré-tratamento com ácido diluído, que degrada a hemicelulose presente nas cascas, e auxilia na liberação da pectina. Posterior ao tratamento com ácido realizar a hidrólise enzimática da pectina com a utilização de enzimas (GROHMAN, CAMERON e BUSLIG, 1995).

Um modelo capaz de descrever a degradação enzimática de substratos pécnicos será uma importante ferramenta para o projeto de um processo de hidrólise de pectina em uma biorrefinaria de polpa cítrica. No caso de modelos da ação enzimática, os parâmetros que caracterizam a especificidade de uma enzima, no que diz respeito às várias reações que ela é capaz de catalisar, são de grande importância. Este trabalho visa desenvolver um modelo, através do método de simulação de Monte Carlo, para a hidrólise de oligômeros de ácido D-galacturônico por uma endopoligalacturonase, e aplicar este modelo na estimativa das especificidades relativas desta enzima com base nos dados experimentais de Bonnin *et al.* (2001).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta seção esta dividida em três seções. A primeira seção apresenta a biorrefinaria de polpa cítrica, que possibilita a obtenção do ácido D-galacturônico a partir da hidrólise enzimática da pectina por uma mistura de enzimas. A segunda seção mostra estudos realizados para descrever o comportamento de uma endopoligalacturonase obtida a partir do fungo *Fusarium Moniliforme* durante a reação de hidrólise enzimática. A terceira seção apresenta os trabalhos disponíveis na literatura sobre a modelagem Monte Carlo aplicada à hidrólise enzimática de polímeros.

### 2.1 BIORREFINARIA DE RESÍDUOS CÍTRICOS

O Brasil gera uma grande quantidade de resíduos cítricos, que podem ser usados numa biorrefinaria para gerar vários produtos, como energia, insumos químicos e biocombustíveis.

A utilização dos resíduos cítricos se torna importante devido à quantidade de laranja que o país produz, cerca de  $1,8 \times 10^7$  toneladas anuais (FAOSTAT, 2012). Desse total,  $1,3 \times 10^7$  toneladas são destinadas à produção de suco concentrado de laranja (REVISTA RURAL, 2000), gerando grande quantidade de resíduos, entre os quais estão as cascas, as sementes e a polpa da laranja. Atualmente, uma parte destes resíduos é utilizada como complemento para ração animal de bovinos (GERON, 2007), devido às dificuldades de armazenamento e ao elevado custo de secagem dos resíduos. O restante da polpa cítrica é simplesmente descartado, trazendo sérios problemas ambientais, como contaminação do solo e cursos de água (MA *et al.*, 1993) e, ainda, geração de grande quantidade de metano (LAPUERTA *et al.*, 2008). Com isso, é necessário encontrar maneiras de agregar valor e



aproveitar melhor os resíduos cítricos, utilizando-os, por exemplo, em uma biorrefinaria.

Compostos pécticos representam de 12 a 28% do peso seco da polpa cítrica (JAYANI, SAXENA e GUPTA, 2005). Os outros componentes são os monossacarídeos solúveis, como frutose, glicose e sacarose, e os polímeros da parede celular, como a hemicelulose e a celulose, que correspondem a 40-56% do total de sólidos da polpa cítrica. Pode-se obter, também, D-limoneno e outros óleos essenciais (POURBAFRANI *et al.*, 2010; LÓPEZ *et al.*, 2010). A Tabela 1 apresenta um exemplo da composição da polpa cítrica de laranja (MAMA *et al.*, 2008).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DA POLPA DE LARANJA

Componente	%(m/m base seca)
Extrato etéreo	3,9 ± 0,1
Glucose	14,6 ± 0,4
Frutose	15,5 ± 0,5
Sacarose	10,9 ± 0,3
Pectina	14,4 ± 0,3
Proteína	7,9 ± 0,1
Celulose	16,2 ± 0,5
Hemicelulose	13,8 ± 0,3
Cinzas	1,7 ± 0,1
Lignina	1,0 ± 0,02

FONTE: MAMMA, KOURTOGLOU e CHRISTAKOPOULOS (2008)

Entre os açúcares que possam ser obtidos através da hidrólise total da pectina, é encontrado, principalmente, o ácido D-galacturônico, que pode ser comercializado para a utilização na indústria alimentícia como acidificante, na indústria química como precursor de vários compostos químicos com alto valor agregado, como o ácido mícico (ácido meso-galactárico) e o ácido L-galactônico (RICHARD e HILDITCH, 2009).

O ácido mícico pode ser utilizado como fermento químico, como substituinte do ácido tartárico em refrigerantes e também pode ser convertido para ácido 2,5-furanodicarboxílico (FDCA), que pode ser utilizado na produção de um substituto do politereftalato de etileno (PET). O ácido L-galactônico pode ser utilizado como aditivo em cosméticos, agente quelante em produtos de limpeza, como acidulante em alimentos, e também como retardador na formulação de concreto (WERPY e PETERSEN, 2004; RICHARD e HILDITCH, 2009).

## 2.2 OBTENÇÃO DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO A PARTIR DA PECTINA

### 2.2.1 Pectina

Pectina é o nome dado para um grupo de polissacarídeos presentes na parede celular de plantas que contribui tanto para os processos fisiológicos, como crescimento, capacidade de retenção de água, quanto para as funções mecânicas como integridade e rigidez da planta. (VORAGEN *et al.*, 2009). Os polissacarídeos pécticos têm grande aplicação na indústria alimentícia, como por exemplo, em doces, geléias, produtos lácteos, pois aumentam a viscosidade e agem como colóide estabilizante e protetor em alimentos e bebidas (CANTERI *et al.*, 2012).

A pectina é constituída de regiões lisas, denominadas homogalacturonanas (HG) e por regiões ramificadas, que podem ser do tipo ramnogalacturonanas I (RG-I) e ramnogalacturonanas II (RG-II) (FIGURA 1). As homogalacturonanas (HG) são cadeias lineares de resíduos de ácido D-galacturônico unidas por ligações do tipo  $\alpha$ -(1→4). As ramnogalacturonanas I (RG-I) são constituídas de cadeias contendo unidades alternadas de ácido D-galacturônico unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$ -(1→4) e ramnose, ligadas  $\alpha$ -(1→2). Ramnogalacturonanas II (RG-II) são compostos mais complexos, com cadeias laterais de diferentes tipos de açúcares, como ácido

D-galacturônico, ramnose, galactose (MARTÍNEZ *et al.*, 2010, JAYANI, SAXENA e GUPTA, 2005).

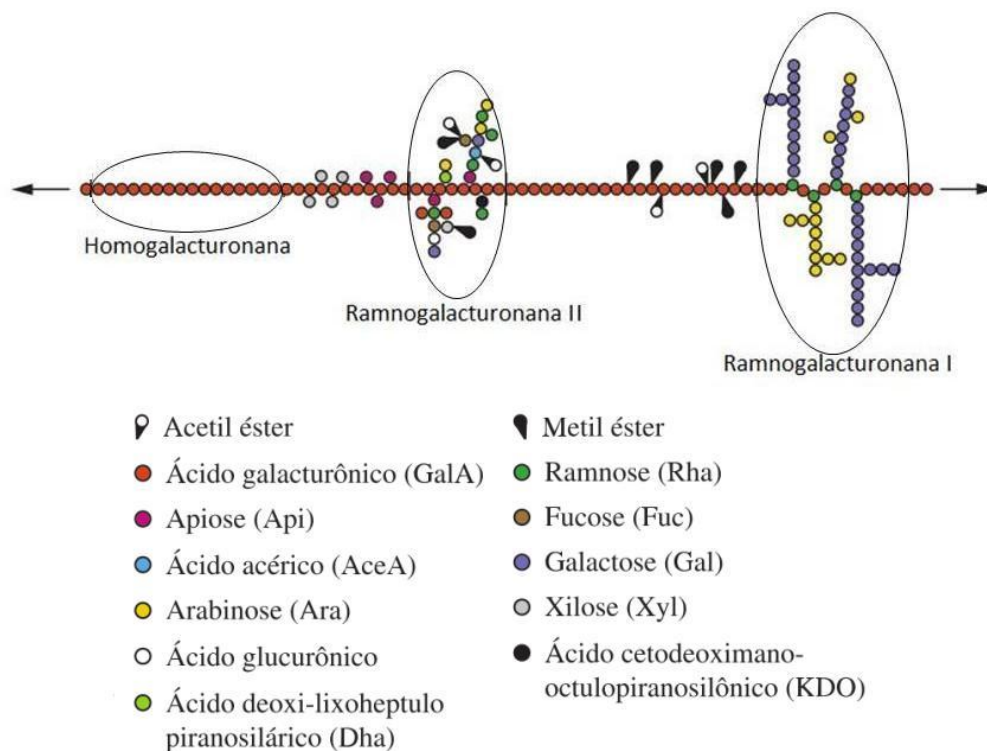


FIGURA 1 – MODELO DE ESTRUTURA PARA A MOLÉCULA DA PECTINA  
 FONTE: ADAPTADO DE CANTERI *et al.* (2012)

### 2.2.2 Enzimas hidrolíticas que despolimerizam a homogalacturonana

Entre as principais enzimas que atuam na despolimerização da homogalacturonana, estão as hidrolases. Estas enzimas catalisam a clivagem hidrolítica das ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) na cadeia entre os resíduos de ácido D-galacturônico. Entre as hidrolases, estão as poligalacturonases, cujo mecanismo de ação mantém os monômeros de ácido D-galacturônico intactos. As poligalacturonases podem ser subdividas, de acordo com seu modo de atuação, em endopoligalacturonases ou exopoligalacturonases (ALKORTA, GARBISU e SERRA, 1997; JAYANI, SAXENA e GUPTA, 2005).

As endopoligalacturonases (EndoPG; EC 3.2.1.15) clivam as ligações  $\alpha$ -1,4 existentes nos segmentos de homogalacturonana, atacam o substrato de

maneira randômica. Geralmente mostram maior capacidade para hidrolisar substratos não-esterificados e apresentam decréscimo da atividade com o aumento do grau de metil-esterificação (VORAGEN *et al.*, 2009).

As exopoligalacturonases (ExoPG; EC 3.2.1.67) atacam o substrato a partir da extremidade não-redutora são capazes de remover resíduos de ácido D-galacturônico na porção terminal da cadeia de homogalacturonana. (VORAGEN *et al.*, 2009).

### 2.2.3 Obtenção do ácido D-galacturônico

A obtenção de ácido D-galacturônico pode ser realizada através da hidrólise ácida ou por tratamento enzimático da pectina. No que diz respeito à hidrólise ácida da pectina, esta depende de uma série de variáveis, como por exemplo, o tipo de substrato que será degradado, tempo de hidrólise, temperatura de reação e concentração do ácido utilizado. O aumento excessivo da concentração de ácido, do tempo ou da temperatura, para elevar a velocidade de hidrólise da cadeia poligalacturônica, acaba por destruir os monômeros de açúcar já liberados (BLAKE e RICHARDS, 1968). Além disso, a hidrólise ácida resulta em elevadas quantidades de efluentes ácidos e elevado consumo de energia.

Quando se trata da hidrólise enzimática da pectina, esta deve ser realizada através de uma mistura de enzimas, devido à pectina ser composta de diferentes açúcares, para que as diferentes ligações em todas as subestruturas da pectina sejam atacadas. Um aspecto importante a ser destacado é que, diferentemente ao que acontece no caso de hidrólise ácida, as enzimas não degradam os monômeros que já foram liberados. No entanto, a hidrólise enzimática se torna mais difícil pelo elevado custo das enzimas e pela baixa velocidade da reação de despolimerização, devido, por exemplo, ao fenômeno de inibição competitiva pelo produto, o ácido D-galacturônico (BELAFI-BAKO *et al.*, 2007). A melhor opção para obter ácido D-galacturônico das cascas de laranja seria primeiramente uma pré-hidrólise com ácido mineral diluído, que degrada a hemicelulose presente nas cascas, e

auxilia na liberação da pectina e, como segunda etapa, realizar a hidrólise enzimática da pectina utilizando uma mistura de enzimas (GROHMANN, CAMERON e BUSLIG, 1995).

O grande problema em relação ao entendimento da hidrólise enzimática é que, embora estes tipos de reações já estejam bem caracterizadas, o modo como as enzimas atuam é bastante diversificado de acordo com o que já foi mencionado anteriormente, pois algumas agem na subestrutura de homopoligalacturonana, ou seja, na região composta de resíduos de ácido D-galacturônico, enquanto outras atuam em subestruturas com diversos açúcares, ainda existe aquelas enzimas que catalisam somente uma reação de despolimerização para cada encontro com o substrato, enquanto outras são processivas, catalisando diversas reações ao encontrarem seu substrato. Além disso, algumas enzimas sofrem com a inibição pelo principal produto da degradação, o ácido D-galacturônico. A descrição de todos estes fenômenos por equações clássicas de cinética enzimática levarão a expressões demasiadamente complexas (BÉLAFI-BAKÓ *et al.*, 2007; MERTENS, 2013). Assim, a modelagem utilizando o método de Monte Carlo pode ser um instrumento de investigação que ajuda a compreender melhor o modo de atuação das enzimas.

### 2.3 MODELAGEM MONTE CARLO APLICADA À HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE OLIGOSSACARÍDEOS

Conforme foi descrito na seção 2.2, muitas questões que envolvem o mecanismo de hidrólise da pectina por um determinado tipo de enzima ainda precisam ser esclarecidas. O método Monte Carlo aparece como uma ferramenta útil para investigação de como estes tipos de reações de hidrólise ocorrem.

Ao longo da revisão que segue, serão apresentados alguns estudos a respeito do modo de clivagem da enzima com o substrato, bem como modelos

para descrever o mecanismo de reações de alguns tipos de enzimas para um determinado substrato específico.

### 2.3.1 Método de Monte Carlo

O método de Monte Carlo pode ser descrito como um método estatístico, no qual se utiliza uma sequência de números aleatórios para a realização de uma simulação estatística, diferenciando-se assim dos métodos convencionais, que são aplicados em sistemas de equações diferenciais parciais ou ordinárias para descrição de um processo físico. No método de simulação Monte Carlo não há necessidade de se descrever as equações matemáticas que representam o comportamento do sistema, sendo necessário apenas descrever o processo através de funções de probabilidades que delineiam o fenômeno observado.

Em outras palavras, solucionar um problema com o Método de Monte Carlo consiste em realizar uma simulação matemática (ou experimento matemático) do fenômeno físico de interesse ao invés de solucionar a equação ou conjunto de equações que o regem. Assim, qualquer cálculo de Monte Carlo é iniciado com a criação de um modelo que representa o sistema real de interesse. O programa de Monte Carlo é alimentado por um gerador de números aleatórios utilizado para a amostragem dos vários fenômenos que ocorrem durante os processos de interesse. Essas amostragens são realizadas através das distribuições de probabilidade conhecidas e que caracterizam os processos referentes aos fenômenos físicos. Como resultado são obtidos valores médios que estão relacionados com grandezas físicas integrais de interesse (YORIYAZ *et al.*, 2009).

### 2.3.2 *Estudos sobre os mecanismos de hidrólise de uma enzima com diferentes modos de atuação*

Nakatani (1996) investigou o mecanismo de múltiplo ataque de uma enzima com modo de atuação do tipo endo e de uma enzima com modo de atuação do tipo exo em outro trabalho (Nakatani 1997), com o intuito de prever a distribuição quantitativa dos produtos da hidrólise de amilose e amilopectina. Nos dois estudos realizados por Nakatani (1996, 1997) foi aplicado o método de simulação de Monte Carlo para descrever o mecanismo de múltiplo ataque devido alguns fatores como, por exemplo, o fato da cadeia de amilopectina apresentar ramificações em sua estrutura, haver a ocorrência da dissociação do complexo enzima-substrato e devido ao deslizamento da enzima ao longo da cadeia do produto ser um processo probabilístico. Estes fatores dificultam a descrição do mecanismo através de equações diferenciais e são facilitados através do método de simulação de Monte Carlo, que baseia-se na tomada de decisões através de números aleatórios, ou seja, a seleção do substrato pela enzima e os múltiplos ataques derivam de números aleatórios gerados durante a simulação. A Figura 2 mostra como o método Monte Carlo foi utilizado por Nakatani (1996).

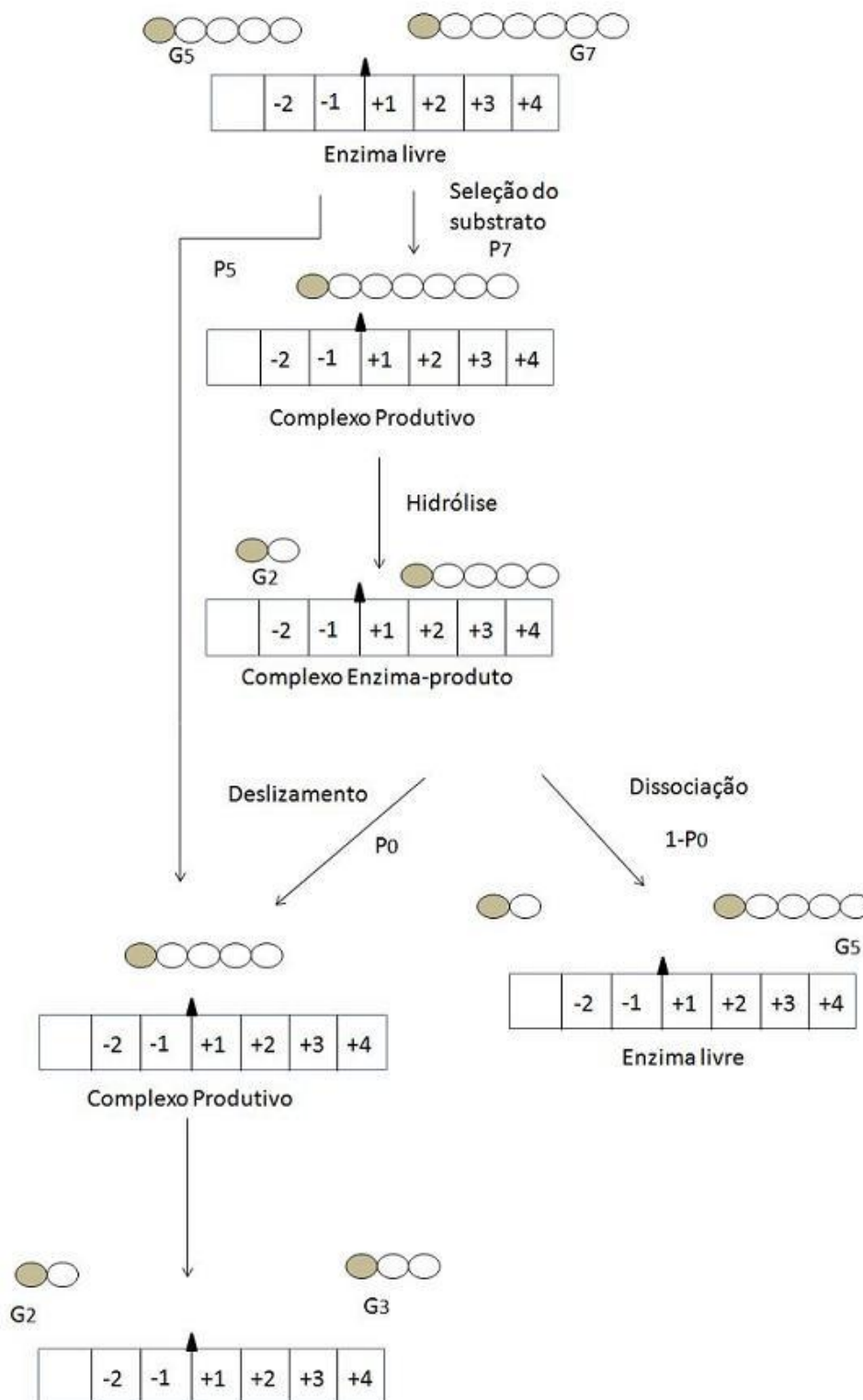


FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO DO MECANISMO DE MULTIPLO ATAQUE DA  $\beta$ -AMILASE. (○) Unidades de Glicose; (◐) Extremidade redutora dos oligossacarídeos; (▲) Sítio catalítico; ( $G_5$ ) Oligossacarídeo com 5 unidades de glicose; ( $G_7$ ) Oligossacarídeo com 7 unidades de glicose. As probabilidades de se ligar a  $G_5$  e  $G_7$  são mostradas como  $P_5$  e  $P_7$  e  $P_5 + P_7 = 1$ . Sendo  $P_0$  a probabilidade de deslizamento e  $1 - P_0$  a probabilidade de dissociação. FONTE: ADAPTADO DE ISHIKAWA *et al.*, (2007).



## 2.4 O ESTUDO REALIZADO POR BONNIN *ET AL.* (2001)

Bonnin et al. (2001) fizeram dois estudos. No primeiro, determinaram as velocidades iniciais para a hidrólise enzimática utilizando uma endopoligalacturonase obtida a partir do fungo *Fusarium moniliforme* dos vários oligômeros de ácido D-galacturônico com grau de polimerização (GP) entre GalA2 e GalA7, estes substratos foram referidos de acordo com o seu GP, como monômeros (S = GalA), dímeros (S = GalA2), trímeros (S = GalA3), tetrâmeros (S = GalA 4), pentâmeros (S = GalA5), hexâmeros (S = GalA6) e heptâmeros (S = GalA7) de ácido D-galacturônico, onde o “S” representa substrato. No segundo, obtiveram os perfis de hidrólise com os mesmos substratos. Nesta segunda parte, determinaram as concentrações não somente do substrato, mas também dos vários intermediários e dos produtos finais do processo de hidrólise. Determinaram também os valores para  $k_{cat}$ ,  $K_m$ ,  $V_{max}$  e  $k_{cat}/K_m$  para os vários oligômeros que são mostrados na Tabela 2. Com base nos dados que Bonnin *et al.* (2001) obtiveram para as constantes de especificidade (TABELA 2), eles afirmaram que a enzima possui uma preferência maior por substratos com GPs maiores. Entretanto, como Bonnin *et al.* (2001) mostraram, para os oligômeros com GP entre 3 e 7, a enzima pode catalisar mais do que uma reação para cada reação com o substrato, sendo que a enzima tem uma constante de especificidade para cada reação que pode realizar. Portanto, as constantes de especificidade determinadas por Bonnin *et al.* (2001) são somente “aparentes”. Observa-se também que o dímero não foi um substrato para a enzima.

TABELA 2 - PARÂMETROS CINÉTICOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS OLIGÔMEROS COM VÁRIOS GRAUS DE POLIMERIZAÇÃO.

GP do substrato	$K_m^a$ (mmol/mL)	$V_{\max}$ (nkat/mg)	$k_{cat}$ (s <sup>-1</sup> )	$\frac{k_{cat}}{K_m}$ (s <sup>-1</sup> mM <sup>-1</sup> )
2	0	0		
3	0,071	432	21,6	304
4	0,064	493	24,6	384
5	0,052	1622	81,1	1560
6	0,023	2126	106,3	4622
7	0,016	2451	122,5	7656

FONTE: Adaptado de BONNIN *et al* (2001)

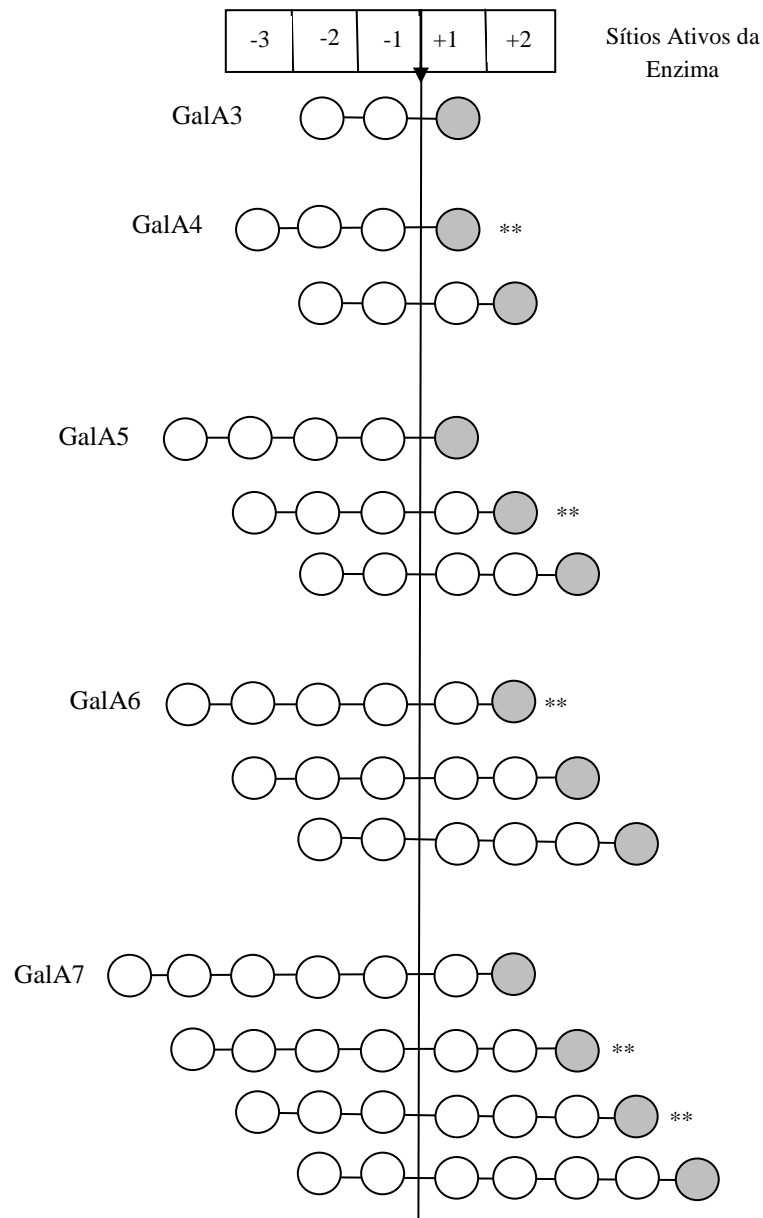


FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS COMPLEXOS PRODUTIVOS DA ENZIMA DO FUSARIUM MONILIFORME E OLIGÔMEROS DE GALA DE GP 2 – 7. Os índices -3 a +2 representam os locais de ligação da enzima; (▼) a seta indica a posição dentro do sítio ativo onde o corte da ligação glicosídica do substrato está sendo feita, chamado posição de corte do substrato; (○) unidades de GalA; (●) extremidade redutora do oligômero de GalA; (\*\*) modos preferenciais de clivagem. FONTE: Adaptado de BONNIN *et al* (2001).

Para a formação do complexo enzima-substrato quando todos os subsítios da enzima estão cobertos pelo substrato foi proposto que existe  $(n-m+1)$  possibilidades de todos os subsítios da enzima estarem ocupados, onde  $m$  é o número de subsítios da enzima e  $n$  é o GP do substrato. Com isso, é

possível obter uma relação para identificar quantos sítios ativos a enzima possui dada pela equação (1).

$$\frac{1}{K_m} = (n - m + 1) K_{int} \quad (1)$$

O parâmetro  $K_{int}$ , constante de ligação intrínseca para formação do complexo enzima substrato, para a enzima foi calculado para um sítio ativo contendo de dois a sete subsítios (TABELA 3) e, para cada valor de  $m$ , o parâmetro  $K_{int}$  tornou-se independente de  $n$  se  $m = 5$ . Isto foi consistente com o efeito do comprimento da cadeia, quando se trata de analisar os produtos da degradação.

TABELA 3– CÁLCULO DE  $K_{int}$  COM VÁRIOS COMPRIMENTOS DE SÍTIO ATIVO PARA CADA GRAU DE POLIMERIZAÇÃO DE OLIGÔMEROS DE GalA.

m =	2	3	4	5	6	7
n = 3	7,0	14,1				
n = 4	5,2	7,8	15,6			
n = 5	4,8	6,4	9,6	19,2		
n = 6	8,7	10,9	14,5	21,7	43,5	
n = 7	10,4	12,5	15,6	20,8	31,9	64,1

(m) comprimentos do sítio ativo; (n) grau de polimerização de oligômeros de GalA  
 FONTE: Adaptado de BONNIN *et al* (2001).

Bonnin *et al.* (2001) demonstraram que o sítio ativo da enzima tem 5 subsítios de ligação conforme mostrado na Figura 3.

#### 2.4.1 Modos de clivagem dos oligômeros

O oligômero GalA3 foi o menor substrato hidrolisado pela enzima, o que significa que pelo menos três resíduos de GalA são necessários para formar um complexo produtivo. Durante a degradação do GalA3, a hidrólise ocorreu na ligação glicosídica mais próxima à extremidade redutora do substrato, com isto, a localização do sítio catalítico com os respectivos três subsítios de ligação do GalA3 se encontram entre -2+1 correspondendo as extremidades redutora e não redutora respectivamente (FIGURA 3). Uma vez que GalA2 não foi um substrato, pode-se deduzir que o subsítio -2 desempenha um papel crítico na formação de um complexo produtivo enzima substrato (BONNIN *et al.*, 2001).

Da mesma maneira, a hidrólise do oligômero GalA4 produziu os oligômeros GalA3, GalA e, em uma quantidade menor, GalA2, mostrando que o GalA4 foi mais clivado de acordo com um modo 3+1 e, em menor proporção, num modo 2+2 (FIGURA 3) (BONNIN *et al.*, 2001).

O substrato GalA5 foi mais clivado de acordo com um modo 3+2 (FIGURA 3) (BONNIN *et al.*, 2001).

Para o GalA6, a hidrólise ocorreu em maior proporção de acordo como o modo 4+2 (FIGURA 3) (BONNIN *et al.*, 2001).

O GalA7 apresentou dois modos de clivagem preferenciais, 4+3 e 3+4, diferentemente dos outros que apresentaram apenas um, devido ao fato de serem menores (FIGURA 3) (BONNIN *et al.*, 2001).

#### 2.4.2 Perfis de hidrólise dos oligômeros formados

Bonnin *et al.* (2001) determinaram também os perfis de hidrólise dos oligômeros de GP 2 a 7, a partir desta análise é possível observar a velocidade de consumo dos substratos pela enzima bem como as concentrações relativas dos intermediários formados (FIGURA 4).

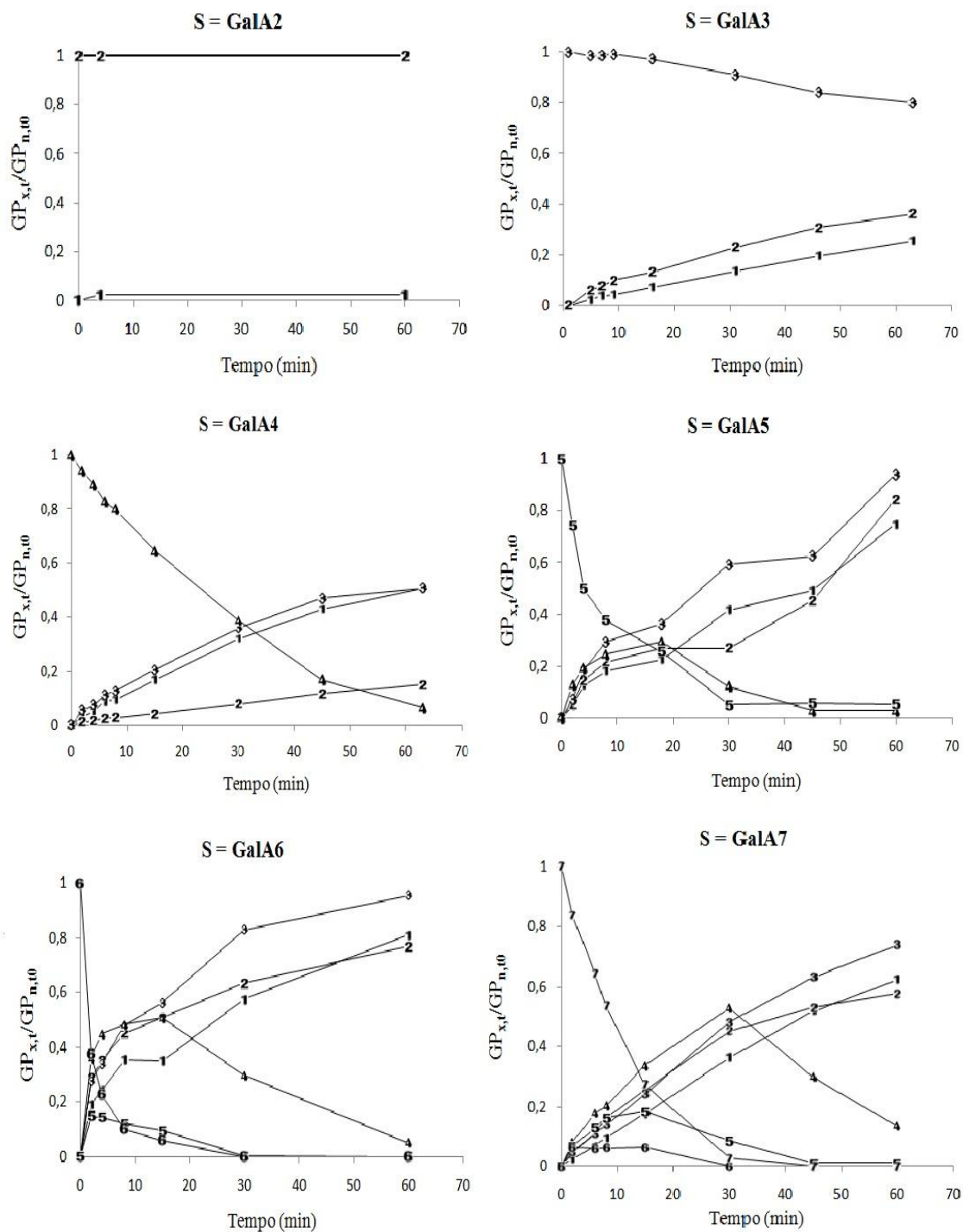


FIGURA 4 - PERFIL DE HIDRÓLISE DOS SUBSTRATOS DE GP 2 A 7.

(—1—) GalA; (—2—) GalA2; (—3—) GalA3; (—4—) GalA4; (—5—) GalA5; (—6—) GalA6; (—7—) GalA7; ( $GP_{x,t}$ ) concentração no instante t do produto de  $GP_x$ ; ( $GP_{n,0}$ ) concentração inicial de substrato de  $GP_n$ .

FONTE: Adaptado de BONNIN *et al* (2001).

Para o substrato S = GalA2, de acordo com o que já foi mencionado na seção 2.4.1, ele não foi um substrato para enzima, pois ele não foi consumido

pela enzima. A velocidade inicial de desaparecimento do substrato aumentou rapidamente a partir dos substratos iniciais de GP 3 a 6.

### 3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

#### 3.1 JUSTIFICATIVA

O método Monte Carlo é uma ferramenta apropriada na descrição da reação de hidrólise de uma mistura de substratos quando há uma rede complexa de reações que podem ocorrer, como é o caso da hidrólise da pectina.

Uma vez que não há nenhum modelo Monte Carlo aplicado na descrição da hidrólise da pectina, este trabalho visa iniciar o desenvolvimento de um modelo com sistema mais simples, ou seja, um modelo com uma enzima trabalhando com oligômeros de ácido D-galacturônico de cadeia linear.

#### 3.2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é de desenvolver um modelo, baseado no método de simulação de Monte Carlo, que seja capaz de descrever o comportamento de uma reação de hidrólise enzimática de oligômeros de ácido D-galacturônico, sendo os objetivos específicos:

- Implementar um modelo capaz de descrever as preferências de uma endopoligalacturonase durante a hidrólise de oligômeros de ácido D-galacturônico;
- Ajustar o modelo aos dados de Bonnin *et al.* (2001), com o intuito de determinar os valores relativos das constantes de especificidade de uma endopoligalacturonase do *Fusarium moniliforme*.



#### 4. TRATAMENTO DOS DADOS E MODELAGEM MATEMÁTICA

Neste capítulo, um modelo é desenvolvido para descrever os parâmetros dos dados experimentais obtidos por Bonnin *et al.* (2001) que foram descritos anteriormente na seção 2.3.1.

##### 4.1 ANÁLISE E CORREÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS DE BONNIN *et al.* (2001)

Os gráficos da hidrólise do S = GalA3, S = GalA4, S = GalA5, S = GalA6 e S = GalA7 apresentados na Figura 4 foram utilizados para determinação das constantes de especificidade da enzima para as várias reações que são possíveis com os vários oligômeros. Os dados foram extraídos dos gráficos utilizando o Plot Digitizer versão 2.5.1 e podem ser visualizados nas tabelas do Anexo I. Para cada gráfico, a consistência dos dados, em termos de “recuperação” de resíduos de GalA foi avaliada. Para fazer isso, o seguinte cálculo foi realizado para cada tempo de amostragem experimental:

$$F_t = \frac{\sum_{a=1}^n a C_{\text{exp}(a,t)}}{n} \quad (2)$$

$F_t$  é a “recuperação fracionada” de resíduos de GalA no tempo de amostragem  $t$ ,  $n$  é o número de resíduos do oligômero utilizado como substrato inicial no gráfico particular a ser analisado e  $C_{\text{exp}(a,t)}$  é a concentração relativa do oligômero de comprimento  $a$  no tempo  $t$ . O valor de  $F_t$  foi, então, utilizado para corrigir os dados, proporcionalmente, de tal modo que o número total de resíduos de GalA permanecesse constante ao longo da hidrólise. Isto foi feito pela aplicação da equação a seguir para cada oligômero de comprimento  $a$  em cada tempo de amostragem  $t$  no gráfico apropriado:

$$C_{corr(a,t)} = \frac{C_{exp(a,t)}}{F_t} \quad (3)$$

$C_{corr(a,t)}$  é o valor corrigido da concentração relativa do oligômero de comprimento  $a$  no tempo  $t$ .

No gráfico de Bonnin *et al.* (2001) para a hidrólise de GalA6, havia uma pequena quantidade de GalA5 no tempo zero. Da mesma forma, no gráfico para a hidrólise do GalA7, havia uma pequena quantidade de GalA6 no tempo zero. Uma vez que os contaminantes estavam presentes somente em pequenas quantidades, foram ignorados nas etapas de análise e correção de dados descritas acima.

## 4.2 DESENVOLVIMENTO DA SIMULAÇÃO MONTE CARLO

Esta seção descreve o desenvolvimento da simulação Monte Carlo para a hidrólise de oligômeros de ácido D-galacturônico.

### 4.2.1 Esquemas de reações e suposições

A hidrólise dos vários oligômeros foi tratada como 15 reações separadas, cada uma das quais segue um esquema de reação semelhante ao proposto por Michaelis e Menten:



O esquema é mostrado na Figura 5. As reações que foram incorporadas no modelo foram as 13 reações identificadas na Figura 3 (Bonnin *et al.*, 2001) e mais duas reações, que seriam, a formação do GalA1 a partir de GalA7 e a formação de GalA1 a partir de GalA6.

Supõe-se que a enzima não se liga ao dímero (GalA2), nem ao monômero (GalA). Em outras palavras, os produtos finais da hidrólise não causam inibição pelo produto.

Do ponto de vista de uma molécula de enzima em particular, as reações mostradas na (FIGURA 5) envolvem dois passos sequenciais, o primeiro seria a etapa de ligação, caracterizado pelos valores de  $k_1$ , em que a enzima escolhe uma molécula de oligossacarídeo para a formação do complexo ES. O segundo passo é caracterizado pelos valores de  $k_2$  e  $k_{-1}$ , ou seja, uma etapa de “corte ou não”, em que a enzima possui duas alternativas, liberar o oligossacarídeo de volta ao meio reacional sem reagir, ou hidrolisar e liberar o produto. As probabilidades das várias ações envolvidas nestas duas etapas são analisadas na subseção que segue.

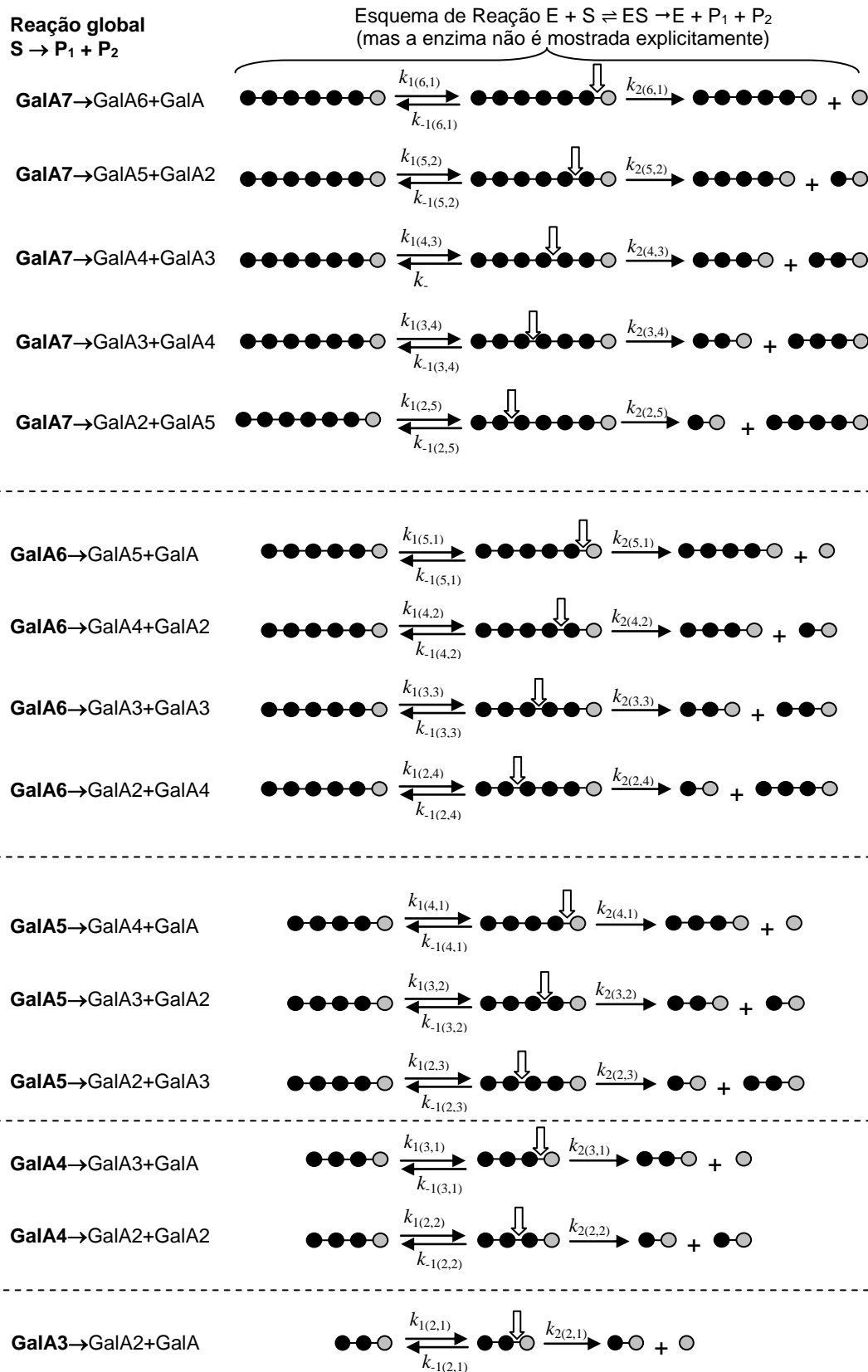


FIGURA 5 – ESQUEMA DAS POSSÍVEIS REAÇÕES.

O símbolo ↓ indica que a ligação glicosídica do substrato localiza-se dentro da “posição de corte” e dentro do complexo enzima-substrato; (●) unidades de GalA; (○) unidades redutoras de GalA. Um produto gerado de reação pode ser consumido na outra reação.

FONTE: O Autor (2014).

#### 4.2.2 Análise de probabilidade da etapa de ligação

Na etapa de ligação, a enzima escolhe uma molécula de oligossacarídeo de comprimento  $L$  da mistura de moléculas de oligossacarídeos disponíveis, e se liga a ela de tal maneira que a ligação glicosídica  $m$ -ésima desta molécula de oligossacarídeo, contada a partir da extremidade não redutora da molécula, esteja na posição de “corte” do sítio ativo. A probabilidade disto acontecer para um determinado par de valores de  $L$  e  $m$  é denotada como  $P_{lig(m,L-m)}$ .

Três fatores afetam  $P_{lig(m,L-m)}$ . O primeiro fator é a preferência intrínseca de se ligar a oligossacarídeos de comprimento  $L$  com a  $m$ -ésima ligação glicosídica na “posição de corte” (relacionado ao valor de  $k_{1(m,L-m)}$ ). O segundo fator é o número de oligossacarídeos de comprimento  $L$  na mistura ( $N_{GalAL}$ ). De fato, estes dois primeiros fatores se combinam para dar um termo “ $N \times k_1$ ” relacionado à ligação em questão. O terceiro fator é a existência de possibilidades de ligações alternativas, ou seja, da ligação da enzima a outras posições nas moléculas de oligossacarídeos de mesmo comprimento, ou nas posições disponíveis em oligossacarídeos de outros comprimentos. Cada uma dessas possibilidades de ligações alternativas são, de igual modo, caracterizadas por um termo apropriado “ $N \times k_1$ ”. Levando em conta todas as 15 reações possíveis com os cinco oligômeros que a enzima pode hidrolisar, o valor de  $P_{lig(m,L-m)}$  é dado por:

$$P_{lig(m,L-m)} = \frac{N_{GalAL} k_{1(m,L-m)}}{N_{GalA7} \sum_{i=2}^6 k_{1(i,7-i)} + N_{GalA6} \sum_{i=2}^5 k_{1(i,6-i)} + N_{GalA5} \sum_{i=2}^4 k_{1(i,5-i)} + N_{GalA4} \sum_{i=2}^3 k_{1(i,4-i)} + N_{GalA3} k_{1(2,1)}} \quad (5)$$

O denominador da equação representa todas as ações possíveis de ligação, enquanto que o numerador representa a possibilidade de ligação específica a ser analisada. Esta equação é válida para qualquer mistura de reação: quando um dado oligossacarídeo não está presente, o valor

correspondente de  $N$  será igual a zero e o termo que o contém desaparecerá da equação.

O número das possíveis ações de ligações dependerá dos oligossacarídeos que estão presentes na mistura de reação. A equação (5) será aplicada para cada uma destas possíveis ações de ligação. A soma dos valores  $P_{\text{lig}(m,L-m)}$  de todas estas possíveis ações de ligação será igual a um.

#### 4.2.3 Análise da probabilidade da etapa de “corte ou não”

Na etapa de “corte ou não”, a enzima já está ligada a uma determinada posição particular de um oligossacarídeo, ou seja, na posição de corte e só pode fazer duas coisas: liberar o oligossacarídeo de volta para o meio de reação, de acordo com a reação primária caracterizada por  $k_{-1}$  na Figura 5, ou hidrolisar o oligossacarídeo e, em seguida, liberar os produtos para dentro do meio de reação, de acordo com a reação primária caracterizada por  $k_2$  na Figura 5.

Para uma molécula de enzima em particular ligada a um oligômero de comprimento  $L$ , com a ligação glicosídica  $m$ -ésima na posição de corte, a probabilidade de que o corte vai ocorrer de fato ( $P_{\text{corte}(m,L-m)}$ ) é dada por:

$$P_{\text{corte}(m,L-m)} = \frac{k_{2(m,L-m)}}{k_{-1(m,L-m)} + k_{2(m,L-m)}} \quad (6)$$

A probabilidade de liberar o oligômero ligado sem corte ( $P_{\text{liberar}(m,L-m)}$ ) é dada por:

$$P_{\text{liberar}(m,L-m)} = \frac{k_{-1(m,L-m)}}{k_{-1(m,L-m)} + k_{2(m,L-m)}} \quad (7)$$

#### 4.2.4 Formulação do problema para facilitar a estimativa das constantes de especificidade para as várias reações

A constante de especificidade para a reação em que a  $m$ -ésima ligação glicosídica de um oligômero de comprimento  $L$ , denotada por  $k_{S(m,L-m)}$ , é dada por:

$$k_{S(m,L-m)} = \frac{k_{cat(m,L-m)}}{K_{M(m,L-m)}} = \frac{k_{2(m,L-m)}}{\left( \frac{k_{-1(m,L-m)} + k_{2(m,L-m)}}{k_{1(m,L-m)}} \right)} \quad (8)$$

Rearranjando esta equação:

$$k_{S(m,L-m)} = k_{1(m,L-m)} \left( \frac{k_{2(m,L-m)}}{k_{-1(m,L-m)} + k_{2(m,L-m)}} \right) \quad (9)$$

Uma vez que a fração dentro dos colchetes no lado direito desta equação já foi definida anteriormente pela equação (6), é possível escrever:

$$k_{S(m,L-m)} = k_{1(m,L-m)} P_{corte(m,L-m)} \quad (10)$$

Se o desejo é o de caracterizar a especificidade relativa da enzima para as várias reações possíveis que podem realizar com os vários oligômeros, a tarefa é, portanto, utilizar os dados experimentais, para obter, para cada reação possível, estimativas dos valores correspondentes de  $k_1$  e  $P_{corte}$ .

#### 4.2.5 Simulação baseada no método Monte Carlo

A simulação baseada no método Monte Carlo segue o esquema mostrado na Figura 6.

A simulação da hidrólise de um oligossacarídeo de comprimento  $L$  é iniciada com  $N_E$  moléculas de enzima e  $N_{GalAL}$  moléculas deste oligossacarídeo. Estimativas iniciais são fornecidas por  $k_1$  e  $P_{corte}$ .

Durante a simulação em si, cada iteração corresponde a um intervalo de tempo de 30 segundos e envolve dois passos. No primeiro passo, um número randômico é gerado para cada enzima para determinar qual oligômero se ligará àquela enzima e qual ligação glicosídica do oligômero estará na posição de corte do sítio ativo da enzima. Em outras palavras, a enzima escolhe entre as 15 possíveis reações de ligação mostradas na Figura 5, com base em probabilidades calculadas usando a equação (5). No segundo passo, um número randômico é gerado para cada enzima. Se o número for menor ou igual ao valor de  $P_{corte(m,L-m)}$ , a enzima corta o oligômero ao qual esta ligada, caso contrario, a enzima simplesmente libera o oligômero. Se o corte é feito, então o resultado líquido da referida enzima na iteração é reduzir o número de oligômeros de comprimento  $L$  (i.e.  $N_L$ ) por 1 e para aumentar ambos  $N_m$  e  $N_{L-m}$  para 1 (Dados de entrada do modelo ANEXO II).



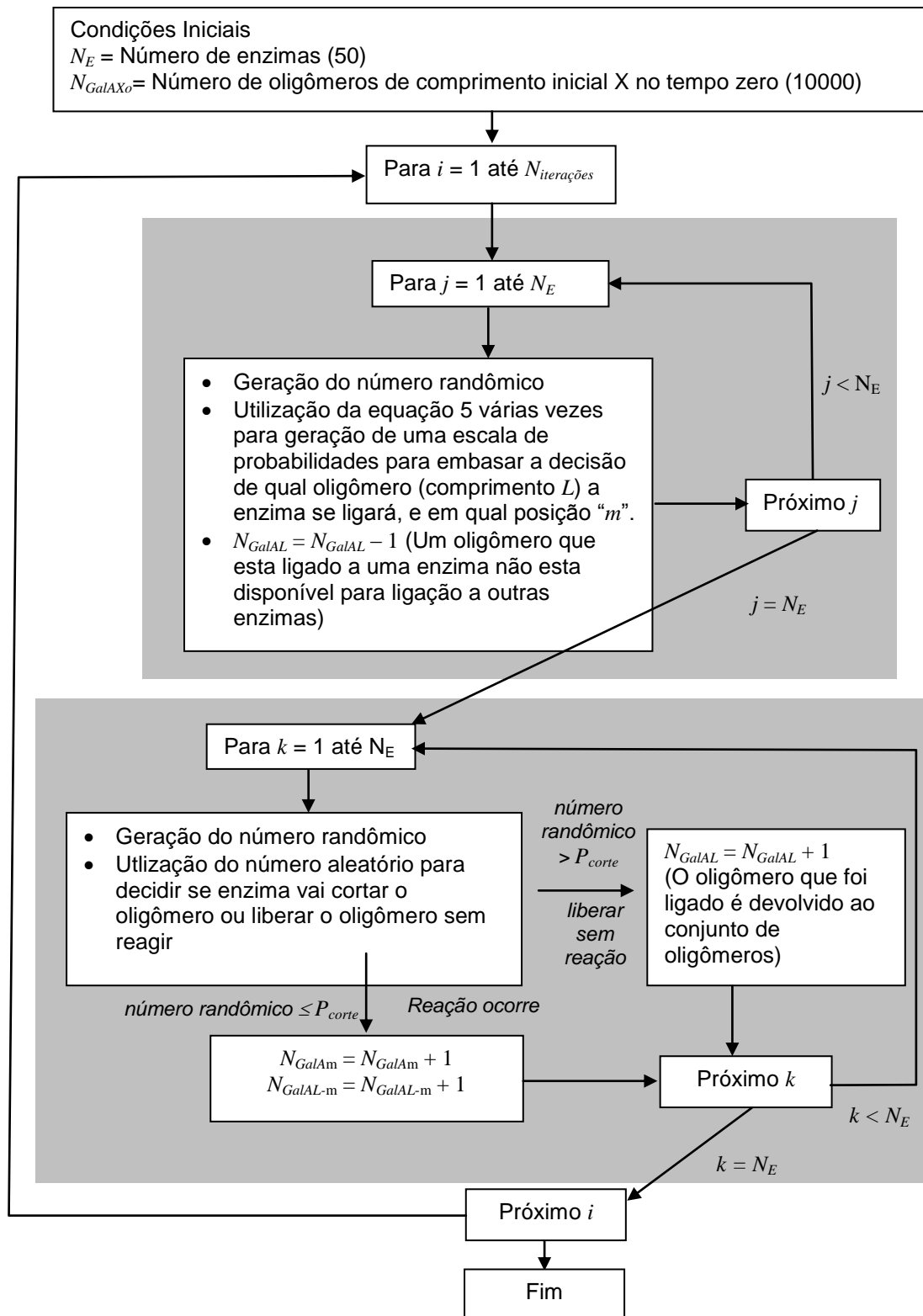


FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DA ESTRUTURA LÓGICA DO MODELO.

Neste fluxograma,  $m$  é a contagem das ligações glicosídicas a partir da extremidade não redutora.

FONTE: O Autor (2014).

#### 4.2.6 Otimização para determinar os valores de $k_1$ e $P_{corte}$ .

Os valores dos parâmetros foram determinados usando a função “fminsearch” do MATLAB, que utiliza o método simplex para minimização de uma função objetivo. Neste caso particular, a sub-rotina que foi usada para calcular a função objetivo continha um programa que realizou cinco simulações Monte Carlo, uma começando com  $10^4$  moléculas de GalA3, uma começando com  $10^4$  moléculas de GalA4, uma começando com  $10^4$  moléculas de GalA5, uma começando com  $10^4$  moléculas de GalA6 e uma começando com  $10^4$  moléculas de GalA7 (FIGURA 7). Durante cada uma destas simulações, os resultados previstos que correspondiam aos tempos de amostragem de Bonnin *et al.* (2001) (FIGURA 4 rotulados “S = GalA3”, “S = GalA4”, “S = GalA5”, “S = GalA6” e “S = GalA7”) foram convertidos em concentrações relativas a partir do tempo ( $C_{rel(i,t)}$ ) usando a seguinte equação:

$$C_{rel(i,t)} = \frac{N_i}{10000} \Big|_{\text{iterações equivalentes a } t} \quad (11)$$

Estes valores foram, então, armazenados. No final das cinco simulações, eles foram utilizados para calcular o valor da função objetivo ( $F_{obj}$ ) usando a seguinte equação:

$$\begin{aligned} F_{obj} = & \sum_{t=1}^{ntexp3} \sum_{i=1}^3 (C_{rel(i,t)} - C_{corr(i,t)})^2 + \sum_{t=1}^{ntexp4} \sum_{i=1}^4 (C_{rel(i,t)} - C_{corr(i,t)})^2 \\ & + \sum_{t=1}^{ntexp5} \sum_{i=1}^5 (C_{rel(i,t)} - C_{corr(i,t)})^2 + \sum_{t=1}^{ntexp6} \sum_{i=1}^6 (C_{rel(i,t)} - C_{corr(i,t)})^2 \\ & + \sum_{t=1}^{ntexp7} \sum_{i=1}^7 (C_{rel(i,t)} - C_{corr(i,t)})^2 \end{aligned} \quad (12)$$

onde  $ntexp3$ ,  $ntexp4$ ,  $ntexp5$ ,  $ntexp6$  e  $ntexp7$  são os números de tempos de amostragem que Bonnín *et al.* (2001) usaram nos seus gráficos para a hidrólise de GalA3, GalA4, GalA5, GalA6 e GalA7, respectivamente.

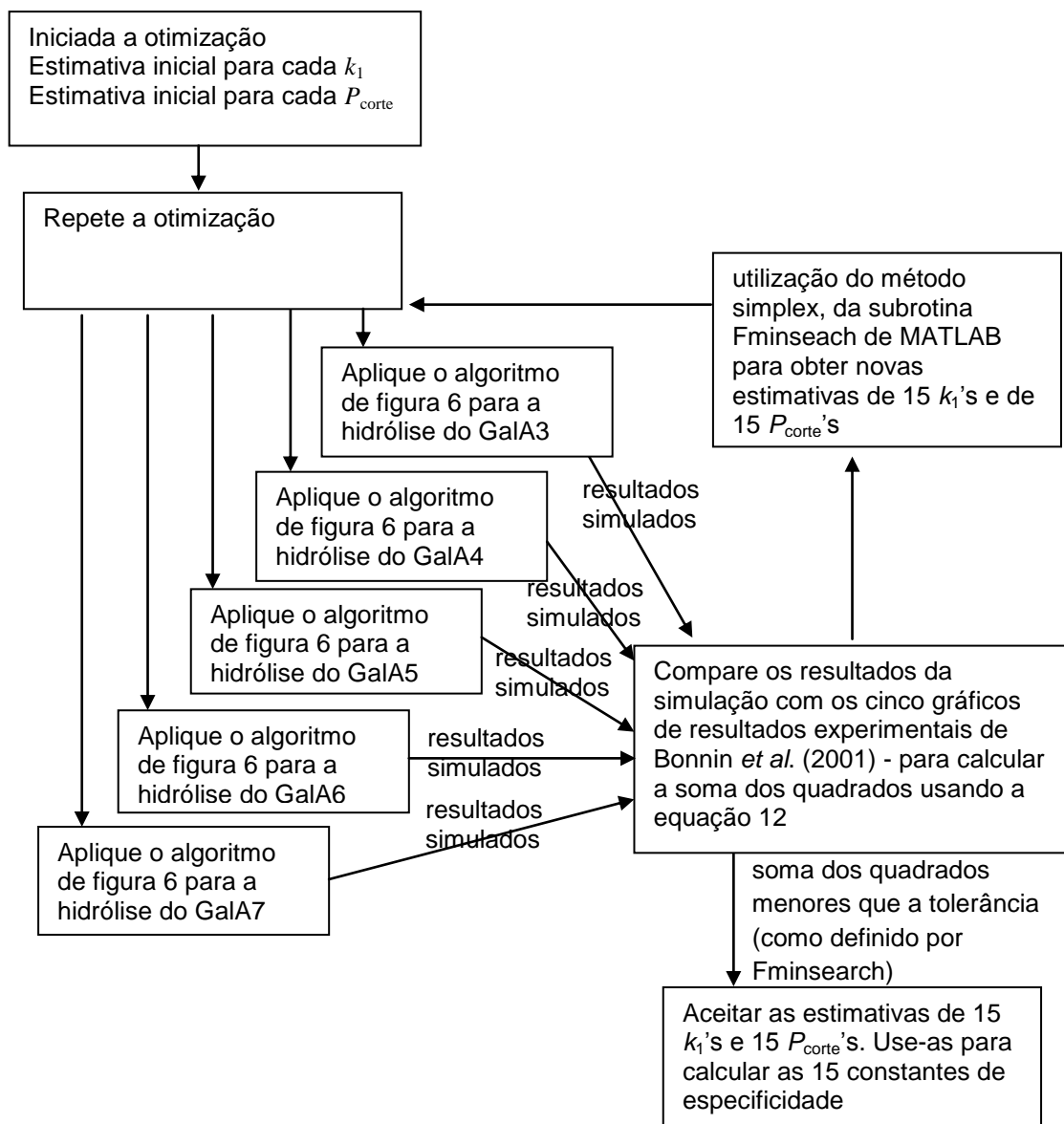


FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DE OTIMIZAÇÃO DO MODELO.  
FONTE: O Autor (2014).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As seções que seguem estão organizadas da seguinte forma: primeiro, é mostrada a correção dos dados experimentais apresentados por Bonnín *et al.* (2001) e, segundo, o modelo Monte Carlo é ajustado a estes dados corrigidos, assim obtendo as constantes de especificidades desejadas

### 5.1 Correção dos dados experimentais de Bonnín *et al.* (2001)

Inicialmente foi analisada a consistência dos dados de Bonnín *et al.* (2001) que estão mostrados na Figura 4. A Tabela 4 mostra as recuperações fracionadas de resíduos de ácido D-galacturônico, calculados através da equação (2). Uma vez que os números em uma dada coluna não são iguais ao primeiro valor na mesma coluna, os dados não são consistentes. Desta maneira, foi necessário utilizar a equação (3), para corrigir os dados. A Figura 8 mostra os dados corrigidos, comparados aos dados sem correção.

TABELA 4 – RECUPERAÇÃO FRACIONADA DOS RESÍDUOS DE ÁCIDO D-GALACTURÔNICO

Tempo (min)	GalA3	Tempo (min)	GalA4	Tempo (min)	GalA5	Tempo (min)	GalA6	Tempo (min)	GalA7
0	3	0	4	0	5	0	6	0	7
5	3,11	2	3,98	2	4,61	2	6,05	2	7,18
7	3,16	4	3,88	4	4,25	4	5,85	6	6,85
9	3,22	6	3,79	8	4,37	8	5,85	8	6,60
16	3,26	8	3,73	18	4,31	15	5,92	15	6,00
31	3,33	15	3,45	30	3,49	30	5,54	30	5,45
46	3,34	30	3,11	45	3,68	60	5,43	45	4,73
63	3,38	45	2,75	60	5,64			60	4,60
		63	2,59						

FONTE: O Autor (2014).

Após a correção dos dados, observou-se na Figura 8, que os oligômeros que estavam mais distantes dos dados corrigidos foram os produtos formados a partir dos oligômeros do GalA6 e GalA7. Percebe-se claramente também, a presença de GalA5 no tempo zero para o experimento feito com GalA6. Da mesma forma, isto ocorre para o GalA7, onde nota-se a presença do GalA6 no início.

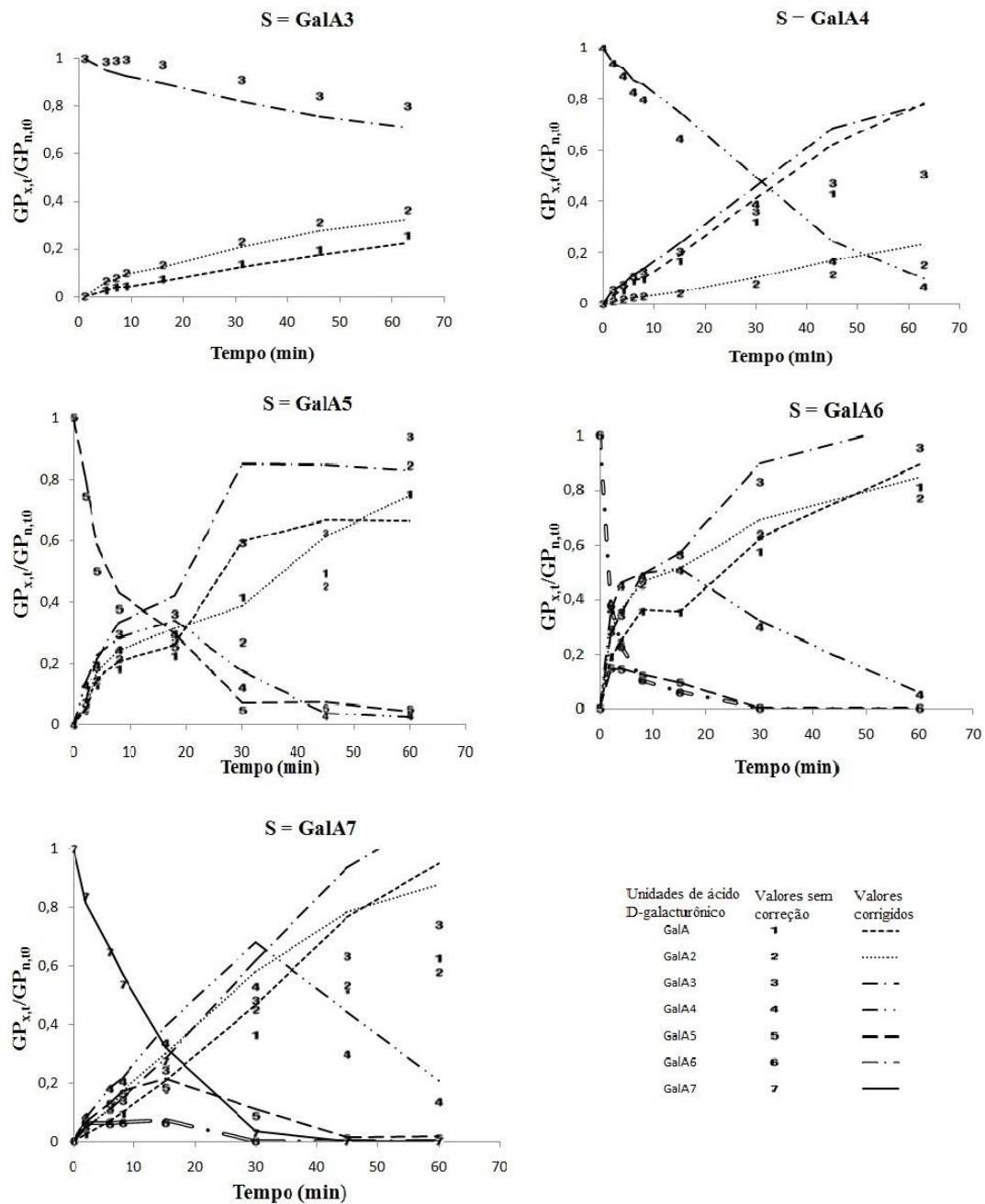


FIGURA 8 - COMPARAÇÃO DOS DADOS CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO DURANTE A HIDRÓLISE DO DOS OLIGÔMEROS DE GP 3 A 7. ( $GP_{x,t}$ ) concentração no instante t do produto de  $GP_x$ ; ( $GP_{n,t0}$ ) concentração inicial de substrato de  $GP_n$ . FONTE: O Autor (2014).

## 5.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DO MODELO MATEMÁTICO

A Tabela 5 mostra tanto os resultados de  $k_1$  e  $P_{\text{corte}}$  obtidos no ajuste do modelo aos dados de Bonnin *et al.* (2001), bem como os valores das constantes de especificidade relativas.

A grande vantagem da análise que foi feita é que ela permite atribuir as preferências para as várias reações que são possíveis para cada oligômero, isto é, ao contrario de Bonnin *et al.* (2001) que atribuiu uma constante de especificidade para cada oligômero (TABELA 2). Ao se determinar uma constante de especificidade para cada reação de encontro da enzima com o substrato, é possível identificar qual é o tipo de substrato que a enzima prefere, bem como o tipo de ligação que a enzima prefere para fazer a reação de hidrólise, ou seja, com a definição de mais de uma constante de especificidade foi possível perceber que a enzima prefere o centro da molécula de substrato, como mostra a Tabela 5, nos valores marcados.

TABELA 5– VALORES ESTIMADOS PARA  $k_l$ ,  $P_{corte}$  E  $k_{S(m,L-m)}$ .

Substrato	Reação	$k_l$	$P_{corte}$	$k_{S(m,L-m)}$
GalA7	6+1	8,01	0,24	1,89
	5+2	4,80	0,21	1,02
	4+3	7,51	0,51	3,83*
	3+4	9,70	0,24	2,35
	2+5	10,02	0,31	3,06
GalA6	5+1	8,95	1,22	10,93
	4+2	13,27	1,56	20,8
	3+3	20,47	1,07	21,76*
	2+4	15,36	1,17	17,94
GalA5	4+1	8,96	0,06	0,51
	3+2	34,50	0,25	8,75*
	2+3	16,50	0,42	6,92
GalA4	3+1	3,86	0,06	0,22
	2+2	17,89	0,11	1,96*
GalA3	2+1	6,71	0,01	0,10

(\*) ligações preferenciais.

FONTE: O Autor (2014).

Os ajustes obtidos com os parâmetros da Tabela 5, para os oligômeros de ácido D-galacturônico de GP entre 3 a 7 estão mostrados na Figura 9, na qual é possível observar que os perfis previstos para alguns dos produtos gerados estão relativamente longe dos dados experimentais, por exemplo, para o produto GalA3 do substrato  $S = \text{GalA5}$ , é possível observar os dados do modelo ficaram distantes dos dados experimentais. Os substratos que apresentaram melhor ajuste, foram o  $S = \text{GalA4}$ ,  $S = \text{GalA6}$  e  $S = \text{GalA7}$ , para estes é possível identificar a proximidade dos dados experimentais de Bonnin *et al.* (2001) com os dados obtidos no modelo.



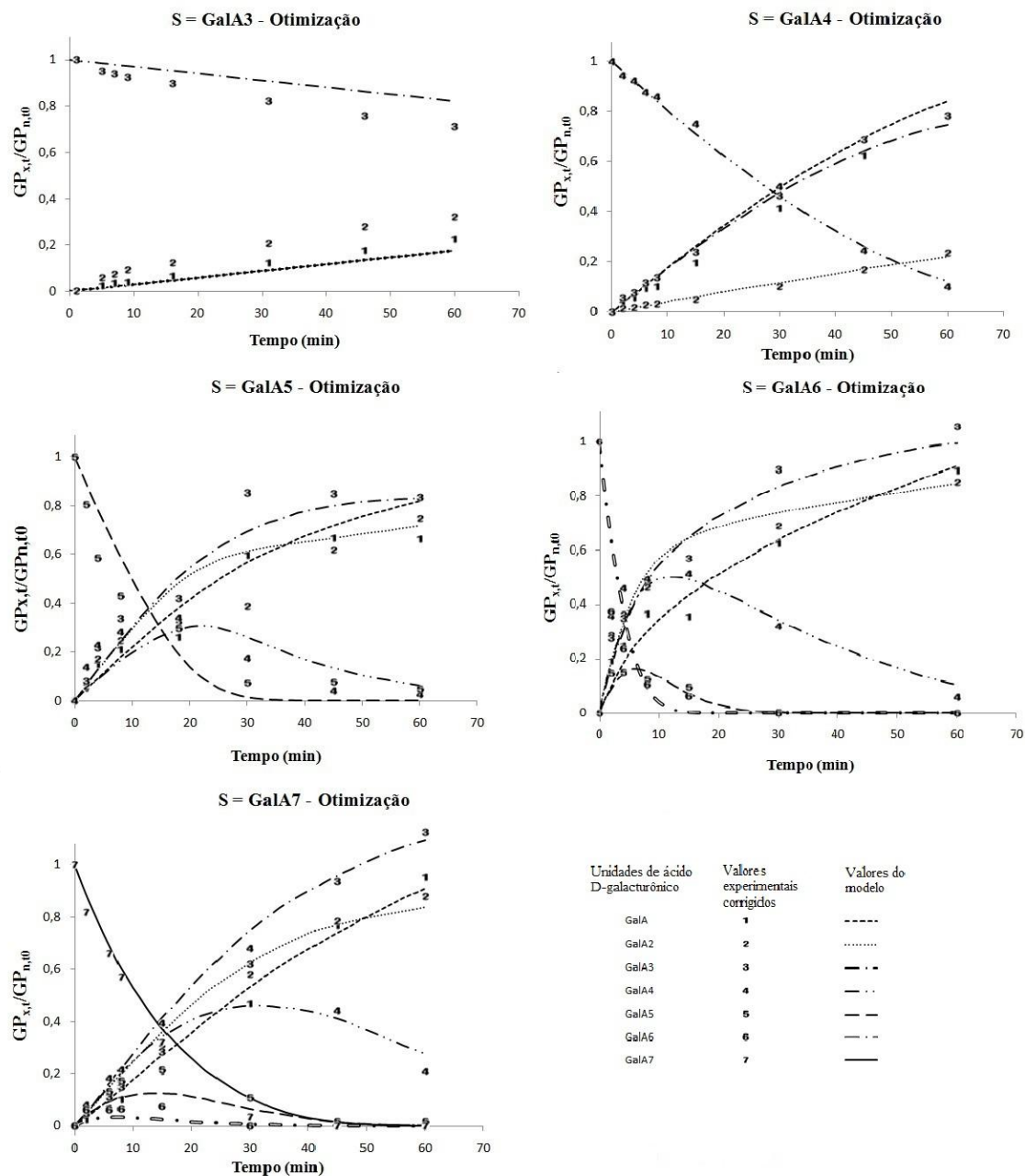


FIGURA 9 – SIMULAÇÃO DOS OLIGÔMEROS FORMADOS DURANTE A HIDRÓLISE DOS SUBSTRATOS DE GP 3 A 7 E COMPARAÇÃO DOS DADOS EXPERIMENTAIS CORRIGIDOS E DA SIMULAÇÃO.

( $GP_{x,t}$ ) concentração no instante t do produto de  $GP_{x_i}$ ; ( $GP_{n,t_0}$ ) concentração inicial de substrato de  $GP_n$ .

FONTE: O Autor (2014)

### 5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação apresentou um modelo capaz de descrever a hidrólise de oligômeros de ácido D-galacturônico a partir de dados experimentais presentes na literatura (BONNIN *et al.* 2001), a partir do modelo foi possível definir várias constantes de especificidade, ao contrário do que foi definido por Bonnini *et al.* (2001) que definiu apenas uma constante de especificidade para cada reação. Foi possível também identificar inconsistência nos dados de Bonnini *et al.* (2001), pois alguns valores desaparecem, ou seja, o número total de resíduos de GalA não permaneceu constante ao longo da hidrólise, mostrando que mesmo o objetivo não sendo modelar os perfis de hidrólise é necessário apresentar a consistência dos dados.

A contribuição mais importante deste estudo é que a aplicação do modelo desenvolvido é viável, pois o ajuste foi realizado com todos os dados simultaneamente, e seria interessante continuar o estudo para estender o modelo a descrição da hidrólise de ácido poligalacturônico dentro de uma mistura de enzimas com tipos diferentes de ação, ou seja, uma preparação enzimática contendo enzimas com ação tipo endo e ação tipo exo. O modelo estendido pode ser também, uma ferramenta útil para guiar a otimização de processos de hidrólise da pectina com intuito de produzir ácido D-galacturônico, dimensionar um biorreator enzimático e as suas variáveis de operação.

## REFERÊNCIAS

ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L. Industrial applications of pectic enzymes: a review. **Process Biochemistry**. v. 33, p. 21-28, 1997.

BELAFI-BAKO K.; GUBICZA L.; KISS K.; NEMESTOTHY N. Hydrolysis of pectin by *Aspergillus niger* polygalacturonase in a membrane bioreactor. **Journal of Food Engineering**. v. 78, p. 438-442, 2007.

BLAKE J.D.; RICHARDS G.N. Problems of lactonization in the analysis of uronic acid. **Carbohydrate Research**, v. 28, p. 275-281, 1968

BONNIN, E.; LE GOFF, A.; VAN ALEBEEK, G.-J. W. M.; VORAGEN, A. G. J.; THIBAUT, J.-F. Mode of action of *Fusarium moniliforme* endopolygalacturonase towards acetylated pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 4, p. 381–388, 2003.

BONNIN, E.; LE GOFF, A.; KÖRNER, R.; et al. Study of the mode of action of endopolygalacturonase from *Fusarium moniliforme*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1526, n. 3, p. 301–9, 2001.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. D. P. Pectina: da matéria prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, p. 149–157, 2012.

EMBRAPA - **As biorrefinarias como oportunidade de agregar valor à biomassa**. Agroenergia em Revista. Edição nº 4, de maio de 2012. Disponível em: [http://www.cnpae.embrapa.br/imprensa/agroenergia-em-revista/AgroenergiaEmRevista\\_ed04.pdf](http://www.cnpae.embrapa.br/imprensa/agroenergia-em-revista/AgroenergiaEmRevista_ed04.pdf). Acesso em 10/02/2014.

FAOSTAT – **The Statistics Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (2012)**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em 16/10/2014

FEDERICI, L et al. Structural of endopolygalacturonase for the requireerrients interaction with PGIP (polygalacturonase-inhibiting protein). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United-States of America**, 2001 Vol 98, Num 23, pages 13425-13430, ISSN 0027-8424.

GERON, L. J. V. Utilização de resíduos agroindustriais na alimentação de animais de produção **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia - Pubvet**, Londrina, v. 1, n. 9, p. 110-125, 2007. Disponível em: [http://www.pubvet.com.br/artigos\\_det.asp?artigo=312](http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=312). Acesso em 10/02/2014

GROHMANN K.; CAMERON R.G.; BUSLIG, B.S. Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. **Bioresource Technology**. v. 54, p. 129-141, 1995.

ISHIKAWA K.; NAKATANI H.; KATSUYA Y.; FUKAZAWA C.; Kinetic and structural analysis of enzyme sliding on a substrate: multiple attack in  $\beta$ -amylase. **Biochemistry**, v. 46, p. 792-798, 2007.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

KHAMSEH, G. A. A.; MICCIO, M.; FERRARI, G. Optimal kinetic parameters and batch modeling for pectin hydrolysis to galacturonic acid with pectinex ultra sp-l enzyme. **Chemical Engineering Communications**, 200:10, p.1334-1346, 2013.

LAPUERTA, M.; HERNÁNDEZ, J. J.; PAZO, A.; LÓPEZ, J. Gasification and co-gasification of biomass wastes: Effect of the biomass origin and the gasifier operating conditions. **Fuel Processing Technology**, v. 89, n. 9, p. 828–837, 2008.

LOHRASBI, M.; POURBAFRANI, M.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, MOHAMMAD J. Process design and economic analysis of a citrus waste biorefinery with biofuels and limonene as products. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7382–7388, 2010.

LOPEZ A.J.S.; LI Q.; THOMPSON I.P. Biorefinery of waste orange peel. **Critical Reviews in Biotechnology** v. 30, p. 63-69, 2010.

MA, E.; CERVERA, Q.; SÁNCHEZ, G. M. M. Integrated utilization of orange peel. **Bioresource Technology**, v. 44, p. 61–63, 1993.

MAMMA, D.; KOURTOGLOU, E.; CHRISTAKOPOULOS, P. Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry. **Bioresource Technology** v. 99, p. 2373-2383, 2008.

MARTÍNEZ, M.; GULLÓN, B.; YÁÑES, R.; ALONSO, J. L.; PARAJÓ, J. C. Kinetic assessment on the autohydrolysis of pectin-rich by-products. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, p. 480–486, 2010.

MERTENS, J. Kinetic properties of two *Rhizopus* *exo*-polygalacturonase enzymes hydrolyzing galacturonic acid oligomers using isothermal titration calorimetry. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, n. 8, p.2009 – 20, 2013.

NAKATANI, H. Monte Carlo simulation of Multiple attack Mechanism of  $\alpha$ -Amylase. **Biopolymers.**, v.39, 665-669, 1996.

NAKATANI, H. Monte Carlo simulation of Multiple attack Mechanism of  $\beta$ -Amylase-catalyzed-reaction. **Biopolymers.**, v.42, 831-836, 1997.

NITTA, Y.; MIZUSHIMA, M.; HIROMI, K.; ONO, S. Influence of Molecular Structures of Substrates and Analogues on Taka-amylase A Catalyzed Hydrolyses. **J. Biochem.**, v. 69, 567-576, 1971.

PARENICOVÁ, L.; BENEN, J. A; KESTER, H. C.; VISSER, J. pgaE encodes a fourth member of the endopolygalacturonase gene family from *Aspergillus niger*. **European Journal of Biochemistry / FEBS**, v. 251, n. 1-2, p. 72–80, 1998.

POURBAFRANI, M.; FORGÁCS, G.; HORVÁTH, I. S.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M. J. Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4246–4250, 2010.

REVISTA RURAL. **Mercado - Laranja quer aumentar consumo doméstico**, 2000. Disponível em:  
[http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2000/Artigos/rev33\\_mercado.htm](http://www.revistarural.com.br/Edicoes/2000/Artigos/rev33_mercado.htm).  
Acesso em 10/02/2014.

RICHARD, P.; HILDITCH, S. D-galacturonic acid catabolism in microorganisms and its biotechnological relevance. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, n. 4, p. 597–604, 2009.

RIVAS-C, R.; JONES, K. D.; MILLS, P. L. A citrus waste-based biorefinery as a source of renewable energy: technical advances and analysis of engineering challenges. **Waste Management & Research**, v. 31, n.4, p.413–420, 2013.

SIGMA-ALDRICH - especificação de produto: Pectina da casca de laranja. CAS Number 9000-69-5. Disponível em:  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p9135?lang=pt&region=BR>  
Acesso em 16/02/2015.

TRIPODO, M.; LANUZZA, F.; MICALI, G.; COPPOLINO, R.; NUCITA, F. Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 2, p. 111–115, 2004.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.-J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls - **Struct. Chem**, v. 20, p.263 – 275, 2009.

WERPY, T.; PETERSEN, G. **Top Value Added Chemicals from Biomass. Volume I** – Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas. Pacific Northwest National Laboratory (PNNL), National Renewable Energy Laboratory (NREL), Office of Biomass Program (EERE), 2004.

YORIYAZ, H. Método de Monte Carlo: princípios e aplicações em Física Médica. **Revista Brasileira de Física Médica**, v.3, p. 141-149, 2009.

ZHANG, L.; THIEWES, H.; KAN, J. A. L. V. The D-galacturonic acid catabolic pathway in *Botrytis cinerea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 48, p. 990-997, 2011.

## ANEXO I - Dados experimentais corrigidos e sem correção

Os dados extraídos dos gráficos de Bonnin *et al.* (2001) utilizando o Plot Digitizer versão 2.5.1 foram dispostos em 5 tabelas (A1; A2; A3; A4 e A5).

TABELA A1 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA3

GalA3		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA3		
1	1	1
5	0,99	0,95
7	0,99	0,94
9	0,99	0,92
16	0,97	0,90
31	0,91	0,82
46	0,84	0,76
63	0,80	0,71
GalA2		
1	0	0
5	0,06	0,06
7	0,08	0,07
9	0,10	0,09
16	0,13	0,12
31	0,23	0,21
46	0,31	0,28
63	0,36	0,32
GalA		
1	0	0
5	0,03	0,02
7	0,04	0,04
9	0,04	0,04
16	0,07	0,07
31	0,14	0,12
46	0,20	0,18
63	0,26	0,23

FONTE: O Autor (2014).



TABELA A2 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA4

GalA4		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA4		
0	1	1
2	0,94	0,94
4	0,89	0,92
6	0,83	0,88
8	0,80	0,86
15	0,65	0,75
30	0,39	0,50
45	0,17	0,24
63	0,07	0,10
GalA3		
0	0	0
2	0,06	0,06
4	0,07	0,08
6	0,11	0,12
8	0,13	0,14
15	0,21	0,24
30	0,36	0,46
45	0,47	0,69
63	0,51	0,78
GalA2		
0	0	0
2	0,01	0,01
4	0,02	0,02
6	0,03	0,03
8	0,03	0,03
15	0,04	0,05
30	0,08	0,10
45	0,12	0,17
63	0,15	0,23

continua

TABELA A2 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA4  
continuação e conclusão

GalA4		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA		
0	0	0
2	0,03	0,03
4	0,05	0,05
6	0,09	0,09
8	0,09	0,10
15	0,17	0,19
30	0,32	0,41
45	0,43	0,62
63	0,51	0,78

FONTE: O Autor (2014).

TABELA A3 - VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA5

GalA5		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA5		
0	1	1
2	0,74	0,81
4	0,50	0,59
8	0,38	0,43
18	0,26	0,30
30	0,05	0,07
45	0,06	0,08
60	0,05	0,05

continua

TABELA A3 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA5  
continuação e conclusão

GalA5		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA4		
0	0	0
2	0,13	0,14
4	0,20	0,23
8	0,25	0,28
18	0,29	0,34
30	0,12	0,17
45	0,03	0,04
60	0,03	0,03
GalA3		
0	0	0
2	0,07	0,08
4	0,18	0,22
8	0,29	0,34
18	0,36	0,42
30	0,59	0,85
45	0,62	0,85
60	0,94	0,83
GalA2		
0	0	0
2	0,06	0,06
4	0,15	0,17
8	0,22	0,25
18	0,27	0,31
30	0,27	0,39
45	0,45	0,62
60	0,84	0,75
GalA		
0	0	0
2	0,05	0,05
4	0,13	0,15
8	0,18	0,21
18	0,23	0,26
30	0,42	0,60
45	0,49	0,67
60	0,75	0,67

FONTE: O Autor (2014).

TABELA A4 - VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA6

GalA6		
Tempo	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA6		
0	1	1
2	0,38	0,37
4	0,23	0,23
8	0,10	0,10
15	0,06	0,06
30	0	0
60	0,00	0,00
GalA5		
0	0	0
2	0,15	0,15
4	0,14	0,15
8	0,12	0,12
15	0,10	0,10
30	0,00	0,00
60	0,00	0,00
GalA4		
0	0	0
2	0,36	0,36
4	0,45	0,46
8	0,48	0,50
15	0,51	0,51
30	0,30	0,32
60	0,05	0,06
GalA3		
0	0	0
2	0,28	0,28
4	0,34	0,35
8	0,48	0,49
15	0,56	0,57
30	0,83	0,90
60	0,96	1,06

continua

TABELA A4 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA6  
continuação e conclusão

GalA6		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA2		
0	0	0
2	0,29	0,29
4	0,35	0,36
8	0,45	0,46
15	0,51	0,51
30	0,64	0,69
60	0,77	0,85
GalA		
0	0	0
2	0,19	0,19
4	0,24	0,25
8	0,35	0,36
15	0,35	0,36
30	0,58	0,62
60	0,81	0,90

FONTE: O Autor (2014).

TABELA A5 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA7

GalA7		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA7		
0	1	1
2	0,84	0,82
6	0,65	0,66
8	0,54	0,57
15	0,28	0,32
30	0,028	0,04
45	0,00	0,00
60	0	0
GalA6		
0	0	0
2	0,06	0,06
6	0,06	0,06
8	0,06	0,07
15	0,06	0,07
30	0,00	0,00
45	0	0
60	0	0
GalA5		
0	0	0
2	0,07	0,07
6	0,13	0,13
8	0,16	0,17
15	0,18	0,21
30	0,09	0,11
45	0,01	0,02
60	0,01	0,02

continua

TABELA A5 – VALORES CORRIGIDOS E SEM CORREÇÃO PARA O GalA7  
 continuação e conclusão

GalA7		
Tempo (min)	Valores sem correção	Valores corrigidos
GalA4		
0	0	0
2	0,08	0,08
6	0,18	0,18
8	0,20	0,22
15	0,34	0,39
30	0,53	0,68
45	0,30	0,44
60	0,14	0,21
GalA3		
0	0	0
2	0,05	0,05
6	0,11	0,11
8	0,14	0,15
15	0,24	0,28
30	0,48	0,62
45	0,63	0,94
60	0,74	1,12
GalA2		
0	0	0
2	0,05	0,05
6	0,11	0,11
8	0,16	0,17
15	0,26	0,30
30	0,45	0,58
45	0,53	0,79
60	0,58	0,88
GalA		
0	0	0
2	0,03	0,02
6	0,07	0,07
8	0,10	0,10
15	0,18	0,21
30	0,36	0,47
45	0,52	0,77
60	0,63	0,95

FONTE: O Autor (2014).

## ANEXO I I- Dados de entrada do modelo

### FUNÇÃO OBJETIVO

```

function ff = fobj(param)
global x_exp x_exp1 y_exp1_3 y_exp2_3 y_exp3_3 y_exp1_4 y_exp2_4 y_exp3_4
y_exp4_4 y_exp1_5 y_exp2_5 y_exp3_5 y_exp4_5 y_exp5_5 y_exp1_6 y_exp2_6
y_exp3_6 y_exp4_6 y_exp5_6 y_exp6_6 y_exp1_7 y_exp2_7 y_exp3_7 y_exp4_7
y_exp5_7 y_exp6_7 y_exp7_7 ff y_calc jj %mat_var
jj = jj+1;
teta1 = (param(1)*param(1))^0.5;
teta2 = (param(2)*param(2))^0.5;
teta3 = (param(3)*param(3))^0.5;
teta4 = (param(4)*param(4))^0.5;
teta5 = (param(5)*param(5))^0.5;
teta6 = (param(6)*param(6))^0.5;
teta7 = (param(7)*param(7))^0.5;
teta8 = (param(8)*param(8))^0.5;
teta9 = (param(9)*param(9))^0.5;
teta10 = (param(10)*param(10))^0.5;
teta11 = (param(11)*param(11))^0.5;
teta12 = (param(12)*param(12))^0.5;
teta13 = (param(13)*param(13))^0.5;
teta14 = (param(14)*param(14))^0.5;
teta15 = (param(15)*param(15))^0.5;
teta16 = (param(16)*param(16))^0.5;
teta17 = (param(17)*param(17))^0.5;
teta18 = (param(18)*param(18))^0.5;
teta19 = (param(19)*param(19))^0.5;
teta20 = (param(20)*param(20))^0.5;
teta21 = (param(21)*param(21))^0.5;
teta22 = (param(22)*param(22))^0.5;
teta23 = (param(23)*param(23))^0.5;
teta24 = (param(24)*param(24))^0.5;
teta25 = (param(25)*param(25))^0.5;
teta26 = (param(26)*param(26))^0.5;
teta27 = (param(27)*param(27))^0.5;
teta28 = (param(28)*param(28))^0.5;

```



```

teta29 = (param(29)*param(29))^0.5;
teta30 = (param(30)*param(30))^0.5;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

rand('seed',sum(100*clock));
%rotina para calcular quando o polimero é igual a 3 residuos
Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
NEnzimas = 50; %Numero de enzimas
NResiduos = 3; %Numero de residuos que o polimero possui
Rodadas = 240;
NLigacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui
for i=1:6
    VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
end
for i=1:NLigacoes;
    if i < NLigacoes;
        VPolimero(i) = 0;
    else
        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end
for i=1:NEnzimas;
    VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
    Vligsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end
monomero = 0;
for i=1:Rodadas;
    for jii=1:NEnzimas;
        if VEnzima(jii) == 1;
denominador =
teta1*VPolimero(6)+teta2*VPolimero(6)+teta3*VPolimero(6)+teta4*VPolimero(6)+t
eta5*VPolimero(6)+teta6*VPolimero(5)+teta7*VPolimero(5)+teta8*VPolimero(5)+te
ta9*VPolimero(5)+teta10*VPolimero(4)+teta11*VPolimero(4)+teta12*VPolimero(4)+
teta13*VPolimero(3)+teta14*VPolimero(3)+teta15*VPolimero(2);
VAfinidade(1)=teta1*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=teta2*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=teta3*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=teta4*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(5)=teta5*VPolimero(6)/denominador;

```

```

VAfinidade(6)=teta6*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=teta7*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=teta8*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=teta9*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=teta10*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=teta11*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=teta12*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=teta13*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=teta14*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=teta15*VPolimero(2)/denominador;
VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
    end
    if cont>5 & cont<=9;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
    end
    if cont>9 & cont<=12;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
    end
    if cont>12 & cont<=14;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
    end
    if cont>14;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
    end
end

```

```

break
end
end
end %final da iteração quando a enzima esta livre

if VEenzima(jii)==2;          %inicio interação quando a enzima esta ligada
    if VLigsubstrato(jii)==1;
        r1 = rand;
        %c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
        if r1<=teta16;
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
            VEenzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else %se dissociou
            VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==2;
    r1 = rand;
    %c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
    if r1<=teta17;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEenzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==3;
    r1 = rand;
    %c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
    if r1<=teta18;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEenzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    end
end

```

```

else
    VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
    r1 = rand;
    %c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
    if r1<=teta19;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==5;
    r1 = rand;
    %c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
    if r1<=teta20;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
    r1 = rand;
    %c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
    if r1<=teta21;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else

```

```

        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==7;
    r1 = rand;
    %c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
    if r1<=teta22;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==8;
    r1 = rand;
    %c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
    if r1<=teta23;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    %c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=teta24;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else

```

```

        VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    %c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=teta25;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEenzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;
    %c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
    if r1<=teta26;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEenzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

if VLigsubstrato(jii)==12;
    r1 = rand;
    %c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
    if r1<=teta27;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEenzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    end
end

```

```

else
    VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
    r1 = rand;
    %c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
    if r1<=teta28;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==14;
    r1 = rand;
    %c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir
    if r1<=teta29;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==15;
    r1 = rand;
    %c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
    if r1<=teta30;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else

```

```

                VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
                VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;      %ele libera um vpolimero
            end
        end

end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
    end
if i == 20 %8 iterações de 15 segundos cada = 2 minutos
    y_calc1_3(1) = monomero/Polimeros;

    y_calc2_3(1) = VPolimero(1)/Polimeros;

    y_calc3_3(1) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 28 %16 iterações de 15 segundos cada = 4 minutos
    y_calc1_3(2) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(2) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(2) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 36 %32 iterações de 15 segundos cada = 8 minutos
    y_calc1_3(3) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(3) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(3) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 64 %60 iterações de 15 segundos cada = 15 minutos
    y_calc1_3(4) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(4) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(4) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 124 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
    y_calc1_3(5) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(5) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(5) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 184 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
    y_calc1_3(6) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(6) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(6) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
if i == 240 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos

```



```

    y_calc1_3(7) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_3(7) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_3(7) = VPolimero(2)/Polimeros;
end
end
%rotina para calcular quando o polimero é igual a 4 residuos
Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
NEnzimas = 50; %Numero de enzimas
NResiduos = 4; %Numero de residuos que o polimero possui
Rodadas = 240;
Nligacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui
for i=1:6
    VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
end
for i=1:Nligacoes;
    if i < Nligacoes;
        VPolimero(i) = 0;
    else
        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end
for i=1:NEnzimas;
    VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
    VLigsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end

monomero = 0;
for i=1:Rodadas;
    for jii=1:NEnzimas;
        if VEnzima(jii) == 1;
denominador =
teta1*VPolimero(6)+teta2*VPolimero(6)+teta3*VPolimero(6)+teta4*VPolimero(6)+t
eta5*VPolimero(6)+teta6*VPolimero(5)+teta7*VPolimero(5)+teta8*VPolimero(5)+t
eta9*VPolimero(5)+teta10*VPolimero(4)+teta11*VPolimero(4)+teta12*VPolimero(4)+
teta13*VPolimero(3)+teta14*VPolimero(3)+teta15*VPolimero(2);

VAfinidade(1)=teta1*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=teta2*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=teta3*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=teta4*VPolimero(6)/denominador;

```

```

VAfinidade(5)=teta5*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(6)=teta6*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=teta7*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=teta8*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=teta9*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=teta10*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=teta11*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=teta12*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=teta13*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=teta14*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=teta15*VPolimero(2)/denominador;

VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;
        VEenzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
    end
    if cont>5 & cont<=9;
        VEenzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
    end
    if cont>9 & cont<=12;
        VEenzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
    end
    if cont>12 & cont<=14;
        VEenzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
    end
    if cont>14;
        VEenzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;

```

```

        VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
    end
break
end
end
end %final da iteração quando a enzima esta livre
if VEnzima(jii)==2;          %inicio interação quando a enzima esta ligada

    if VLigsubstrato(jii)==1;
        r1 = rand;
        %c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
        if r1<=teta16;
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
            VEnzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else %se dissociou
            VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
    if VLigsubstrato(jii)==2;
        r1 = rand;
        %c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
        if r1<=teta17;
            VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
            VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
            VEnzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else
            VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
    if VLigsubstrato(jii)==3;
        r1 = rand;
        %c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
        if r1<=teta18;
            VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
            VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;

```

```

        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
    r1 = rand;
    %c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
    if r1<=teta19;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==5;
    r1 = rand;
    %c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
    if r1<=teta20;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
    r1 = rand;
    %c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
    if r1<=teta21;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;

```

```

        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==7;
    r1 = rand;
    %c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
    if r1<=teta22;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==8;
    r1 = rand;
    %c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
    if r1<=teta23;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    %c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=teta24;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    end
end
end

```

```

else
    VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    %c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=teta25;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;
    %c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
    if r1<=teta26;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==12;
    r1 = rand;
    %c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
    if r1<=teta27;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else

```

```

        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
    r1 = rand;
    %c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
    if r1<=teta28;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==14;
    r1 = rand;
    %c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir
    if r1<=teta29;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==15;
    r1 = rand;
    %c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
    if r1<=teta30;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre

```

```

                VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;      %ele libera um vpolimero
            end
        end
    end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
        end
    if i == 8 %8 iterações de 15 segundos cada = 2 minutos
        y_calc1_4(1) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(1) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(1) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(1) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end
    if i == 16 %16 iterações de 15 segundos cada = 4 minutos
        y_calc1_4(2) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(2) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(2) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(2) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end
    if i == 24 %32 iterações de 15 segundos cada = 8 minutos
        y_calc1_4(3) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(3) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(3) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(3) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end
    if i == 32 %60 iterações de 15 segundos cada = 15 minutos
        y_calc1_4(4) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(4) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(4) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(4) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end
    if i == 60 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
        y_calc1_4(5) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(5) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(5) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(5) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end
    if i == 120 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
        y_calc1_4(6) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_4(6) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_4(6) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_4(6) = VPolimero(3)/Polimeros;
    end

```



```

end
if i == 180 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
    y_calc1_4(7) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_4(7) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_4(7) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_4(7) = VPolimero(3)/Polimeros;
end
if i == 240 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
    y_calc1_4(8) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_4(8) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_4(8) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_4(8) = VPolimero(3)/Polimeros;
end
end
%rotina para calcular quando o polimero é igual a 5 residuos
Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
Nenzimas = 50; %Numero de enzimas
NResiduos = 5; %Numero de residuos que o polimero possui
Rodadas = 240;
Nligacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui
for i=1:6
    VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
end
for i=1:Nligacoes;
    if i < Nligacoes;
        VPolimero(i) = 0;
    else
        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end
end
VPolimero(3) = 7500;
for i=1:Nenzimas;
    VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
    VLigsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end
monomero = 0;
for i=1:Rodadas;
    for jii=1:Nenzimas;
        if VEnzima(jii) == 1;

```

```

denominador =
teta1*VPolimero(6)+teta2*VPolimero(6)+teta3*VPolimero(6)+teta4*VPolimero(6)+t
eta5*VPolimero(6)+teta6*VPolimero(5)+teta7*VPolimero(5)+teta8*VPolimero(5)+te
ta9*VPolimero(5)+teta10*VPolimero(4)+teta11*VPolimero(4)+teta12*VPolimero(4)+
teta13*VPolimero(3)+teta14*VPolimero(3)+teta15*VPolimero(2);

```

```

VAfinidade(1)=teta1*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=teta2*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=teta3*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=teta4*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(5)=teta5*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(6)=teta6*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=teta7*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=teta8*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=teta9*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=teta10*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=teta11*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=teta12*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=teta13*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=teta14*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=teta15*VPolimero(2)/denominador;

```

```

VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
    end
    if cont>5 & cont<=9;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
    end
    if cont>9 & cont<=12;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
    end
end
end

```

```

    VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
end
if cont>12 & cont<=14;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
end
if cont>14;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
end
break
end
end
end %final da iteração quando a enzima esta livre
if VEnzima(jii)==2;          %inicio interação quando a enzima esta ligada
    if VLigsubstrato(jii)==1;
        r1 = rand;
        %c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
        if r1<=teta16;
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
            VEnzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else %se dissociou
            VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==2;
    r1 = rand;
    %c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
    if r1<=teta17;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    end
end

```

```

                VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==3;
    r1 = rand;
    %c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
    if r1<=teta18;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
    r1 = rand;
    %c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
    if r1<=teta19;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==5;
    r1 = rand;
    %c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
    if r1<=teta20;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end

```

```

end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
    r1 = rand;
    %c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
    if r1<=teta21;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==7;
    r1 = rand;
    %c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
    if r1<=teta22;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==8;
    r1 = rand;
    %c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
    if r1<=teta23;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

end
if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    %c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=teta24;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    %c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=teta25;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;
    %c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
    if r1<=teta26;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

end
if VLigsubstrato(jii)==12;
    r1 = rand;
    %c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
    if r1<=teta27;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
    r1 = rand;
    %c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
    if r1<=teta28;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==14;
    r1 = rand;
    %c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir
    if r1<=teta29;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

if VLigsubstrato(jii)==15;
    r1 = rand;
    %c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
    if r1<=teta30;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
end
if i == 8 %8 iterações de 15 segundos cada = 2 minutos
    y_calc1_5(1) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(1) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(1) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_5(1) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(1) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
if i == 16 %16 iterações de 15 segundos cada = 4 minutos
    y_calc1_5(2) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(2) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(2) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_5(2) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(2) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
if i == 32 %32 iterações de 15 segundos cada = 8 minutos
    y_calc1_5(3) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(3) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(3) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_5(3) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(3) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
if i == 72 %60 iterações de 15 segundos cada = 15 minutos
    y_calc1_5(4) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(4) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(4) = VPolimero(2)/Polimeros;

```



```

    y_calc4_5(4) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(4) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
if i == 120 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
    y_calc1_5(5) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(5) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(5) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_5(5) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(5) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
if i == 180 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
    y_calc1_5(6) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_5(6) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_5(6) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_5(6) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_5(6) = VPolimero(4)/Polimeros;
end
end
%rotina para calcular quando o polimero é igual a 6 residuos
Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
NEnzimas = 50; %Numero de enzimas
NResiduos = 6; %Numero de residuos que o polimero possui
Rodadas = 240;
Nligacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui
for i=1:6
    VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
end
for i=1:Nligacoes;
    if i < Nligacoes;
        VPolimero(i) = 0;
    else
        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end
end
VPolimero(4) = 14600;
for i=1:NEnzimas;
    VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
    VLigsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end
end
monomero = 0;

```

```

for i=1:Rodadas;
    for jii=1:Nenzimas;
        if VEnzima(jii) == 1;
denominator =
teta1*VPolimero(6)+teta2*VPolimero(6)+teta3*VPolimero(6)+teta4*VPolimero(6)+t
eta5*VPolimero(6)+teta6*VPolimero(5)+teta7*VPolimero(5)+teta8*VPolimero(5)+te
ta9*VPolimero(5)+teta10*VPolimero(4)+teta11*VPolimero(4)+teta12*VPolimero(4)+
teta13*VPolimero(3)+teta14*VPolimero(3)+teta15*VPolimero(2);

VAfinidade(1)=teta1*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=teta2*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=teta3*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=teta4*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(5)=teta5*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(6)=teta6*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=teta7*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=teta8*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=teta9*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=teta10*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=teta11*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=teta12*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=teta13*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=teta14*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=teta15*VPolimero(2)/denominador;

VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
    end
    if cont>5 & cont<=9;
        VEnzima(jii)=2;
        VLigsubstrato(jii)=cont;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
    end
end
end

```

```

if cont>9 & cont<=12;
    VEenzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
end
if cont>12 & cont<=14;
    VEenzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
end
if cont>14;
    VEenzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
end
break
end
end
end %final da iteraçao quando a enzima esta livre
if VEenzima(jii)==2;          %inicio interaçao quando a enzima esta ligada
    if VLigsubstrato(jii)==1;
        r1 = rand;
        %c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
        if r1<=teta16;
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
            VEenzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else %se dissociou
            VEenzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==2;
    r1 = rand;
    %c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
    if r1<=teta17;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEenzima(jii)=1;
    end
end

```

```

        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==3;
    r1 = rand;
    %c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
    if r1<=teta18;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
    r1 = rand;
    %c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
    if r1<=teta19;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==5;
    r1 = rand;
    %c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
    if r1<=teta20;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    end
end
end

```

```

else
    VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
    r1 = rand;
    %c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
    if r1<=teta21;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==7;
    r1 = rand;
    %c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
    if r1<=teta22;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==8;
    r1 = rand;
    %c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
    if r1<=teta23;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else

```

```

        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    %c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=teta24;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    %c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=teta25;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;
    %c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
    if r1<=teta26;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
    end
end

```

```

                VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==12;
    r1 = rand;
    %c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
    if r1<=teta27;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
    r1 = rand;
    %c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
    if r1<=teta28;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==14;
    r1 = rand;
    %c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir
    if r1<=teta29;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

end
end
if Vligsubstrato(jii)==15;
    r1 = rand;
    %c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
    if r1<=teta30;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        Vligsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
    end
if i == 8 %8 iterações de 15 segundos cada = 2 minutos
    y_calc1_6(1) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_6(1) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_6(1) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_6(1) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_6(1) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_6(1) = VPolimero(5)/Polimeros;
end
if i == 16 %16 iterações de 15 segundos cada = 4 minutos
    y_calc1_6(2) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_6(2) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_6(2) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_6(2) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_6(2) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_6(2) = VPolimero(5)/Polimeros;
end
if i == 32 %32 iterações de 15 segundos cada = 8 minutos
    y_calc1_6(3) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_6(3) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_6(3) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_6(3) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_6(3) = VPolimero(4)/Polimeros;

```



```

        y_calc6_6(3) = VPolimero(5)/Polimeros;
    end
    if i == 60 %60 iterações de 15 segundos cada = 15 minutos
        y_calc1_6(4) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_6(4) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_6(4) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_6(4) = VPolimero(3)/Polimeros;
        y_calc5_6(4) = VPolimero(4)/Polimeros;
        y_calc6_6(4) = VPolimero(5)/Polimeros;
    end
    if i == 120 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
        y_calc1_6(5) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_6(5) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_6(5) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_6(5) = VPolimero(3)/Polimeros;
        y_calc5_6(5) = VPolimero(4)/Polimeros;
        y_calc6_6(5) = VPolimero(5)/Polimeros;
    end
    if i == 240 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
        y_calc1_6(6) = monomero/Polimeros;
        y_calc2_6(6) = VPolimero(1)/Polimeros;
        y_calc3_6(6) = VPolimero(2)/Polimeros;
        y_calc4_6(6) = VPolimero(3)/Polimeros;
        y_calc5_6(6) = VPolimero(4)/Polimeros;
        y_calc6_6(6) = VPolimero(5)/Polimeros;
    end
    end
    end
    %rotina para calcular quando o polimero tem 7 residuos
    Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
    NEnzimas = 50; %Numero de enzimas
    NResiduos = 7; %Numero de residuos que o polimero possui
    Rodadas = 240;
    Nligacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui
    for i=1:6
        VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
    end
    for i=1:Nligacoes;
        if i < Nligacoes;
            VPolimero(i) = 0;
        else

```

```

        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end

for i=1:NEnzimas;
    VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
    VLigsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end
monomero = 0;
for i=1:Rodadas;
    for jii=1:NEnzimas;
        if VEnzima(jii) == 1;
denominador =
teta1*VPolimero(6)+teta2*VPolimero(6)+teta3*VPolimero(6)+teta4*VPolimero(6)+t
eta5*VPolimero(6)+teta6*VPolimero(5)+teta7*VPolimero(5)+teta8*VPolimero(5)+te
ta9*VPolimero(5)+teta10*VPolimero(4)+teta11*VPolimero(4)+teta12*VPolimero(4)+
teta13*VPolimero(3)+teta14*VPolimero(3)+teta15*VPolimero(2);

VAfinidade(1)=teta1*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=teta2*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=teta3*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=teta4*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(5)=teta5*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(6)=teta6*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=teta7*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=teta8*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=teta9*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=teta10*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=teta11*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=teta12*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=teta13*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=teta14*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=teta15*VPolimero(2)/denominador;

VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;

```

```

VEnzima(jii)=2;
  VLigsubstrato(jii)=cont;
  VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
end
if cont>5 & cont<=9;
  VEnzima(jii)=2;
  VLigsubstrato(jii)=cont;
  VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
end
if cont>9 & cont<=12;
  VEnzima(jii)=2;
  VLigsubstrato(jii)=cont;
  VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
end
if cont>12 & cont<=14;
  VEnzima(jii)=2;
  VLigsubstrato(jii)=cont;
  VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
end
if cont>14;
  VEnzima(jii)=2;
  VLigsubstrato(jii)=cont;
  VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
end
break
end
end
end %final da iteração quando a enzima esta livre
if VEnzima(jii)==2;          %inicio interação quando a enzima esta ligada

if VLigsubstrato(jii)==1;
r1 = rand;
%c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
if r1<=teta16;
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else %se dissociou
    VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre

```

```

        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
if VLigsubstrato(jii)==2;
    r1 = rand;
    %c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
    if r1<=teta17;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==3;
    r1 = rand;
    %c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
    if r1<=teta18;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
    r1 = rand;
    %c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
    if r1<=teta19;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end

```

```

end
end
if VLigsubstrato(jii)==5;
    r1 = rand;
    %c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
    if r1<=teta20;
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
    r1 = rand;
    %c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
    if r1<=teta21;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==7;
    r1 = rand;
    %c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
    if r1<=teta22;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

end
if VLigsubstrato(jii)==8;
    r1 = rand;
    %c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
    if r1<=teta23;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    %c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=teta24;
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    %c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=teta25;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

end
if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;
    %c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
    if r1<=teta26;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==12;
    r1 = rand;
    %c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
    if r1<=teta27;
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
    r1 = rand;
    %c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
    if r1<=teta28;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end

```

```

if VLigsubstrato(jii)==14;
    r1 = rand;
    %c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir
    if r1<=teta29;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==15;
    r1 = rand;
    %c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
    if r1<=teta30;
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
    end
if i == 8 %8 iterações de 15 segundos cada = 2 minutos
    y_calc1_7(1) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(1) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(1) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(1) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(1) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_7(1) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(1) = VPolimero(6)/Polimeros;
end

if i == 24 %16 iterações de 15 segundos cada = 4 minutos
    y_calc1_7(2) = monomero/Polimeros;

```



```
y_calc2_7(2) = VPolimero(1)/Polimeros;
y_calc3_7(2) = VPolimero(2)/Polimeros;
y_calc4_7(2) = VPolimero(3)/Polimeros;
y_calc5_7(2) = VPolimero(4)/Polimeros;
y_calc6_7(2) = VPolimero(5)/Polimeros;
y_calc7_7(2) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
if i == 32 %32 iterações de 15 segundos cada = 8 minutos
    y_calc1_7(3) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(3) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(3) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(3) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(3) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_7(3) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(3) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
if i == 60 %60 iterações de 15 segundos cada = 15 minutos
    y_calc1_7(4) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(4) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(4) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(4) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(4) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_7(4) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(4) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
if i == 120 %120 iterações de 15 segundos cada = 30 minutos
    y_calc1_7(5) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(5) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(5) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(5) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(5) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_7(5) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(5) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
if i == 180 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
    y_calc1_7(6) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(6) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(6) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(6) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(6) = VPolimero(4)/Polimeros;
```

```

    y_calc6_7(6) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(6) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
if i == 240 %240 iterações de 15 segundos cada = 60 minutos
    y_calc1_7(7) = monomero/Polimeros;
    y_calc2_7(7) = VPolimero(1)/Polimeros;
    y_calc3_7(7) = VPolimero(2)/Polimeros;
    y_calc4_7(7) = VPolimero(3)/Polimeros;
    y_calc5_7(7) = VPolimero(4)/Polimeros;
    y_calc6_7(7) = VPolimero(5)/Polimeros;
    y_calc7_7(7) = VPolimero(6)/Polimeros;
end
end
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%peso1 = 1-abs(6.045675-6)/6;
%peso2 = 1-abs(5.84594-6)/6;
%peso3 = 1-abs(5.846981-6)/6;
%peso4 = 1-abs(5.9240555-6)/6;
%peso5 = 1-abs(5.5362483-6)/6;
%peso6 = 1-abs(5.430499-6)/6;

erro1_3(1) = (1-abs(3.1063152-3)/3)*(y_calc1_3(1)-y_exp1_3(1));
erro1_3(2) = (1-abs(3.1588863-3)/3)*(y_calc1_3(2)-y_exp1_3(2));
erro1_3(3) = (1-abs(3.2237628-3)/3)*(y_calc1_3(3)-y_exp1_3(3));
erro1_3(4) = (1-abs(3.2593412-3)/3)*(y_calc1_3(4)-y_exp1_3(4));
erro1_3(5) = (1-abs(3.329627-3)/3)*(y_calc1_3(5)-y_exp1_3(5));
erro1_3(6) = (1-abs(3.33808-3)/3)*(y_calc1_3(6)-y_exp1_3(6));
erro1_3(7) = (1-abs(3.381777-3)/3)*(y_calc1_3(7)-y_exp1_3(7));
erro2_3(1) = (1-abs(3.1063152-3)/3)*(y_calc2_3(1)-y_exp2_3(1));
erro2_3(2) = (1-abs(3.1588863-3)/3)*(y_calc2_3(2)-y_exp2_3(2));
erro2_3(3) = (1-abs(3.2237628-3)/3)*(y_calc2_3(3)-y_exp2_3(3));
erro2_3(4) = (1-abs(3.2593412-3)/3)*(y_calc2_3(4)-y_exp2_3(4));
erro2_3(5) = (1-abs(3.329627-3)/3)*(y_calc2_3(5)-y_exp2_3(5));
erro2_3(6) = (1-abs(3.33808-3)/3)*(y_calc2_3(6)-y_exp2_3(6));
erro2_3(7) = (1-abs(3.381777-3)/3)*(y_calc2_3(7)-y_exp2_3(7));

erro3_3(1) = (1-abs(3.1063152-3)/3)*(y_calc3_3(1)-y_exp3_3(1));
erro3_3(2) = (1-abs(3.1588863-3)/3)*(y_calc3_3(2)-y_exp3_3(2));
erro3_3(3) = (1-abs(3.2237628-3)/3)*(y_calc3_3(3)-y_exp3_3(3));

```

```

erro3_3(4) = (1-abs(3.2593412-3)/3)*(y_calc3_3(4)-y_exp3_3(4));
erro3_3(5) = (1-abs(3.329627-3)/3)*(y_calc3_3(5)-y_exp3_3(5));
erro3_3(6) = (1-abs(3.33808-3)/3)*(y_calc3_3(6)-y_exp3_3(6));
erro3_3(7) = (1-abs(3.381777-3)/3)*(y_calc3_3(7)-y_exp3_3(7));

```

```

erro_3 = [erro1_3 erro2_3 erro3_3];

```

```

erro1_4(1) = (1-abs(3.9799252-4)/4)*(y_calc1_4(1)-y_exp1_4(1));
erro1_4(2) = (1-abs(3.87755-4)/4)*(y_calc1_4(2)-y_exp1_4(2));
erro1_4(3) = (1-abs(3.786925-4)/4)*(y_calc1_4(3)-y_exp1_4(3));
erro1_4(4) = (1-abs(3.7322968-4)/4)*(y_calc1_4(4)-y_exp1_4(4));
erro1_4(5) = (1-abs(3.4524446-4)/4)*(y_calc1_4(5)-y_exp1_4(5));
erro1_4(6) = (1-abs(3.1111006-4)/4)*(y_calc1_4(6)-y_exp1_4(6));
erro1_4(7) = (1-abs(2.747156-4)/4)*(y_calc1_4(7)-y_exp1_4(7));
erro1_4(8) = (1-abs(2.59497-4)/4)*(y_calc1_4(8)-y_exp1_4(8));

```

```

erro2_4(1) = (1-abs(3.9799252-4)/4)*(y_calc2_4(1)-y_exp2_4(1));
erro2_4(2) = (1-abs(3.87755-4)/4)*(y_calc2_4(2)-y_exp2_4(2));
erro2_4(3) = (1-abs(3.786925-4)/4)*(y_calc2_4(3)-y_exp2_4(3));
erro2_4(4) = (1-abs(3.7322968-4)/4)*(y_calc2_4(4)-y_exp2_4(4));
erro2_4(5) = (1-abs(3.4524446-4)/4)*(y_calc2_4(5)-y_exp2_4(5));
erro2_4(6) = (1-abs(3.1111006-4)/4)*(y_calc2_4(6)-y_exp2_4(6));
erro2_4(7) = (1-abs(2.747156-4)/4)*(y_calc2_4(7)-y_exp2_4(7));
erro2_4(8) = (1-abs(2.59497-4)/4)*(y_calc2_4(8)-y_exp2_4(8));

```

```

erro3_4(1) = (1-abs(3.9799252-4)/4)*(y_calc3_4(1)-y_exp3_4(1));
erro3_4(2) = (1-abs(3.87755-4)/4)*(y_calc3_4(2)-y_exp3_4(2));
erro3_4(3) = (1-abs(3.786925-4)/4)*(y_calc3_4(3)-y_exp3_4(3));
erro3_4(4) = (1-abs(3.7322968-4)/4)*(y_calc3_4(4)-y_exp3_4(4));
erro3_4(5) = (1-abs(3.4524446-4)/4)*(y_calc3_4(5)-y_exp3_4(5));
erro3_4(6) = (1-abs(3.1111006-4)/4)*(y_calc3_4(6)-y_exp3_4(6));
erro3_4(7) = (1-abs(2.747156-4)/4)*(y_calc3_4(7)-y_exp3_4(7));
erro3_4(8) = (1-abs(2.59497-4)/4)*(y_calc3_4(8)-y_exp3_4(8));

```

```

erro4_4(1) = (1-abs(3.9799252-4)/4)*(y_calc4_4(1)-y_exp4_4(1));
erro4_4(2) = (1-abs(3.87755-4)/4)*(y_calc4_4(2)-y_exp4_4(2));
erro4_4(3) = (1-abs(3.786925-4)/4)*(y_calc4_4(3)-y_exp4_4(3));
erro4_4(4) = (1-abs(3.7322968-4)/4)*(y_calc4_4(4)-y_exp4_4(4));
erro4_4(5) = (1-abs(3.4524446-4)/4)*(y_calc4_4(5)-y_exp4_4(5));

```

```

erro4_4(6) = (1-abs(3.1111006-4)/4)*(y_calc4_4(6)-y_exp4_4(6));
erro4_4(7) = (1-abs(2.747156-4)/4)*(y_calc4_4(7)-y_exp4_4(7));
erro4_4(8) = (1-abs(2.59497-4)/4)*(y_calc4_4(8)-y_exp4_4(8));

```

```

erro_4 = [erro1_4 erro2_4 erro3_4 erro4_4];

```

```

erro1_5(1) = (1-abs(4.6145093-5)/5)*(y_calc1_5(1)-y_exp1_5(1));
erro1_5(2) = (1-abs(4.250596-5)/5)*(y_calc1_5(2)-y_exp1_5(2));
erro1_5(3) = (1-abs(4.36992-5)/5)*(y_calc1_5(3)-y_exp1_5(3));
erro1_5(4) = (1-abs(4.313027-5)/5)*(y_calc1_5(4)-y_exp1_5(4));
erro1_5(5) = (1-abs(3.48658-5)/5)*(y_calc1_5(5)-y_exp1_5(5));
erro1_5(6) = (1-abs(3.6848534-5)/5)*(y_calc1_5(6)-y_exp1_5(6));

```

```

erro2_5(1) = (1-abs(4.6145093-5)/5)*(y_calc2_5(1)-y_exp2_5(1));
erro2_5(2) = (1-abs(4.250596-5)/5)*(y_calc2_5(2)-y_exp2_5(2));
erro2_5(3) = (1-abs(4.36992-5)/5)*(y_calc2_5(3)-y_exp2_5(3));
erro2_5(4) = (1-abs(4.313027-5)/5)*(y_calc2_5(4)-y_exp2_5(4));
erro2_5(5) = (1-abs(3.48658-5)/5)*(y_calc2_5(5)-y_exp2_5(5));
erro2_5(6) = (1-abs(3.6848534-5)/5)*(y_calc2_5(6)-y_exp2_5(6));

```

```

erro3_5(1) = (1-abs(4.6145093-5)/5)*(y_calc3_5(1)-y_exp3_5(1));
erro3_5(2) = (1-abs(4.250596-5)/5)*(y_calc3_5(2)-y_exp3_5(2));
erro3_5(3) = (1-abs(4.36992-5)/5)*(y_calc3_5(3)-y_exp3_5(3));
erro3_5(4) = (1-abs(4.313027-5)/5)*(y_calc3_5(4)-y_exp3_5(4));
erro3_5(5) = (1-abs(3.48658-5)/5)*(y_calc3_5(5)-y_exp3_5(5));
erro3_5(6) = (1-abs(3.6848534-5)/5)*(y_calc3_5(6)-y_exp3_5(6));

```

```

erro4_5(1) = (1-abs(4.6145093-5)/5)*(y_calc4_5(1)-y_exp4_5(1));
erro4_5(2) = (1-abs(4.250596-5)/5)*(y_calc4_5(2)-y_exp4_5(2));
erro4_5(3) = (1-abs(4.36992-5)/5)*(y_calc4_5(3)-y_exp4_5(3));
erro4_5(4) = (1-abs(4.313027-5)/5)*(y_calc4_5(4)-y_exp4_5(4));
erro4_5(5) = (1-abs(3.48658-5)/5)*(y_calc4_5(5)-y_exp4_5(5));
erro4_5(6) = (1-abs(3.6848534-5)/5)*(y_calc4_5(6)-y_exp4_5(6));

```

```

erro5_5(1) = (1-abs(4.6145093-5)/5)*(y_calc5_5(1)-y_exp5_5(1));
erro5_5(2) = (1-abs(4.250596-5)/5)*(y_calc5_5(2)-y_exp5_5(2));
erro5_5(3) = (1-abs(4.36992-5)/5)*(y_calc5_5(3)-y_exp5_5(3));
erro5_5(4) = (1-abs(4.313027-5)/5)*(y_calc5_5(4)-y_exp5_5(4));
erro5_5(5) = (1-abs(3.48658-5)/5)*(y_calc5_5(5)-y_exp5_5(5));
erro5_5(6) = (1-abs(3.6848534-5)/5)*(y_calc5_5(6)-y_exp5_5(6));

```

```
erro_5 = [erro1_5 erro2_5 erro3_5 erro4_5 erro5_5];
```

```
erro1_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc1_6(1)-y_exp1_6(1));  
erro1_6(2) = (1-abs(5.84594-6)/6)*(y_calc1_6(2)-y_exp1_6(2));  
erro1_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc1_6(3)-y_exp1_6(3));  
erro1_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc1_6(4)-y_exp1_6(4));  
erro1_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc1_6(5)-y_exp1_6(5));  
erro1_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc1_6(6)-y_exp1_6(6));
```

```
erro2_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc2_6(1)-y_exp2_6(1));  
erro2_6(2) = (1-abs(5.84594-6)/6)*(y_calc2_6(2)-y_exp2_6(2));  
erro2_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc2_6(3)-y_exp2_6(3));  
erro2_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc2_6(4)-y_exp2_6(4));  
erro2_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc2_6(5)-y_exp2_6(5));  
erro2_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc2_6(6)-y_exp2_6(6));
```

```
erro3_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc3_6(1)-y_exp3_6(1));  
erro3_6(2) = (1-abs(5.84594-6)/6)*(y_calc3_6(2)-y_exp3_6(2));  
erro3_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc3_6(3)-y_exp3_6(3));  
erro3_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc3_6(4)-y_exp3_6(4));  
erro3_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc3_6(5)-y_exp3_6(5));  
erro3_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc3_6(6)-y_exp3_6(6));
```

```
erro4_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc4_6(1)-y_exp4_6(1));  
erro4_6(2) = (1-abs(5.84594-6)/6)*(y_calc4_6(2)-y_exp4_6(2));  
erro4_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc4_6(3)-y_exp4_6(3));  
erro4_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc4_6(4)-y_exp4_6(4));  
erro4_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc4_6(5)-y_exp4_6(5));  
erro4_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc4_6(6)-y_exp4_6(6));
```

```
erro5_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc5_6(1)-y_exp5_6(1));  
erro5_6(2) = (1-abs(5.84594-6-6)/6)*(y_calc5_6(2)-y_exp5_6(2));  
erro5_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc5_6(3)-y_exp5_6(3));  
erro5_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc5_6(4)-y_exp5_6(4));  
erro5_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc5_6(5)-y_exp5_6(5));  
erro5_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc5_6(6)-y_exp5_6(6));
```

```
erro6_6(1) = (1-abs(6.045675-6)/6)*(y_calc6_6(1)-y_exp6_6(1));  
erro6_6(2) = (1-abs(5.84594-6)/6)*(y_calc6_6(2)-y_exp6_6(2));
```

```

erro6_6(3) = (1-abs(5.846981-6)/6)*(y_calc6_6(3)-y_exp6_6(3));
erro6_6(4) = (1-abs(5.9240555-6)/6)*(y_calc6_6(4)-y_exp6_6(4));
erro6_6(5) = (1-abs(5.5362483-6)/6)*(y_calc6_6(5)-y_exp6_6(5));
erro6_6(6) = (1-abs(5.430499-6)/6)*(y_calc6_6(6)-y_exp6_6(6));

```

```

erro_6 = [erro1_6 erro2_6 erro3_6 erro4_6 erro5_6 erro6_6];

```

```

erro1_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc1_7(1)-y_exp1_7(1));
erro1_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc1_7(2)-y_exp1_7(2));
erro1_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc1_7(3)-y_exp1_7(3));
erro1_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc1_7(4)-y_exp1_7(4));
erro1_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc1_7(5)-y_exp1_7(5));
erro1_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc1_7(6)-y_exp1_7(6));
erro1_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc1_7(7)-y_exp1_7(7));

```

```

erro2_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc2_7(1)-y_exp2_7(1));
erro2_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc2_7(2)-y_exp2_7(2));
erro2_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc2_7(3)-y_exp2_7(3));
erro2_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc2_7(4)-y_exp2_7(4));
erro2_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc2_7(5)-y_exp2_7(5));
erro2_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc2_7(6)-y_exp2_7(6));
erro2_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc2_7(7)-y_exp2_7(7));

```

```

erro3_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc3_7(1)-y_exp3_7(1));
erro3_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc3_7(2)-y_exp3_7(2));
erro3_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc3_7(3)-y_exp3_7(3));
erro3_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc3_7(4)-y_exp3_7(4));
erro3_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc3_7(5)-y_exp3_7(5));
erro3_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc3_7(6)-y_exp3_7(6));
erro3_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc3_7(7)-y_exp3_7(7));

```

```

erro4_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc4_7(1)-y_exp4_7(1));
erro4_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc4_7(2)-y_exp4_7(2));
erro4_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc4_7(3)-y_exp4_7(3));
erro4_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc4_7(4)-y_exp4_7(4));
erro4_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc4_7(5)-y_exp4_7(5));
erro4_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc4_7(6)-y_exp4_7(6));
erro4_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc4_7(7)-y_exp4_7(7));

```

```

erro5_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc5_7(1)-y_exp5_7(1));

```

```

erro5_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc5_7(2)-y_exp5_7(2));
erro5_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc5_7(3)-y_exp5_7(3));
erro5_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc5_7(4)-y_exp5_7(4));
erro5_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc5_7(5)-y_exp5_7(5));
erro5_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc5_7(6)-y_exp5_7(6));
erro5_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc5_7(7)-y_exp5_7(7));

erro6_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc6_7(1)-y_exp6_7(1));
erro6_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc6_7(2)-y_exp6_7(2));
erro6_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc6_7(3)-y_exp6_7(3));
erro6_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc6_7(4)-y_exp6_7(4));
erro6_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc6_7(5)-y_exp6_7(5));
erro6_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc6_7(6)-y_exp6_7(6));
erro6_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc6_7(7)-y_exp6_7(7));

erro7_7(1) = (1-abs(7.181633-7)/7)*(y_calc7_7(1)-y_exp7_7(1));
erro7_7(2) = (1-abs(6.851568-7)/7)*(y_calc7_7(2)-y_exp7_7(2));
erro7_7(3) = (1-abs(6.5957493-7)/7)*(y_calc7_7(3)-y_exp7_7(3));
erro7_7(4) = (1-abs(5.9962104-7)/7)*(y_calc7_7(4)-y_exp7_7(4));
erro7_7(5) = (1-abs(5.45351118-7)/7)*(y_calc7_7(5)-y_exp7_7(5));
erro7_7(6) = (1-abs(4.733465185-7)/7)*(y_calc7_7(6)-y_exp7_7(6));
erro7_7(7) = (1-abs(4.5977895-7)/7)*(y_calc7_7(7)-y_exp7_7(7));

erro_7 = [erro1_7 erro2_7 erro3_7 erro4_7 erro5_7 erro6_7 erro7_7];

erro = [erro_3 erro_4 erro_5 erro_6 erro_7];
ff = erro*erro';
vv = [jj ff]
fprintf('ff=%g\n',ff);
fid = fopen('saida.txt','w');
fprintf(fid,'%8.6g\t',param);
fprintf(fid,'%s\n',' ');
fprintf(fid,'%8.6g\n',ff);
fclose(fid);

```

## DADOS DE ENTRADA PARA GERAÇÃO DOS GRÁFICOS

```

clc
clear all
fileID = fopen('dados.txt','w');
rand('seed',sum(100*clock));

Polimeros = 10000; %quantidade de polimeros
NEnzimas = 50; %Numero de enzimas
NResiduos = 6; %Numero de residuos que o polimero possui
Rodadas = 240;
Nligacoes = NResiduos - 1; %Numero de ligações que o polimero possui

k1 = [ 8.00754      4.80365      7.50644      9.69832      10.0166
8.95196      13.2705      20.4713      15.3608      8.96283      34.5017
16.5007      3.85937      17.8875      6.70563];
k_1 = [4 1 1 4 2 4 1 4 2 0.1 0.1 0.05 3 1 40];
k2 = [4 1 1 4 2 4 1 4 2 0.03 0.05 0.01 0.1 0.2 1];
k3=[0.236142 0.211299      0.510835      0.241889      0.305159      1.22143
1.55988      1.06272      1.16739      0.0567688      0.25367      0.419589
0.0561494      0.1095      0.014924];

for i=1:6
    VPolimero(i) = 0; %vetor polimero formado pelo nº de ligações
end
for i=1:Nligacoes;
    if i < Nligacoes;
        VPolimero(i) = 0;
    else
        VPolimero(i) = Polimeros;
    end
end
if NResiduos == 5;
    VPolimero(3) = Polimeros*0.075;
end
if NResiduos == 6;
    VPolimero(4) = Polimeros*0.14;
end
for i=1:NEnzimas;

```



```

VEnzima(i) = 1; %Vetor Enzima, quando é 1 a enzima esta livre
Vligsubstrato(i) = 0; %substrato que a enzima esta ligada (1 a 15)
end
Rodadas = Rodadas/5;
monomero = 0;
fprintf(fileID,'%6s\t','Iter','Monom','Dim','Tri','Tetra','Penta','Hexa','Hep
ta');
fprintf(fileID,'\n');
fprintf(fileID,'%6.2f\t',0,0,VPolimero);
for i=1:Rodadas;
    for j=1:5;
        for jii=1:NEnzimas;
            if VEnzima(jii) == 1;
denominador =
k1(1)*VPolimero(6)+k1(2)*VPolimero(6)+k1(3)*VPolimero(6)+k1(4)*VPolimero(6)+k
1(5)*VPolimero(6)+k1(6)*VPolimero(5)+k1(7)*VPolimero(5)+k1(8)*VPolimero(5)+k1
(9)*VPolimero(5)+k1(10)*VPolimero(4)+k1(11)*VPolimero(4)+k1(12)*VPolimero(4)+
k1(13)*VPolimero(3)+k1(14)*VPolimero(3)+k1(15)*VPolimero(2);
VAfinidade(1)=k1(1)*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(2)=k1(2)*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(3)=k1(3)*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(4)=k1(4)*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(5)=k1(5)*VPolimero(6)/denominador;
VAfinidade(6)=k1(6)*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(7)=k1(7)*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(8)=k1(8)*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(9)=k1(9)*VPolimero(5)/denominador;
VAfinidade(10)=k1(10)*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(11)=k1(11)*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(12)=k1(12)*VPolimero(4)/denominador;
VAfinidade(13)=k1(13)*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(14)=k1(14)*VPolimero(3)/denominador;
VAfinidade(15)=k1(15)*VPolimero(2)/denominador;
VProbabilidade = VAfinidade;
r1 = rand;
PLigacaoAtacada = r1;
for cont=1:15;
if sum(VProbabilidade(1:cont))>=PLigacaoAtacada;
    if cont<=5;
        VEnzima(jii)=2;

```

```

    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(6)=VPolimero(6)-1;
end
if cont>5 & cont<=9;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(5)=VPolimero(5)-1;
end
if cont>9 & cont<=12;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(4)=VPolimero(4)-1;
end
if cont>12 & cont<=14;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(3)=VPolimero(3)-1;
end
if cont>14;
    VEnzima(jii)=2;
    VLigsubstrato(jii)=cont;
    VPolimero(2)=VPolimero(2)-1;
end
break
end
end
end %final da iteração quando a enzima esta livre
if VEnzima(jii)==2;          %inicio interação quando a enzima esta ligada
    if VLigsubstrato(jii)==1;
        r1 = rand;
        c1=k2(1)/(k2(1)+k_1(1)); %chance de reagir
        if r1<=k3(1);
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
            VEnzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else %se dissociou
            VEnzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
end

```

```

end
if VLigsubstrato(jii)==2;
r1 = rand;
c2=k2(2)/(k2(2)+k_1(2)); %chance de reagir
if r1<=k3(2);
    VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==3;
r1 = rand;
c3=k2(3)/(k2(3)+k_1(3)); %chance de reagir
if r1<=k3(3);
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
    VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==4;
r1 = rand;
c4=k2(4)/(k2(4)+k_1(4)); %chance de reagir
if r1<=k3(4);
    VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end

```

```

if VLigsubstrato(jii)==5;
r1 = rand;
c5=k2(5)/(k2(5)+k_1(5)); %chance de reagir
if r1<=k3(5);
    VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;
    monomero=monomero+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(6)=VPolimero(6)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==6;
r1 = rand;
c6=k2(6)/(k2(6)+k_1(6)); %chance de reagir
if r1<=k3(6);
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==7;
r1 = rand;
c7=k2(7)/(k2(7)+k_1(7)); %chance de reagir
if r1<=k3(7);
    VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
    VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==8;

```

```

r1 = rand;
c8=k2(8)/(k2(8)+k_1(8)); %chance de reagir
if r1<=k3(8);
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==9;
    r1 = rand;
    c9=k2(9)/(k2(9)+k_1(9)); %chance de reagir
    if r1<=k3(9);
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(5)=VPolimero(5)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==10;
    r1 = rand;
    c10=k2(10)/(k2(10)+k_1(10)); %chance de reagir
    if r1<=k3(10);
        VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        VEnzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
        VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
    end
end
end
if VLigsubstrato(jii)==11;
    r1 = rand;

```

```

c11=k2(11)/(k2(11)+k_1(11)); %chance de reagir
if r1<=k3(11);
    VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==12;
r1 = rand;
c12=k2(12)/(k2(12)+k_1(12)); %chance de reagir
if r1<=k3(12);
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;
    monomero=monomero+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(4)=VPolimero(4)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==13;
r1 = rand;
c13=k2(13)/(k2(13)+k_1(13)); %chance de reagir
if r1<=k3(13);
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
    VEnzima(jii)=1;
    VLigsubstrato(jii)=0;
else
    VEnzima(jii)=1;    %enzima volta a ser livre
    VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;    %ele libera um vpolimero
end
end
if VLigsubstrato(jii)==14;
r1 = rand;
c14=k2(14)/(k2(14)+k_1(14)); %chance de reagir

```

```

    if r1<=k3(14);
        VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;
        monomero=monomero+1;
        VEzima(jii)=1;
        VLigsubstrato(jii)=0;
    else
        VEzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
        VPolimero(3)=VPolimero(3)+1;      %ele libera um vpolimero
    end
end
end
    if VLigsubstrato(jii)==15;
        r1 = rand;
        c15=k2(15)/(k2(15)+k_1(15)); %chance de reagir
        if r1<=k3(15);
            VPolimero(1)=VPolimero(1)+1;
            monomero=monomero+1;
            VEzima(jii)=1;
            VLigsubstrato(jii)=0;
        else
            VEzima(jii)=1;      %enzima volta a ser livre
            VPolimero(2)=VPolimero(2)+1;      %ele libera um vpolimero
        end
    end
end
end%fim da iteração quando a enzima esta ocupada
    end
end
    fprintf(fileID,'\n');
    fprintf(fileID,'%6.2f\t',i*5,monomero,VPolimero);
end
fclose(fileID);

```

## OTIMIZAÇÃO

```

clc
clear all
global x_exp x_exp1 y_exp1_3 y_exp2_3 y_exp3_3 y_exp1_4 y_exp2_4 y_exp3_4
y_exp4_4 y_exp1_5 y_exp2_5 y_exp3_5 y_exp4_5 y_exp5_5 y_exp1_6 y_exp2_6
y_exp3_6 y_exp4_6 y_exp5_6 y_exp6_6 y_exp1_7 y_exp2_7 y_exp3_7 y_exp4_7
y_exp5_7 y_exp6_7 y_exp7_7 ff y_calc jj %mat_var

%Declaramos os valores da variável independente
x_exp1 = [2 4 8 15 30 60];
jj = 0;
%Declaramos os valores da variável dependente

%Declarar o valor das concentração do experimento com 3 residuos
y_exp1_3 = [0.0243446640572727  0.037101145425842  0.0397043479749813
           0.0666007596872644  0.123434546872668  0.176649750754925
           0.226631146879289];

y_exp2_3 = [0.0604221361695684  0.0725782058062679  0.0934190939854508
           0.122086021555522  0.206804245640728  0.278110770263145
           0.321523270162403];

y_exp3_3 = [0.951603687867864  0.939247480987207  0.924485821351372
           0.896409065733897  0.820985653948625  0.755709569572928
           0.710107437598635];

%Declarar o valor das concentração do experimento com 4 residuos
y_exp1_4 = [0.0323127680892093  0.0539470541965932  0.0944766532212811
           0.101429018185263  0.194933178652599  0.412153821062553
           0.624793058712356  0.783061075850588];

y_exp2_4 = [0.0122933968708759  0.0179882657863857  0.0271402259088839
           0.0299049100275198  0.0483776625988437  0.102260659780658
           0.169395549433669  0.233420810259849];

y_exp3_4 = [0.0553441557142833  0.076549780144679  0.115525921427015
           0.136652583470854  0.237627563958593  0.462105275541395
           0.685699683600058  0.781525797986104];

```



```
y_exp4_4 = [0.944266992756547    0.92010676844915    0.876166282669976  
           0.857200852836784    0.748857201068484    0.499252258187987  
           0.244829197905033    0.101379977417851];
```

```
%Declarar o valor das concentração do experimento com 5 residuos
```

```
y_exp1_5 = [0.0520449704153809    0.149177903522235    0.209122821470416  
           0.26266355392628    0.59745509926633    0.669534098697115  
           0.665019655081488];
```

```
y_exp2_5 = [0.0603651400160793    0.172273488235532    0.248204772627416  
           0.314133206214568    0.388594267161517    0.616234827686768  
           0.74826885565857];
```

```
y_exp3_5 = [0.0788630981846759    0.217467150489014    0.335161742091388  
           0.42104651790958    0.850962834640249    0.847974033376742  
           0.833014872218264];
```

```
y_exp4_5 = [0.139937956133277    0.229536046239163    0.282393041520211  
           0.33987151019458    0.174970888377723    0.0403260276243283  
           0.0255153509069278];
```

```
y_exp5_5 = [0.806176726093065    0.587145896716602    0.431882048183948  
           0.297288887827505    0.0745168617957999    0.0785540070603623  
           0.0474673226637738];
```

```
%Declarar o valor das concentração do experimento com 6 residuos
```

```
y_exp1_6 = [0.190426379    0.246582414    0.36339369    0.355334618    0.624507394  
           0.895513285];
```

```
y_exp2_6 = [0.285066928    0.361208634    0.463970723    0.514544808    0.688746565  
           0.850877608];
```

```
y_exp3_6 = [0.275689315    0.347984071    0.491289436    0.570244826    0.899168486  
           1.055915119];
```

```
y_exp4_6 = [0.357533278    0.460837778    0.496587555    0.514544808    0.321925229  
           0.056424428];
```

```
y_exp5_6 = [0.146946371  0.148700124  0.1245453  0.096896763  0.002558621
            0.001357179];
```

```
y_exp6_6 = [0.374584476  0.233366063  0.10428664  0.06036304  0  0];
```

```
%Declarar o valor das concentração do experimento com 7 residuos
```

```
y_exp1_7 = [0.0245061255566805  0.0682992564621704  0.101308474535259
            0.207738374223826  0.466773958277647  0.76793677737803
            0.95166753501873];
```

```
y_exp2_7 = [0.0487888478845967  0.111326633553079  0.173341488282461
            0.300001814479358  0.579246084904881  0.785733042208908
            0.878424512474962];
```

```
y_exp3_7 = [0.047121316280016  0.112197091235174  0.147829148084813
            0.283955846512657  0.617849654797994  0.935642246621911  1.124320285];
```

```
y_exp4_7 = [0.0797702555950715  0.182403794284753  0.217103764086364
            0.393269222174058  0.680692287496145  0.442689851536322
            0.20742902649197];
```

```
y_exp5_7 = [0.0655427254497689  0.132391300794212  0.172429840533812
            0.214757974470009  0.109479595859195  0.0157893418624563
            0.0177612959444968];
```

```
y_exp6_7 = [0.0621717929612945  0.0612845118081  0.0657595187858338
            0.0743471743419811  0.000324526702446404  0  0];
```

```
y_exp7_7 = [0.816675260348169  0.659025350109639  0.569057104702266
            0.321062950025903  0.0355815168604825  0.000566326125835866  0];
```

```
%estimativas iniciais para os valores dos parâmetros
```

```
k1 = [ 8.00754  4.80365  7.50644  9.69832  10.0166
      8.95196  13.2705  20.4713  15.3608  8.96283  34.5017
      16.5007  3.85937  17.8875  6.70563];
```

```
k3 = [0.236142  0.211299  0.510835  0.241889  0.305159
      1.22143  1.55988  1.06272  1.16739  0.0567688  0.25367
      0.419589  0.0561494  0.1095  0.014924];
```

```
chute = [k1 k3];
```

```
%utilizamos uma rotina de otimização para minimizar a função objetivo  
%variando os parâmetros
```

```
%y = fobj(chute)
```

```
param = fminsearch('fobj',chute);
```

```
%param = fminsearch('fobj',param);
```

```
param
```

```
%param = chute;
```

```
%resultado = fobj(param)
```