Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Avaliação da toxicidade de diversos fenóis por meio de estudos teóricos e
sua influência na determinação do dano ambiental”

Gustavo Suzigan Leis

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO – SP
Ano 2014

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Avaliação da toxicidade de diversos fenóis por meio de estudos teóricos e
sua influência na determinação do dano ambiental”

Gustavo Suzigan Leis

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, Área: Química
Orientador: Prof. Dr. Luis Gustavo Dias
Co-orientador: Prof.^a Dra. Aline Thais Bruni

RIBEIRÃO PRETO –SP
Ano 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Leis, Gustavo Suzigan.

Avaliação da toxicidade de diversos fenóis por meio de estudos teóricos e sua influência na determinação do dano ambiental. Ribeirão Preto, 2014.

61 p

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Química.

Orientador: Dias, Luis Gustavo

1 Fenol; LogP; LogKow; QSAR; PLS; Battelle; IQA.

À minha família, por todo apoio,

AGRADECIMENTOS

À professora Aline, pelo apoio em todo o projeto, tanto nos estudos quanto no amadurecimento como aluno e como pessoa. Agradeço a confiança e a dedicação.

À minha família que fez possível concluir mais essa etapa de minha vida.

Aos meus pais, Sonia e Carlos, e meu irmão, Guilherme, que em todo momento me incentivaram à seguir estudando e evoluindo.

À Fernanda, companheira que em muitos anos apoiou nos momentos mais difíceis me trazendo apoio, alegria e me incentivando.

À Bruna, companheira de mestrado e de pesquisa.

Ao professor Daniel, que me aceitou inicialmente como aluno.

Ao professor Luis, que posteriormente me aceitou como aluno e ajudou na continuidade do projeto.

Aos meus amigos de Ribeirão Preto, que me acompanharam por todos esses anos, em especial a Galera do Abadá.

Aos irmãos da República Tradição, que foram a base para meu crescimento como pessoa e me acolheram desde meu início.

A Universidade de São Paulo e aos docentes e funcionários da FFCLRP-USP.

A CAPES pela concepção da bolsa de mestrado e o apoio financeiro para realização desta pesquisa.

Ao CENAPAD da Unicamp que forneceu os computadores e softwares para os cálculos.

RESUMO

Leis, Gustavo Suzigan. Avaliação da toxicidade de diversos fenóis por meio de estudos teóricos e sua influência na determinação do dano ambiental. 2014. 61. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Os estudos de impacto ambiental em sistemas aquáticos são de grande importância, tanto no âmbito social quanto no econômico. Estes têm que contemplar a avaliação dos danos produzidos pelos mais variados tipos de substâncias, criando a necessidade de conhecer a ação destas ao sistema em questão. O resultado da interação de substâncias com o ambiente pode ser explorado por meio de experimentos envolvendo o coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}). A escolha do K_{ow} se deve ao fato deste se relacionar a interação do composto escolhido com o meio, no que diz respeito à absorção e transporte. No caso deste trabalho, uma série de fenóis foi estudada em termos do coeficiente de partição. Cálculos teóricos foram realizados como alternativa para mensuração experimental do coeficiente de partição octanol/água. A elaboração de modelos QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationship*) para a previsão de valores de coeficiente de partição octanol/água foi realizado por meio de cálculos envolvendo física quântica e quimiometria. Os dados das variáveis foram obtidos para o grupo de fenóis em questão utilizando os métodos de cálculos semiempíricos AM1, PM3, PM6 e PM7. A comparação dos modelos QSAR obtidos permitiu a conclusão de que, para os descritores selecionados, o conjunto de valores obtidos com o método PM7 proporcionou a criação dos melhores modelos. Utilizando como variáveis selecionadas energia eletrônica, área molecular, volume molecular, energia de repulsão *core-core* e massa molecular, obteve-se um modelo que acumulava aproximadamente 99,99% de toda a informação em três componentes, com um

coeficiente de correlação externo (referente à calibração) em torno de 0,93, o que indica a força preditiva do modelo. A relação da toxicidade com o Índice de Qualidade das Águas também foi investigado por meio da relação dos valores logKow obtidos e pH. Com o pKa de cada fenol proveniente de dados teóricos (e fazendo uso da relação de pKa e pH proposta por Henderson-Hasselbach), pode-se concluir que não existe influência intrínseca dos valores de logKow nos valores de pH, verificado com o baixo coeficiente de correlação entre as variáveis, em torno de 0,15.

Palavras-chave: Fenol; LogP; LogKow; QSAR; PLS; Battelle; IQA.

ABSTRACT

Leis, Gustavo Suzigan. Avaliação da toxicidade de diversos fenóis por meio de estudos teóricos e sua influência na determinação do dano ambiental. 2014. 61. Dissertation (Master). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

The environmental impact on aquatic systems are of great importance, both in the social sphere as the economic. These must include the assessment of the damage caused by all sorts of substances, creating the need to know the action of these to the system in question. The result of the interaction of substances with the environment can be explored through experiments involving octanol / water partition coefficient (K_{ow}). The choice of K_{ow} is due to relate the interaction of the compound with the chosen medium, as regards the absorption and transport. In the case of this work, a number of phenols was studied in terms of the partition coefficient. Theoretical calculations have been performed as an alternative to experimental measurement of octanol / water partition. The use of models QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) for predicting values of octanol / water partition was made by means of calculations involving quantum physics and chemometrics. The data for each variable were obtained for the group concerned phenols using the semi-empirical calculation methods AM1, PM3, PM6 and PM7. A comparison of the obtained QSAR models allowed the conclusion that, for the selected descriptors, a set of values obtained with the method provided PM7 the creation of the best models. Using as selected electronic energy, molecular area, molecular volume, core-core repulsion energy and molecular mass variables, we obtained a model that accumulated approximately 99.99% of all information in three components, with an external correlation coefficient (referring to the calibration) around 0,93, which shows the predictive power of the model. The relationship of toxicity with the Water Quality Index was also investigated by means of the relation of $\log K_{ow}$

values obtained and pH. With the pKa of the phenol from each theoretical data (and using the relationship of pKa and pH proposed by Henderson-Hasselbach), it can be concluded that there is no influence of intrinsic values logKow in pH checked with low coefficient correlation between the variables, around 0,15.

Palavras-chave: Phenol; LogP; LogKow; QSAR; PLS; Battelle; IQA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de busca feita no site http://www.sciencedirect.com/	8
Figura 2. Curvas médias de variação utilizadas nos cálculos de IQA[3]	12
Figura 3. Parâmetros utilizados no método de Battelle [19].	15
Figura 4. Organograma representativo das etapas do estudo.	28
Figura 5. Correlação entre os dados e Log Kow.	34
Figura 6. Exemplo de molécula <i>outlier</i> (Mol_26) com alto valor de resíduo de Student.	35
Figura 7. Exemplo de molécula <i>outlier</i> (Mol_13) com alto valor de leverage.	35
Figura 8. Gráfico representando o valor mínimo do desvio padrão da validação cruzada em 3 componentes principais.	36
Figura 9. Relação entre o valor experimental e o valor calculado pelo modelo.	37
Figura 10. Gráfico de correlação entre pka e LogKow.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação da água bruta através dos valores de IQA.	13
Tabela 2. Fenóis selecionados e seus respectivos valores de Log Kow.	23
Tabela 3. Fenóis e respectivos coeficientes de partição octanol/água.	25
Tabela 4. Variáveis selecionadas [35].	26
Tabela 5. Comparação entre os modelos com dados do melhor AM1.	30
Tabela 6. Comparação entre os modelos com dados do melhor PM3.	31
Tabela 7. Comparação entre os modelos com dados do melhor PM6.	32
Tabela 8. Comparação entre os modelos com dados do melhor PM7.	33
Tabela 9. Dados do modelo PLS.	36
Tabela 10. Comparação entre os valores experimentais e o os valores previstos pelo modelo PLS.	37
Tabela 11. Relação entre substituintes e valor da repulsão <i>Core-Core</i>	39
Tabela 12. Relação entre substituintes e valor da energia eletrônica.	40
Tabela 13. pka e logKow para cada fenol estudado.	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Tabela de dados de descritores utilizados para os cálculos.	50
Anexo 2. Tabela de dados AM1.	51
Anexo 3. Tabela de dados PM3.....	53
Anexo 4. Tabela de dados PM6.....	54
Anexo 5. Tabela de dados PM7.....	55
Anexo 6. Tabela de dados novos de PM7 para o conjunto representado pela tabela 2.	57
Anexo 7. Tabela de dados novos de PM7 para o conjunto apresentado na Tabela 3.....	58

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AM1	<i>Austin Model 1</i>	PM6	<i>Parameterization method number 6</i>
CA	Área Molecular	PM7	<i>Parameterization method number 7</i>
CC	Repulsão <i>Core-Core</i>	Pred Cal	Valor de logKow obtido na calibração
CV	Volume Molecular	Pred Val	Valor de LogKow obtido na validação
EE	Energia Eletrônica	Q²	Coefficiente de correlação da validação cruzada
HF	Calor de Formação	Q_{aij}	Qualidade da água para fator i e variável j
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i> : valor de energia do mais elevado orbital ocupado de uma molécula na teoria dos orbitais moleculares	QSAR	<i>Quantitative Strucutre Activity Relationship</i>
IP	Potencial de Ionização	R²	Coefficiente de correlação de determinações múltiplas
IQA	Índice de Qualidade das Águas	Res Cal	Resíduo do valor de LogKow obtido na calibração
K_{ow}	Coefficiente de partição octanol/água	Res Val	Resíduo do valor de LogKow obtido na validação
LogK_{ow}	Logarítmo do coeficiente de partição octanol/água	s	Desvio Padrão
LUMO	<i>lowest unoccupied molecular orbital</i> : valor de energia do mais baixo orbital desocupado de uma molécula na teoria dos orbitais moleculares	SAR	<i>Structure Activity Relationship</i>
MM	Massa Molecular	SEC	<i>Standard Error of Calibration</i>
MNDO	<i>Modified Neglect of Diatomic Overlap</i>	SEP	<i>Standard Error of Prediction</i>
Mol_N	Molécula_N	TE	Energia Total
MP	Ponto de Fusão	UIA	Unidade de Impacto Ambiental para variável j
NDDO	<i>Neglect of Diatomic Differential Overlap</i>	UIP	Unidade de Importância do Parâmetro para o fator i
PLS	<i>Partial Least Squares</i>	Y	Vetor atividade
PM3	<i>Parametric Method Number 3</i>	Y Medido	Valor de logKow medido experimentalmente

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA	4
3. OBJETIVOS	7
4. INSERÇÃO DO PROBLEMA NA LITERATURA	8
5. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	10
5.1. Índice de qualidade da água (IQA)	10
5.2. Cálculo de dano ambiental à água	13
5.2.1. Método de aproximação semi-quantitativo – Lista de Verificação Ponderada ...	13
5.3. Coeficiente de partição Octanol/Água	17
5.4. Fundamentos de cálculo	18
5.4.1. Modelagem Molecular e QSAR	18
5.4.2. Mínimos quadrados parciais (PLS, Partial Least Squares)	19
6. PROCEDIMENTO COMPUTACIONAL	22
6.1. Estudo da influência de parâmetros físico químicos no valor de Kow dos fenóis	23
6.1.1. Variáveis estudadas	26
6.1.2. Procedimento de Análise	27
7. Estudo da relação entre coeficiente de partição octanol/água e as variáveis utilizadas para o cálculo de IQA	28
8. RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
8.1. Estudo da influência dos parâmetros físico químicos no valor de Kow dos fenóis. ...	29

8.1.1.	Melhores descritores para AM1.	29
8.1.2.	Melhores descritores para PM3.	30
8.1.3.	Melhores descritores para PM6.	31
8.1.4.	Melhores descritores para PM7.	32
8.2.	Escolha do melhor modelo e adição de novos dados.	33
8.3.	Criação do modelo com novos dados.	34
8.4.	Estudo da relação entre os parâmetros presentes no IQA e o Kow.	41
9.	CONCLUSÃO	44
10.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
11.	ANEXOS.....	50

1. INTRODUÇÃO

A busca por um melhor e mais confortável modo de vida marca a crescente industrialização nos tempos atuais. No mesmo ritmo são gerados, todos os dias, milhares de toneladas de resíduos de produção ou consumo, provenientes de indústrias, tais como gases tóxicos, efluentes sem tratamento, compostos orgânicos, dentre outros.

A preocupação gerada com a degradação do meio ambiente é antiga. Discussões sobre os danos causados ao meio ambiente e sua preservação ganharam força a partir das conferências mundiais organizadas pelas Nações Unidas, ocorridas em Estocolmo (1972), no Rio de Janeiro (1992), Johannesburgo (2002) e em Copenhague (2009)[1]. Temas como controle dos bens naturais entraram em discussão, frente à responsabilidade de manutenção da qualidade de vida e qualidade ambiental.

Na esfera jurídica nacional, várias são as menções à preservação ambiental, inclusive no âmbito Constitucional, que apresenta um capítulo específico para este assunto - Capítulo VI, do meio ambiente. Este capítulo é iniciado com o artigo 225, cujo *caput* dispõe:

Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações.

Essa necessidade de busca do equilíbrio e decorrente preocupação com a preservação levam a grandes investimentos em estudos relacionados a todo tipo de dano causado ao meio ambiente.

Ainda, a Lei no 6.938 de 31 de agosto de 1981, conhecida como Política Nacional do Meio Ambiente, é um dispositivo anterior à Constituição Federal e muito importante, uma vez que apresenta o conceito jurídico para o meio ambiente, degradação da qualidade ambiental, poluição e outras definições de importância para a aplicação da Lei. Somente em 1998 surgiu a Lei nº 9.605 - Lei de Crimes Ambientais, que trata de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente e das sanções penais e administrativas decorrentes. Assim, de maneira resumida, temos que a responsabilização jurídica quando ocorre um dano ambiental pode ser feita nas esferas civil, quando não caracterizar crime, administrativa, quando envolver ação ou omissão de órgãos da administração pública, e penal, quando a conduta se encaixar na Lei de Crimes Ambientais [2].

Como consequência de todos os processos industriais modernos, acidentes ambientais envolvendo produtos químicos ocorrem com grande frequência. Recentemente, os danos relativos a acidentes ambientais têm sido extremamente divulgados e têm gerado uma série de ações judiciais, tanto no âmbito civil quanto na esfera penal. A determinação do alcance do acidente ambiental é muito importante para a correta definição da punição jurídica.

O uso de metodologias para a avaliação de um dano causado a um determinado meio é motivo de estudos de várias áreas das ciências. No entanto, no Brasil, as metodologias de levantamento de danos ainda não estão bem estabelecidas. A partir do momento em que a informação técnica se tornou de extrema importância nos meios judiciais, a necessidade de desenvolvimento de metodologia adequada para instruir o processo se tornou indispensável.

Em se tratando de ambientes aquáticos, diversos são os estudos relacionados à prevenção de danos, incluindo leis e parâmetros regulatórios considerados relevantes

para avaliação da qualidade das águas, tendo como determinante a utilização para o abastecimento público [3].

O dano ambiental é dependente não apenas de uma área da ciência, sendo fundamentalmente multidisciplinar, agregando conhecimento de uma série de disciplinas e frentes, jurídicas ou não. A avaliação de um dano está em contato com economia, estatística, ecologia, antropologia etc. A perícia a ser realizada exige uma equipe multidisciplinar para satisfazer as várias questões envolvidas ao dano ao meio ambiente [4].

O dano ambiental causado por uma substância química tem relação direta com a toxicidade desta substância. Na Legislação Brasileira, a agressão aos recursos hídricos é tratada principalmente por dois dispositivos legais: Lei nº 9.433 de 1997- a Política Nacional de Recursos Hídricos - e a Resolução CONAMA nº 357 de 2005. No entanto, a legislação nacional falha em não prever expressamente o derramamento mínimo para vários tipos de compostos químicos; a ausência dessa previsão compromete a avaliação do efeito deletério destes quando disponibilizados no meio ambiente por meio de derramamentos indesejados. Além disso, a quantidade prevista dos compostos para os corpos hídricos não apresentam nenhum tipo de referência à toxicidade.

Escolhemos para o estudo um conjunto específico de produtos químicos, os fenóis. Estudos com fenóis são muitos e de longa data. Produtos orgânicos que contêm em sua estrutura fenóis são produzidos desde 1860, e incluem uma grande área de aplicação como e indústrias têxteis, de papel, óleos etc. Como exemplo, clorofenóis são usados na agricultura; alquilfenóis estão relacionados à produção de surfactantes detergentes; bisfenol é usado para sintetizar resinas presentes em plásticos [5].

Neste trabalho, tais compostos foram estudados utilizando métodos teóricos para a definição da toxicidade aquática. Os detalhes dessa discussão serão abordados no decorrer do texto.

2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

Quando um ilícito ambiental ocorre, a caracterização do dano torna-se indispensável e a responsabilização é imperativa, independentemente de culpa, como dispõe o § 1º do artigo 14 da Lei nº 6.938 de 1981 (Política Nacional do Meio Ambiente):

Artigo 14. *omissis*

§ 1º - Sem obstar a aplicação das penalidades previstas neste artigo, **é o poluidor obrigado, independentemente da existência de culpa, a indenizar ou reparar os danos causados** ao meio ambiente e a terceiros, afetados por sua atividade. O Ministério Público da União e dos Estados terá legitimidade para propor ação de responsabilidade civil e criminal, por danos causados ao meio ambiente. (grifo nosso)

Além disso, a Lei nº 9.605 de 1998 (Lei de Crimes Ambientais), dispõe:

Artigo 19. A perícia de constatação do dano ambiental, sempre que possível, fixará o montante do prejuízo causado para efeitos de prestação de fiança e cálculo de multa.

Parágrafo único. A perícia produzida no inquérito civil ou no juízo cível poderá ser aproveitada no processo penal, instaurando-se o contraditório.

Artigo 20. A sentença penal condenatória, sempre que possível, fixará o valor mínimo para reparação dos danos causados pela infração, considerando os prejuízos sofridos pelo ofendido ou pelo meio ambiente.

Os dispositivos legais acima citados são categóricos em afirmar a necessidade de atribuição a um montante financeiro relativo ao dano. Essa não é uma tarefa trivial. Vários métodos existem na literatura com essa finalidade e não há um consenso sobre a

qual seria a metodologia mais adequada. O importante é avaliar caso a caso para adequar a metodologia ao problema.

Para nossos propósitos, vamos trabalhar com um dos cálculos de valoração de danos a ambientes aquáticos que consiste no método interdisciplinar e quantitativo da Lista de Verificação Ponderada (*Checklist*). Neste método são propostas listas de itens que podem ser impactantes para o ambiente aquático, e é feita uma associação destes itens com o dano ocorrido. Assim, mensura-se o nível de impacto ambiental a partir de um escala arbitrária apropriada para quantificação do dano e posteriormente associa-se esse impacto a um valor de indenização [6]. A situação problema aparece nesse cálculo. O valor do impacto ambiental é calculado por meio do uso do índice de qualidade da água (IQA) e escolha de outros parâmetros multiplicados por valores de importância subjetiva [7]. Todos os detalhes dessa metodologia serão discutidos adiante. O fato é que o índice de qualidade da água possui parâmetros que não discriminam a toxicidade para diferentes compostos, não existindo estudos que mostrem ou não esta influência. Ademais, a legislação brasileira não apresenta, no caso de muitas substâncias, valores de toxicidade associados à quantidade do derramamento permitido. No caso de fenóis, grupo escolhido para ser abordado neste trabalho, há referência apenas a fenóis totais e quatro tipos de fenóis substituídos [8]. A falta de previsão expressa desses valores na legislação pode acarretar a insegurança jurídica inerente à falta de informação.

Em síntese, temos os seguintes questionamentos:

- a) No caso de toxicidade aquática, a lista de verificação ponderada para a definição de qualidade da água é suficiente para a determinação da dimensão e do alcance do dano ambiental?
- b) Poderiam ser todos os fenóis reduzidos a um único valor de derramamento definido como “fenóis totais”, como trata a legislação?

- c) Seria possível correlacionar o índice de qualidade da água com valores de toxicidade?

Para tentar responder esses questionamentos, em primeiro lugar é necessário saber quais seriam os valores de toxicidade para diferentes fenóis. Para entender o comportamento desses compostos em relação à toxicidade e levando em consideração que a realização de experimentos pode demandar custos, tempo, e ainda informações sobre os vários tipos de interações ambientais e com os organismos vivos [9], propõe-se o uso de métodos teóricos em química.

A aplicação desses métodos teóricos torna-se cada vez mais importante quando se deseja entender o comportamento de produtos químicos e meio ambiente. Muitos são os cálculos envolvendo substâncias e dessa maneira métodos teórico-computacionais têm desempenhado um papel fundamental no estudo e validação do desenvolvimento de estudos ambientais. Métodos teóricos de determinação estrutural, associados a métodos quimiométricos, podem fornecer modelos nos quais é possível entender a relação entre a estrutura de um grupo de compostos similares e seus efeitos deletérios relacionados à toxicidade. Esses são os chamados Modelos SAR/QSAR (*Structure Activity Relationship/ Quantitative Structure Activity Relationship*), que podem prever valores de bioatividade como toxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade baseando-se em parâmetros estruturais de compostos conhecidos. Com os avanços da computação e da química teórica, muitos são os parâmetros que podem ser obtidos para se utilizar como dados para cálculos quimiométricos [10].

Durante muito tempo o estudo da relação quantitativa estrutura-atividade (*quantitative structure activity relationships*, QSAR) [11] era desenvolvido no campo da farmacologia e desenho de drogas, mas há alguns anos vem crescendo o interesse em usar tal ferramenta para a análise de propriedades ecotoxicológicas de compostos

orgânicos a partir de suas propriedades estruturais e físico-químicas. Seria impensável a ideia de testar experimentalmente as propriedades tóxicas de todas as substâncias tanto em organismos como em ecossistemas [12]. Assim, os cálculos das propriedades estruturais juntamente com as propriedades físico-químicas parecem ser mais aplicáveis para a previsão das propriedades toxicológicas [12,13].

A atividade toxicológica pode ser mensurada de várias maneiras. Dentre estas, destaca-se o coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}). K_{ow} é uma medida da lipofilicidade de um composto, e é definido como a razão da concentração, no equilíbrio, do composto dissolvido em duas fases imiscíveis, no caso octanol e água [14]. Nos últimos anos o K_{ow} é relacionado a várias áreas, como estimativa de bioconcentração, toxicidade e solubilidade [14].

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi estudar um grupo de compostos, os fenóis, em relação à toxicidade e possibilidade de determinação do dano ao meio ambiente. Para atingir o objetivo geral, temos que os seguintes objetivos específicos foram destacados:

- a utilização de métodos de química quântica e quimiometria, associando-os para o desenvolvimento de modelos SAR/QSAR para diversos fenóis. Com os modelos propostos, buscou-se fazer previsão de valores finais de toxicidade (no caso, associando-os ao coeficiente K_{ow}) dos diferentes compostos;

- a demonstração da variação da toxicidade para os diferentes compostos e associação do alcance dessa variação no índice de qualidade da água, a fim de se avaliar a influência desta toxicidade no dano ambiental.

4. INSERÇÃO DO PROBLEMA NA LITERATURA

Com objetivo de conhecer o estágio de desenvolvimento de pesquisas envolvendo a influência de parâmetros físicos e químicos na toxicidade através de métodos quimiométricos e, posteriormente, a influência destes no valor do índice de qualidade da água, foi feito um levantamento de artigos científicos em bancos de dados bibliográficos. A metodologia utilizada foi uma busca de palavras-chave relacionadas ao assunto da pesquisa em sites de artigos científicos.

O esquema abaixo foi proposto com a finalidade de mostrar a quantidade de artigos científicos relacionados a cada palavra chave ou combinação de palavras-chave.

Figura 1. Esquema de busca feita no site <http://www.sciencedirect.com/>.

Dentre todas as combinações de palavras-chaves, alguns artigos foram selecionados com o intuito de mostrar as pesquisas já apresentadas até o atual momento.

A toxicidade do fenol é apresentada de variadas formas por muitos autores.

Asadollahi-Baboli [15] mostra por meio de estudos teóricos envolvendo *quantitative structure-toxicity relationship* (QSTR) a previsão da toxicidade em água de 51 fenóis e tiofenóis substituídos. Apresenta a contribuição de parâmetros físico-químicos, eletrônicos e topológicos para o efeito toxicológico. Um modelo de árvores de classificação e relação, CART-LS-SVR é formulado e validado quimiometricamente. O intuito é calcular as previsões das toxicidades dos fenóis. A averiguação dos valores é feita experimentalmente com o uso de bactérias *Photobacterium Phosphoreum*. Os resultados então obtidos são extrapolados devido à semelhança da toxicidade nas bactérias e no meio ambiente.

Fenóis alogenados são usados para o estudo de relação da toxicidade aguda com coeficiente de partição. He et. al [10] utilizam modelos QSAR (*quantitative structure activity relationship*) para prever a influência do coeficiente de partição octanol/água na toxicidade, testada posteriormente em bactérias *tetrahymena pyriformis*. Com o uso de cálculos validados por quimiometria, os autores mostram que com o aumento do coeficiente de partição, há um acompanhamento no valor da toxicidade na bactéria estudada.

Tetrahymena pyriformis é também utilizada como estudo por Zhao et. al. [16]. 12 descritores (peso molecular, coeficiente de partição octanol/água, coeficiente de distribuição em vários pHs, número de doadores e aceptores de ligações de hidrogênio, pKa, área superficial polar, fração de forma neutra, forma positivamente e negativamente carregada) são calculados para cada composto. São utilizados modelos QSAR para a separação de grupos através de suas semelhanças estruturais e posterior predição de suas influências nos valores da toxicidade. Os resultados obtidos mostram a influência da hidrofobicidade na toxicidade de compostos fenólicos não-ionizáveis. É

apresentada a pobre relação entre os coeficientes de partição de octanol/água para os compostos fenólicos ionizáveis.

Utilizando como parâmetros valores teóricos dos orbitais de menor energia (LUMO) e de maior energia (HOMO), LU et. al [17] apresentam um estudo toxicológico envolvendo fenóis e anilinas. Traçando um paralelo entre toxicidade e produção de hidrogênio, os autores utilizam o método QSAR e criam uma equação, envolvendo coeficiente de partição, LC50 e variação de energia entre LUMO e HOMO, estável e satisfatória para cálculos de predição de toxicidade.

A toxicologia em ambientes aquáticos é também tratada por Duchowicz et. al. [5]. Com uma base de dados de 250 tipos diferentes de fenóis, modelos de equações de cálculo de previsões de toxicidade são propostos e comparados com valores experimentais. As equações são validadas quimiometricamente.

5. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Para um melhor entendimento da metodologia usada, alguns conceitos devem ser discutidos anteriormente a fim de que sejam entrelaçados para ajudar na resolução do problema. Iniciaremos nossa discussão falando acerca do índice de qualidade da água e como este é utilizado a fim de se determinar o dano em um recurso hídrico.

5.1.Índice de qualidade da água (IQA)

O Índice de Qualidade da Água (IQA) foi criado em 1970, após uma convenção realizada nos Estados Unidos, pela *National Sanitation Foundation*. Posteriormente, em 1975, foi adaptada pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

(CETESB), e nos dias atuais vários estados utilizam o IQA como principal índice de avaliação de qualidade de suas águas [3].

O IQA tem como base uma pesquisa realizada por especialistas de qualidade das águas. Inicialmente foram propostos 35 parâmetros a serem avaliados e seus pesos relativos frente o valor da qualidade final. Destes, apenas nove foram selecionados. Para cada um, foram propostos curvas de variação da qualidade da água frente ao estado ou variação de cada parâmetro (**Figura 2**). O IQA tem como seu valor final o produto dos valores e seus pesos obtidos para cada curva de cada parâmetro, como segue:

$$IQA = \prod_{i=1}^n q_i^{w_i} \quad (1)$$

onde:

IQA: Índice de Qualidade das Águas, um número entre 0 e 100;

qi: Qualidade do i-ésimo parâmetro, um número entre 0 e 100 obtido através da “curva média de variação e qualidade”;

wi: Peso correspondente ao i-ésimo parâmetro, um valor entre 0 e 1, ponderado em relação á sua importância para a conformação global de qualidade, sendo:

$$\sum_{i=1}^n w_i = 1 \quad (2)$$

onde:

n: Número de variáveis que participam do cálculo do IQA.

Figura 2. Curvas médias de variação utilizadas nos cálculos de IQA[3].

No caso de algum dos valores das nove variáveis não constar na base de dados, o cálculo do IQA é inviabilizado.

Á partir do cálculo do IQA obtém-se o valor da qualidade das águas, um valor de 0-100, e com ele pode-se avaliar a qualidade da água bruta, utilizando a **Tabela 1** abaixo:

Tabela 1. Avaliação da água bruta através dos valores de IQA.

Categoria	Ponderação
Ótima	$79 < IQA \leq 100$
Boa	$51 < IQA \leq 79$
Regular	$36 < IQA \leq 51$
Ruim	$19 < IQA \leq 36$
Péssima	$IQA \leq 19$

5.2.Cálculo de dano ambiental à água

5.2.1. Método de aproximação semi-quantitativo – Lista de Verificação Ponderada

O método da Lista de Verificação Ponderada (*Checklist*) é um método interdisciplinar e quantitativo, que tem como base a construção de uma lista de itens que podem ser impactantes para a alternativa proposta, no caso, o dano em ambientes aquáticos. Esses itens são usados para uma posterior avaliação do meio.

Como exemplo desse modelo de cálculo, temos o Método de Battelle. Este método foi desenvolvido no Laboratório Battelle-Columbus nos EUA [18]. Sua utilidade inicial foi calcular os impactos relacionados a recursos hídricos, de forma direta ou adaptada. Posteriormente a metodologia apresentada foi utilizada também para diferentes tipos de projetos, como navegação, autoestradas, transporte de óleo dutos, entre outros [12].

O objetivo do cálculo é obter um índice expresso nas unidades de impacto ambiental (UIA). Este índice resulta em uma estimativa do dano causado por certa ação ao meio em estudo. Assim, temos:

$$UIA = \sum_{i=1}^n (QA)_{ij} (UIP) \quad (3)$$

Onde:

UIA: Unidade de Impacto Ambiental para variável j.

QA_{ij}: Qualidade da água para fator i e variável j.

UIP: Unidade de Importância do Parâmetro para o fator i.

Pelo UIA obtemos uma valorização e avaliação dos impactos de forma conjunta, associando parâmetros qualitativos a valores quantitativos. Como resultado, calcula-se um índice correspondente a avaliação total dos danos ambientais.

Inicialmente é definido cada parâmetro que terá relação com o dano aos recursos hídricos da situação (**Figura 3**). Os danos relacionados às águas são calculados pelo QA. Ambientes relacionados são caracterizados pelo UIP.

O meio estudado é dividido em quatro categorias, sendo estas: ecologia, contaminação ambiental, aspectos estéticos e aspectos de interesse humano. Cada categoria tem um número de componentes e a estes são atribuídos pesos de acordo com sua influência no impacto gerado no ambiente estudado. A somatória dos valores das componentes gera o fator UIP.

Método Battelle

IMPACTOS AMBIENTAIS

Figura 3. Parâmetros utilizados no método de Battelle [19].

O UIP do estudo é fixado previamente. Seus valores são definidos de tal forma que o somatório de todos os parâmetros envolvidos nas quatro categorias totalize 1000 unidades. Os pesos e adaptações dos parâmetros de cada categoria são comumente selecionados através de consultas a especialistas, pela utilização do Método Delphi [20].

O Delphi é um método que se faz uso da opinião de independentes *experts* em estudos relacionados ao tema em questão. Procura-se gerar um resultado em consenso a respeito do tema estudado, através da apresentação do mesmo projeto a todos. A aplicação desse método na lista de Battelle visa adaptar quais os parâmetros e seus pesos utilizados na construção da lista de verificação ponderada. Os valores máximos para cada parâmetro identificam o perfeito estado do ambiente estudado quando mensurada aquela característica.

Com os componentes e seus pesos máximos definidos, faz-se uma avaliação criteriosa destes aplicados no problema em questão. Tenta-se assim estimar os valores de cada componente atingiria após o dano causado ao ambiente.

Desta forma, conseguimos associar os danos causados tanto aos recursos hídricos quanto aos ambientes a ele relacionados, sendo:

$$UIA = UIP \times QA \quad (4)$$

Onde:

UIA: Unidade de impacto ambiental;

UIP: Unidade de importância;

QA: Índice de qualidade ambiental;

Em estudos relacionados a dano em ambientes aquáticos, o valor de do índice de qualidade ambiental (Q.A.) é equiparado ao valor do índice de qualidade das águas (IQA). Neste caso, são atribuídos os valores de qualidade zero (0) e de qualidade máxima (1) para cada parâmetro, onde o valor 1 é dado a todos os parâmetros, exceto os que violarem os valores estipulados pelo CONAMA [18].

Desta forma, a avaliação final é obtida por uma diferença entre os índices globais de impacto. Pode-se estimar o valor do dano através do conhecimento dos valores de UIA do ambiente de qualidade máxima e do conhecimento do UIA do ambiente danificado:

$$UIA(\text{ Ambiente ideal}) - UIA(\text{ após o dano}) = UIA(\text{ do dano}) \quad (5)$$

Com o valor de Unidade de Impacto Ambiental do dano, pode-se fazer associações com valorações econômicas e definir a importância paga em indenizações.

5.3. Coeficiente de partição Octanol/Água

O Kow (coeficiente de partição octanol/água)[21], é definido como a constante para a reação:

A reação 6 representa a distribuição de um determinado soluto nas fases 1 ou 2. A constante de equilíbrio K é obtida segundo a razão

$$K = \frac{[X]_2}{[X]_1} \quad (7)$$

Onde $[X]_2$ é a concentração do soluto na fase dois. No caso do Kow, o octanol. $[X]_1$ é a concentração do soluto na fase um, no caso aquosa. A criação de um modelo de previsão para esta constante de equilíbrio auxiliará em estudos ambientais como, por exemplo, o delineamento dos possíveis destinos dos compostos fenólicos quando libertos no meio ambiente. Por notação, este coeficiente é comumente encontrado na literatura como LogKow.

5.4.Fundamentos de cálculo

5.4.1. Modelagem Molecular e QSAR

A modelagem molecular pode ser definida como todo tipo de estudo que envolva a aplicação de modelos teóricos para a descrição de estruturas e propriedades de interesse químico [22]. Este tipo de modelo possui dois grandes segmentos:

1) Um fundamentado na mecânica quântica (métodos *ab initio* e semiempíricos) que por meio de cálculos altamente apurados aplica-se a sistemas pequenos em fase gasosa e fornece dados muito próximos dos experimentais [22].

2) O outro segue os princípios da mecânica clássica (como exemplo campos de força ou mecânica molecular), estes são menos rigorosos e são aplicados em sistemas mais complexos como os bioquímicos e farmacológicos [22].

Com o auxílio da química computacional, os modelos moleculares fornecem um vasto espectro de informações, que podem ser de origem físico-química (energia de HOMO e LUMO, potencial de ionização, calor de formação, energia total), e de origem estérica (área, volume). Estes dados e muitos outros são essenciais nos cálculos de modelos QSAR (*quantitative structure activity relationships*) – relações quantitativas estrutura atividade biológica – que buscam correlações entre as características estruturais e as propriedades e respostas biológicas de compostos.

Uma das chaves para a criação de um modelo QSAR está na avaliação de compostos com estrutura similar, a fim de se elucidar relativamente o comportamento destes frente a uma propriedade de interesse. Tais propriedades estão relacionadas às mudanças estruturais como, por exemplo, ao número e espécies dos substituintes presentes em anéis aromáticos ou estruturas comuns ao eventual grupo de interesse; para determinada classe de compostos, a variação em suas propriedades é associada às

variações estruturais das moléculas; essas variações são responsáveis pela diferenciada atividade biológica encontrada entre os compostos. Ao passo em que os substituintes são alterados, surgem diferentes características físico-químicas e conformacionais, chamados de descritores. Esses descritores fornecem as informações necessárias para que seja feita a correlação com a variável dependente (propriedade de interesse).

O objetivo, portanto, é formular modelos matemáticos a partir de descritores extraídos de seus respectivos compostos que se correlacionem com a propriedade ou atividade biológica estudada, resultando em um modelo para previsão. Assim, espera-se que a modelagem QSAR seja suficientemente robusta para poder ser capaz de realizar previsões a respeito da propriedade de interesse.

Atualmente, existem várias técnicas empregadas para estudos QSAR, que auxiliam na construção de modelos e geram gráficos, matrizes de dados e vetores de regressão, fornecendo uma melhor visualização das influências de dados extraídos dos grupos em valores finais das variáveis dependentes em estudo. Quando quisermos “estimar” uma propriedade biológica/toxicológica, levaríamos em conta a atividade e um modelo QSAR. Uma forma de estudos QSAR se dá por meio de ferramentas quimiométricas. Estas fazem uso de recursos matemáticos e estatísticos para criação dos modelos [23].

Neste trabalho, o modelo QSAR foi construído por meio da técnica quimiométrica de mínimos quadrados parciais (PLS, *Partial Least Squares*).

5.4.2. Mínimos quadrados parciais (PLS, Partial Least Squares)

Para a criação do estudo QSAR, inicialmente foi construída uma matriz X com todos os dados. Nesta matriz, o número de linhas é igual ao número de amostras

(moléculas) do sistema, e o número de colunas é referente ao número de variáveis com informações sobre as propriedades calculadas ou experimentalmente determinadas para sua respectiva amostra. A matriz, ainda conterá a propriedade de interesse, determinada como variável dependente y , que caracteriza um conjunto de dados com a atividade a ser estudada e correlacionada com os descritores.

O PLS[24] é um método de regressão que supõe que uma variável dependente y pode ser descrita como uma combinação linear de informações de uma matriz X , fazendo a análise de suas componentes principais.

$$y = \beta X \quad (8)$$

O vetor final de regressão da variável dependente y fornece os coeficientes de regressão que se associam com essa variável. Esse vetor mostra também quais descritores são importantes para a modelagem da resposta biológica y .

Para se definir quais os componentes e a presença ou ausência de determinadas variáveis, é utilizado o método de validação. O objetivo da validação é assegurar a robustez do modelo, para que este possa ser utilizado posteriormente para previsão de amostras desconhecidas e que não participaram da etapa de calibração [11,12]. Um exemplo é o método de validação cruzada (*cross-validation*), um dos mais simples para a validação de um modelo. Esse método consiste em remover uma amostra do sistema e fazer a predição de seu valor através do modelo proposto com as demais variáveis. A validação é feita quantas vezes forem o número de amostras, obtendo a previsão para cada uma delas. O que se avalia, aqui, é o resíduo, ou seja, a diferença entre o valor fornecido da propriedade de interesse para aquela amostra e o valor previsto.

O erro de previsão é dado pelo cálculo da diferença entre o valor previsto e o valor experimental da atividade ou propriedade de interesse, e em seguida somam-se os

quadrados dos erros de previsão. O desvio-padrão da validação cruzada (*Standard Error of Prediction*, SEP ou *Standard Error of Calibration*, SEC) dado por:

$$SEP / SEC = \sqrt{\frac{\sum_i (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n}} = \sqrt{\frac{PRESS}{n}} \quad (9)$$

Devem ser avaliados os valores do coeficiente de correlação da validação cruzada (Q^2), e o coeficiente de correlação de determinações múltiplas (R^2). É necessário a obtenção de um R^2 maior Q^2 , sendo o mínimo aceitável para o modelo de regressão QSAR é $Q^2 > 0,5$ e $R^2 > 0,6$ [12,26].

Também deve ser levada em consideração, durante a validação do método, a existência de amostras que estão fora do comportamento previsto (*outliers*). O diagnóstico destas amostras dentro de um conjunto é feito utilizando valores chamados de *leverage* e Resíduo de *Student*, que geralmente são visualizados no mesmo gráfico.

A *leverage* é uma medida da influência da amostra no modelo de regressão. Um valor de *leverage* pequeno indica que a amostra em questão influencia pouco na construção do modelo. Geometricamente, pode-se dizer que a *leverage* é distância de cada amostra ao centróide do conjunto de dados.

O Resíduo de *Student* consiste em converter os resíduos de cada amostra para o desvio padrão [27]:

$$r_i = \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)}{s\sqrt{1-h_i}} \quad (10)$$

Na equação (10), r_i é o Resíduo de *Student* para a i -ésima amostra, h_i é o valor de *leverage* para a mesma e s é o desvio padrão, dado por:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_i (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n - k - 1}} \quad (11)$$

onde, novamente, n é o número de amostras e k o número de componentes principais. Como os resíduos de *Student* são definidos em unidades de desvio padrão do valor médio, os valores além de $\pm 2,5$ são considerados altos.

6. PROCEDIMENTO COMPUTACIONAL

O estudo do problema demandado neste trabalho foi distribuído da seguinte forma:

- Estudo da influência de parâmetros físico-químicos no valor da atividade (coeficiente de partição octanol/água) de fenóis.
- Estudo da relação entre os parâmetros presentes no Índice de Qualidade das Águas (IQA) e o Kow dos respectivos fenóis.

Para os estudos teóricos, todos os compostos foram otimizados utilizando os métodos semiempíricos AM1, PM3, PM6 e PM7.

Os métodos AM1 (*Austin Model 1*) e PM3 (*Parametric Method Number 3*) são métodos do tipo MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*). A evolução nos métodos se dá por uma correção na função *Core-Core*, adicionando em seu lugar uma função *Gaussian* [28].

A metodologia PM6 (*parameterization method number 6*)[26] possui uma maior precisão quando comparada a demais semi-empíricos AM1 e PM3. Isso ocorre devido á uma re-parametrização do método NDDO (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*) [26,28].

O método PM7 consiste numa forma modificada do PM6, onde alguns erros na teoria NDDO que afetam os grandes sistemas foram removidos e todos os parâmetros atômicos e diatômicos foram re-otimizados em aproximadamente 10%, resultando na significativa redução dos erros em compostos orgânicos grandes e em compostos sólidos [31].

Tais métodos são empregados na parte dos cálculos que descrevem as interações eletrônicas para a obtenção dos orbitais moleculares, calor de formação e seus derivados com a respectiva geometria molecular [28].

6.1. Estudo da influência de parâmetros físico químicos no valor de K_{ow} dos fenóis

Um conjunto de 28 fenóis (**Tabela 2**) foi inicialmente estudado. As estruturas moleculares foram construídas no programa VegaZZ[32]. As substâncias foram otimizadas no programa MOPAC 2009 [33](CENAPAD-SP), para os hamiltonianos semiempíricos AM1, PM3, PM6 e PM7.

Tabela 2. Fenóis selecionados e seus respectivos valores de Log K_{ow} .

	Moléculas	Log K_{ow}
Mol_01	2,3,4,5-Tetraclorofenol	4,21
Mol_02	2,4,5,6-Tetraclorofenol	4,45
Mol_03	2,3,5,6-Tetraclorofenol	3,88
Mol_04	2,3-Diclorofenol	3,04
Mol_05	2,4,5-Triclorofenol	3,72
Mol_06	2,4,6-Tribromofenol	4,08
Mol_07	2,4,6-Triclorofenol	3,69
Mol_08	2,4-Diclorofenol	3,17

Mol_09	2,4-Dinitrofenol	1,54
	Moléculas	LogK _{ow}
Mol_10	2,5-Diclorofenol	3,14
Mol_11	2-Clorofenol	2,15
Mol_12	2-Hidroxifenol	0,8
Mol_13	2-Metilfenol	1,98
Mol_14	2-Nitro-4-Aminofenol	0,96
Mol_15	2-Nitrofenol	1,77
Mol_16	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	3,69
Mol_17	3,5-Dimetilfenol	2,35
Mol_18	3-Clorofenol	2,5
Mol_19	3-Metilfenol	1,98
Mol_20	4-Aminofenol	0,04
Mol_21	4-Cloro-3,5-Dimetilfenol	3,27
Mol_22	4-Cloro-3-Metilfenol	3,1
Mol_23	4-Clorofenol	2,39
Mol_24	4-Nitrofenol	1,91
Mol_25	4-tercbutilfenol	3,31
Mol_26	4-metil-2-tercbutilfenol	3,3
Mol_27	Fenol	1,5
Mol_28	Pentaclorofenol	5,18

Devido aos resultados obtidos para essas moléculas, que serão explicados adiante, decidimos incorporar mais moléculas para avaliar os modelos. A **Tabela 3** apresenta o

grupo de dados que foi estudado na segunda etapa do trabalho. Nesta etapa, apenas o método PM7 foi utilizado para o cálculo dos descritores (ver Resultados e Discussões).

Tabela 3. Fenóis e respectivos coeficientes de partição octanol/água.

	Nome	Log Kow
Mol_01	2 - clorofenol	2,15
Mol_02	2,3,4,5-Tetraclorofenol	4,21
Mol_03	2,3,5,6-tetraclorofenol	3,88
Mol_04	2,3,6-triclorofenol	3,77
Mol_05	2,3-diclorofenol	3,04
Mol_06	2,4,5,6-Tetraclorofenol	4,45
Mol_07	2,4,5-triclorofenol	3,72
Mol_08	2,4,6-tribromofenol	4,08
Mol_09	2,4,6-triclorofenol	3,69
Mol_10	2,4,6-trimetilfenol	2,73
Mol_11	2,4-diclorofenol	3,08
Mol_12	2,4-dimetilfenol	2,35
Mol_13	2,4-dinitrofenol	1,54
Mol_14	2,5-diclorofenol	3,2
Mol_15	2,6-diclorofenol	2,86
Mol_16	2-hidroxifenol	0,88
Mol_17	2-metilfenol	1,98
Mol_18	2-nitro-4-aminofenol	0,96
Mol_19	2-nitrofenol	1,77
Mol_20	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	3,69

	Nome	Log Kow
Mol_21	3,4-diclorofenol	3,37
Mol_22	3,5-diclorofenol	3,52
Mol_23	3,5-dimetilfenol	2,35
Mol_24	3-clorofenol	2,5
Mol_25	3-metilfenol	1,98
Mol_26	3-metoxifenol	1,57
Mol_27	4-aminofenol	0,04
Mol_28	4-bromofenol	2,64

Os valores já conhecidos dos coeficientes de partição octanol/água (Kow) foram pesquisados em bancos de dados [34].

6.1.1. Variáveis estudadas

Dos resultados foram coletadas as variáveis para os cálculos dos modelos (Calor de Formação, Energia Total, Energia Eletrônica, Energia de repulsão *CORE-CORE*, área molecular, volume molecular, Energia HOMO, Energia LUMO, Potencial de ionização e Massa Molecular).

Tabela 4. Variáveis selecionadas [35].

Variável	Sigla
Ponto de Fusão: Energia necessária para transformação da substância do estado sólido para o líquido	MP
Calor de Formação: entalpia padrão de formação do composto á partir de seus elementos em seu estado de referência (estado mais estável, numa certa temperatura, a 1 bar de pressão).	HF

Variável	Sigla
Energia Total: Soma da energia eletrônica e energia de repulsão núcleo-núcleo.	TE
Energia Eletrônica: Energia de interação entre os elétrons distribuídos nos orbitais.	EE
Repulsão Core-Core: Representa a repulsão entre dois núcleos e é definida como $E_N(A,B)=Z_A Z_B \langle AA BB \rangle$	CC
Área Molecular	CA
Volume Molecular	CV
Potencial de Ionização: é o negativo da energia de HOMO. É a energia requerida para a formação de um cátion, desde que o processo de remoção do elétron não altere as funções de onda dos demais elétrons.	IP
Energia do HOMO: Orbital molecular ocupado de mais alta energia.	HOMO
Energia do LUMO: Orbital molecular não ocupado de mais baixa energia.	LUMO
Massa Molecular	MM

6.1.2. Procedimento de Análise

Organizados em tabelas, os dados foram aplicados no programa Pirouette [36] com o objetivo de realizar as análises quimiométricas por meio de mínimos quadrados parciais, PLS. O objetivo foi encontrar o melhor modelo de correlação entre os descritores dos diversos fenóis e o coeficiente de partição octanol/água. Os modelos eram avaliados pela quantidade de informação acumulada para 3 componentes principais, Q^2 (referente a validação), R^2 (referente a calibração) e avaliando o resíduo calculado para cada valor

de LogKow. Por fim, os modelos propostos eram comparados entre si. Abaixo temos um esquema para a metodologia aplicada.

Figura 4. Organograma representativo das etapas do estudo.

7. Estudo da relação entre coeficiente de partição octanol/água e as variáveis utilizadas para o cálculo de IQA

Nesta etapa de estudo, procurou-se investigar a correlação das variáveis utilizadas para o cálculo do Índice de Qualidade das Águas e o coeficiente de partição octanol/água. O objetivo foi observar se a toxicidade, aqui representada pelo Kow, pode ter seus valores intrínsecos no valor final de IQA. Como metodologia, foram formulados gráficos de (Parâmetro de IQA) x (log Kow), para o grupo de fenóis utilizados no estudo.

8. RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.1. Estudo da influência dos parâmetros físico químicos no valor de K_{ow} dos fenóis.

Inicialmente, com um banco de dados de 28 fenóis (**Tabela 2**), foram elaborados modelos com todos os hamiltonianos semiempíricos (AM1, PM3, PM6 e PM7). Estes foram rodados no programa MOPAC [33] (CENAPAD, UNICAMP-SP). Como metodologia de análise, foi proposto o modelo QSAR com as variáveis descritoras que melhor se correlacionavam com um primeiro método. Posteriormente, as mesmas variáveis eram aplicadas nos demais métodos. Por fim, todos os modelos eram comparados entre si. Por exemplo: os descritores selecionados pelo método AM1 eram testados também para os outros três métodos. Assim, com as variáveis selecionadas, construíam-se três novos modelos, para os demais valores de dados otimizados com os três outros hamiltonianos restantes. Abaixo temos as características dos modelos construídos. O objetivo desta parte inicial foi encontrar, dentre os quatro métodos de cálculo escolhidos, qual seria aquele capaz de fornecer o melhor modelo de correlação entre os descritores e a atividade biológica. Todos os dados referentes a todos os descritores estão apresentados nas Tabelas dos Anexos de 1 a 5.

8.1.1. Melhores descritores para AM1.

Para o hamiltoniano AM1, o melhor modelo foi criado quando usados os descritores massa molecular, volume, área, repulsão *core-core* e potencial de ionização. Para este foi encontrada uma molécula *outlier*. Essas mesmas variáveis foram usadas para construir modelos com os dados das otimizações com PM3, PM6 e PM7. A tabela comparativa segue abaixo.

Tabela 5. Comparação entre os modelos com dados do melhor AM1.

Dados selecionados: MM, CC, CA, CV, IP E RETIRANDO MOLÉCULA 06					
Método	Informação Acumulada (%)	SEC	Q ²	R ²	Número de moléculas com erros acima de 10%
AM1	97,745384	0,38816	0,86212	0,90268	10
PM3	98,492935	0,40776	0,84054	0,8926	11
PM6	98,716995	0,38842	0,85831	0,90254	10
PM7	98,74662	0,38857	0,85335	0,90247	9

Utilizando os descritores que melhor se associaram com LogKow para os dados de AM1 e comparando-os com os demais métodos, observamos que os melhores valores são obtidos no modelo PM7. Este apresenta valores ligeiramente menores de Q² e R², e não é o modelo com o mínimo valor de SEC, mas possui maior quantidade de informação acumulada e um menor número de moléculas com alto valor de erro no cálculo de previsão.

8.1.2. Melhores descritores para PM3.

Para os dados de PM3, o melhor modelo foi obtido quando usados os descritores massa molecular, energia total, área, volume, HOMO, LUMO e retirando as moléculas *outliers* 12 e 19.

Tabela 6. Comparação entre os modelos com dados do melhor PM3.

Dados selecionados: MM, TE, CA, CV, HOMO, LUMO E RETIRANDO MOLÉCULAS 12 E 19					
Método	Informação Acumulada (%)	SEC	Q ²	R ²	Número de moléculas com erros acima de 10%
AM1	91,934341	0,44874	0,64264	0,81595	10
PM3	95,06649	0,25575	0,89945	0,94022	8
PM6	94,345337	0,44775	0,63036	0,81677	12
PM7	94,471947	0,48657	0,54012	0,78361	15

Com os dados de PM3, tivemos seu próprio modelo como o melhor dentre os 3 demais. Este apresentou uma quantidade de informação acumulada em 3 componentes de aproximadamente 95,06%. Foi o que obteve menor número de SEC, e os maiores valores de correlação interna e externa, respectivamente 0,899445 e 0,94022. O número de moléculas com resíduo acima de 10% foram 8.

8.1.3. Melhores descritores para PM6.

Utilizando os dados calculados com PM6, o melhor modelo foi obtido quando usados os descritores energia eletrônica, área, volume, massa molecular e retirando as moléculas *outliers* 09, 12, 15, 19, 23 e 25.

Tabela 7. Comparação entre os modelos com dados do melhor PM6.

Dados selecionados: EE, CA, CV, MM E RETIRANDO MOLÉCULAS 09, 12, 15, 19, 23 E 25					
Método	Informação Acumulada (%)	SEC	Q ²	R ²	Número de moléculas com erros acima de 10%
AM1	99,949638	0,96167	0,39252	0,8261	7
PM3	99,709534	0,61089	0,69647	0,92412	3
PM6	99,9254	0,49539	0,77404	0,94781	3
PM7	99,764053	0,48326	0,78352	0,94991	2

Nesse caso, obteve-se um bom modelo com os valores de dados calculados com PM7. A informação acumulada foi de aproximadamente 99,76%, o SEC obtivo foi o menor entres os modelos, e os coeficientes de calibração e validação foram respectivamente 0,949911 e 0,78352.

8.1.4. Melhores descritores para PM7.

Com os dados obtidos dos cálculos com PM7, o melhor modelo foi obtido quando usados os descritores massa molecular, energia eletrônica, energia total, repulsão *core-core*, área, volume e retirando as moléculas *outliers* 06, 09, 12, 14, 15, 19, 23, 25.

Tabela 8. **Comparação entre os modelos com dados do melhor PM7.**

Dados selecionados: MM, EE, TE, CC, CA, CV E RETIRANDO MOLÉCULAS 06, 09, 12, 14, 15, 19, 23 E 25					
Método	Informação Acumulada (%)	SEC	Q ²	R ²	Número de moléculas com erros acima de 10%
AM1	99,675797	0,23264	0,77488	0,9499	3
PM3	99,132111	0,5416	0,57313	0,81106	2
PM6	99,073921	0,56073	0,56153	0,79747	2
PM7	99,860214	0,19685	0,94129	0,96413	2

Novamente os valores para o modelo com PM7 geraram os modelos com melhores características, mostrando-se preditivo devido aos valores próximos de 1 de Q² e R² e ao baixo número de moléculas com erros maiores que 10%.

8.2. Escolha do melhor modelo e adição de novos dados.

Analisando os modelos propostos acima, observa-se o ótimo desempenho na elaboração de modelos quando utilizados cálculos com o método PM7. Dentre os 4 conjuntos de descritores selecionados, em 3 deles o método semiempírico PM7 apresentou os melhores valores. Dessa forma, chega-se a conclusão que este método tem dados com precisões que melhor se correlacionam com a atividade estudada.

Com a escolha do método definida, foi feita uma nova coleta de dados, com o objetivo de aumentar o espaço amostral do estudo. No anexo 6 e 7, têm-se a nova tabela com os dados adicionados de novas moléculas calculadas no programa MOPAC com o hamiltoniano PM7.

8.3.Criação do modelo com novos dados.

Usando como método o PM7, foram feitas as otimizações das estruturas de cada molécula. Destes foram coletados os dados (Anexos 6 e 7) utilizados para os cálculos dos modelos.

Em seguida, os dados foram aplicados no programa Pirouette. [36] Com a tabela organizada, definimos novamente LogKow como sendo a variável dependente (vetor atividade y). O objetivo foi fazer a escolha das variáveis que melhor se associam com LogKow.

Figura 5. Correlação entre os dados e Log Kow.

Pela **Figura 5**, foi feita a escolha dos descritores que participariam da construção do modelo com PLS. Destes foram selecionados EE, CC, CA, CV e MM, por apresentarem melhor correlação linear com o coeficiente de partição octanol/água.

O passo seguinte foi construir o modelo PLS. Com os descritores selecionados, foi montado o modelo primeiramente com todo o conjunto de moléculas. Destas, as moléculas 08, 13, 16, 18, 19, 20, 26, 27, 33 foram consideradas *outliers*. Moléculas *outliers* são as que possuíam um alto valor de resíduo de *student* e/ou alto valor de

leverage. Ressalta-se que quando essas moléculas foram retiradas houve uma melhora significativa em relação aos requisitos do modelo.

Figura 6. Exemplo de molécula *outlier* (Mol_26) com alto valor de resíduo de Student.

Figura 7. Exemplo de molécula *outlier* (Mol_13) com alto valor de leverage.

Na **Tabela 9** temos as características do modelo construído com os dados da otimização das moléculas com PM7.

Tabela 9. Dados do modelo PLS.

	Informação Acumulada (%)	Q^2	SEC	R^2
Factor1	92.843.636	0,887926	0.260632	0,904388
Factor2	95.051.109	0,881357	0.260759	0,908121
Factor3	99.999.992	0,901786	0.236987	0,927273
Factor4	99.999.992	0,892955	0.239859	0,928864

O modelo PLS construído possui o menor valor de SEC (desvio padrão da validação cruzada) em três componentes principais.

Figura 8. Gráfico representando o valor mínimo do desvio padrão da validação cruzada em 3 componentes principais.

Pela **Tabela 9**, observamos que a quantidade informação acumulada para 3 componentes principais é de aproximadamente 99,99%. O coeficiente de correlação interno (Q^2) referente validação, e o coeficiente de correlação externo (R^2), referente a

calibração, são respectivamente 0,901786 e 0,927273. Nota-se que os valores obtidos são próximos de 1, o que mostra que o modelo é capaz de ter uma boa força preditiva.

Figura 9. Relação entre o valor experimental e o valor calculado pelo modelo.

Com o gráfico da **Figura 9** obtemos a tabela que nos mostra os valores experimentais de LogKow e os valores previstos pelo modelo construído.

Tabela 10. Comparação entre os valores experimentais e os valores previstos pelo modelo PLS.

	Y medido	Pred Val	Res Val	Pred Cal	Res Cal	Erro (%)
Mol_01	2,15	2,409671	-0,25967	2,388347	-0,2384	-11%
Mol_02	4,21	4,305601	-0,0956	4,289616	-0,0796	-2%
Mol_03	3,88	4,367888	-0,48789	4,285875	-0,4059	-10%
Mol_04	3,77	3,693512	0,07649	3,699327	0,07067	2%
Mol_05	3,04	3,226387	-0,18639	3,210235	-0,1702	-6%
Mol_06	4,45	4,243789	0,20621	4,278775	0,17123	4%

	Y medido	Pred Val	Res Val	Pred Cal	Res Cal	Erro (%)
Mol_07	3,72	3,986064	-0,26606	3,926347	-0,2064	-6%
Mol_09	3,69	3,793043	-0,10304	3,783012	-0,093	-3%
Mol_10	2,73	2,736814	-0,00681	2,735985	-0,006	0%
Mol_11	3,08	3,183072	-0,10307	3,172908	-0,0929	-3%
Mol_12	2,35	2,399048	-0,04905	2,392115	-0,0421	-2%
Mol_14	3,2	2,801675	0,39833	2,837838	0,36216	11%
Mol_15	2,86	3,338912	-0,47891	3,294542	-0,4345	-15%
Mol_17	1,98	2,177331	-0,19733	2,142318	-0,1623	-8%
Mol_21	3,37	3,235974	0,13403	3,258361	0,11164	3%

Portanto, identificam-se cinco moléculas, dentre as 27, com erros ligeiramente acima de 10%: Mol_01 = 11%, Mol_14 = 11%, Mol_15 = 15%, Mol_28 = 12% e Mol_35 = 14%. Estes valores de poucas moléculas, combinado com os altos valores de R^2 e Q^2 mostram a força preditiva do modelo criado.

O vetor atividade y (LogKow), está associado com os descritores escolhidos como segue:

$$Y = -0,297606 EE + 0,320885CC - 0,858460CA + 0,970779CV - 0,289674MM \quad (12)$$

Pela equação 11 observamos a correlação de 5 descritores estruturais: Área, Volume, Massa Molecular, repulsão *Core-Core* e energia eletrônica. Para os três primeiros, é de se esperar que com o aumento de seus valores têm-se o acompanhamento dos valores de LogKow. Uma molécula com um grande volume molecular (acompanhado por grande área e massa molecular) pode encontrar um ambiente com grande hidrofobicidade[37].

Sendo assim, essa molécula terá uma maior afinidade com a fase orgânica octanol, aumentando seu valor de LogKow. Nota-se essa influencia nos valores do pentaclorofenol (5,01) e do 4-aminofenol (0,04).

A repulsão *Core-Core* ($E_N(A,B)$) está associada com o raio dos átomos da molécula em questão.

$$E_N(A,B) = 14.399 Z_A Z_B / R_{AB} \quad (13)$$

Observa-se portanto que com a adição de átomos maiores, ou com o aumento de substituintes na molécula de fenol, têm-se o aumento nos valores de LogKow. Podemos confirmar isso observando os valores de repulsão *core-core* da **Tabela 11**. Assim como na área, volume e massa molecular, a adição de substituintes maiores e simetricamente posicionados na molécula base de fenol criam compostos mais apolares, aumentando a afinidade pela fase orgânica dissolvida, aumentando o valor de LogKow.

Tabela 11. Relação entre substituintes e valor da repulsão *Core-Core*.

Nome	CC	Nome	CC	Nome	CC
Fenol	1552,9269	2,4-dimetilfenol	2836,5597	2-nitrofenol	4164,4815
2-metilfenol	1957,0965	4-cloro-3-metilfenol	2838,642	2,4,6-tribromofenol	4197,9295
3-metilfenol	1957,0965	3-metoxifenol	2894,4272	2,4,5-triclorofenol	4315,436
4-aminofenol	2143,4321	2,4,6-trimetilfenol	2996,3716	2,4,6-triclorofenol	4464,9682
2-hidroxifenol	2196,6722	3,5-diclorofenol	3171,024	2,3,6-triclorofenol	4713,2922
4-bromofenol	2250,0521	3,4-diclorofenol	3180,1303	2-nitro-4-aminofenol	4873,516
4-clorofenol	2308,8874	2,4-diclorofenol	3396,2371	2,3,4,5-Tetraclorofenol	6026,6529
2 – clorofenol	2392,237	2,3-diclorofenol	3443,4731	2,4,5,6-Tetraclorofenol	6026,979

Nome	CC	Nome	CC	Nome	CC
4-etilfenol	2394,6341	2,6-diclorofenol	3477,4139	2,3,5,6-tetraclorofenol	6027,3498
3-clorofenol	2568,7052	4-tercbutilfenol	3565,7501	2,4-dinitrofenol	7014,0168
3,5-dimetilfenol	2582,7642	4-cloro-3,5-dimetilfenol	3567,4572	Pentaclorofenol	7350,5069
2,5-diclorofenol	2673,4714	4-nitrofenol	4065,4505	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	11228,997

A adição de átomos de cloro na molécula acompanha o aumento nos valores de LogKow. Isso ocorre devido a maior disponibilidade de elétrons π dos orbitais p para interações intermoleculares não covalentes[14]. Observamos assim a influencia dos substituintes nos valores do coeficiente (**Tabela 11**).

A energia eletrônica está associada ao número de elétrons dos orbitais das camadas de valência do sistema. Dessa forma percebemos pela **tabela 12** que o fenol, aromático com seus elétrons π deslocalizados, é o composto que possui maior valor de EE dentre todos os demais fenóis substituídos.

Tabela 12. Relação entre substituintes e valor da energia eletrônica.

Nome	EE	Nome	EE	Nome	EE
Fenol	-2456,902	2,5-diclorofenol	-3991,279	2,4,6-tribromofenol	-5768,607
2-metilfenol	-2981,715	4-cloro-3-metilfenol	-4130,934	2-nitrofenol	-5838,439
3-metilfenol	-2981,715	3-metoxifenol	-4210,632	2,4,5-triclorofenol	-6017,123
4-aminofenol	-3229,394	2,4,6-trimetilfenol	-4262,23	2,4,6-triclorofenol	-6169,469
4-bromofenol	-3375,513	3,5-diclorofenol	-4610,915	2,3,6-triclorofenol	-6419,208
2-hidroxifenol	-3394,178	3,4-diclorofenol	-4618,655	2-nitro-4-aminofenol	-6736,883
4-clorofenol	-3478,768	2,4-diclorofenol	-4833,752	2,3,4,5-Tetraclorofenol	-8001,961
4-etilfenol	-3542,664	2,3-diclorofenol	-4881,669	2,4,5,6-Tetraclorofenol	-8002,287

Nome	EE	Nome	EE	Nome	EE
2 – clorofenol	-3562,141	2,6-diclorofenol	-4912,741	2,3,5,6-tetraclorofenol	-8002,657
3,5-dimetilfenol	-3725,297	4-tercbutilfenol	-4954,279	2,4-dinitrofenol	-9462,728
3-clorofenol	-3735,687	4-cloro-3,5-dimetilfenol	-4979,267	Pentaclorofenol	-9591,272
2,4-dimetilfenol	-3978,137	4-nitrofenol	-5742,24	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	-14167,93

A adição de substituintes contribui para o preenchimento de orbitais de maior energia, aumentando a energia eletrônica molecular. Esses elétrons da camada de valência são responsáveis também por disponibilizar grande energia e reatividade às suas respectivas moléculas, aumentando seus valores de toxicidade.

8.4. Estudo da relação entre os parâmetros presentes no IQA e o Kow.

Como já apresentado anteriormente, um dos objetivos desse trabalho é demonstrar a variação da toxicidade para os diferentes fenóis e associar o alcance dessa variação no índice de qualidade da água, a fim de se avaliar a influência desta toxicidade no dano ambiental.

A variação da toxicidade está comprovada pelos resultados já apresentados, que mostra que os valores encontrados são diferentes para cada tipo de fenol. Assim, não se pode afirmar que todos os tipos de fenol podem ser reduzidos a um único tipo de derramamento, como prevê a legislação.

Dessa maneira, sugere-se avaliar as variáveis escolhidas para o índice de qualidade da água em relação à toxicidade dos fenóis. Observando a **Figura 2**, temos

que a comparação mais apropriada seria da toxicidade com a variação do pH, uma vez que esses parâmetros são os mais bem definidos para os compostos em questão.

A correlação do pH com o logKow foi estudada fazendo uso da relação entre pH e pka. Pela equação de Henderson-Hasselbach[38], temos:

$$pH = pK_a + \log \left(\frac{[A^-]}{[AH]} \right) \quad (13)$$

onde:

[A⁻] : concentração da espécie na forma ácida

[AH] : Concentração da espécie na forma de seu sal

Com isso, dados teóricos de pka foram retirados de banco de dados científicos [39][40] para elaborar a **Tabela 13** abaixo.

Tabela 13. pka e logKow para cada fenol estudado.

Nome	log Kow	pKa
2,4-dinitrofenol	1,54	4,09
Pentaclorofenol	5,18	4,9
2,3,5,6-tetraclorofenol	3,88	5,02
4-aminofenol	0,04	5,48
2,4,5,6-Tetraclorofenol	4,45	5,62
2,3,4,5-Tetraclorofenol	4,21	5,64
2,4,6-tribromofenol	4,08	6,08
2,4,6-triclorofenol	3,69	6,21
2,6-diclorofenol	2,86	6,79

Nome	log Kow	pKa
2,4,5-triclorofenol	3,72	7,07
2-nitrofenol	1,77	7,17
2,5-diclorofenol	3,14	7,51
2,3-diclorofenol	3,04	7,76
2,4-diclorofenol	3,17	8,09
3,5-diclorofenol	3,52	8,27
2 – clorofenol	2,15	8,29
4-nitrofenol	1,91	8,39
3,4-diclorofenol	3,37	8,68
3-clorofenol	2,5	9,02
4-bromofenol	2,64	9,35
4-clorofenol	2,39	9,38
2-hidroxifenol	0,88	9,5
3-metoxifenol	1,57	9,6
4-cloro-3,5-dimetilfenol	3,27	9,76
Fenol	1,5	10
3-metilfenol	1,98	10,08
2-metilfenol	1,98	10,28
2,4-dimetilfenol	2,35	10,6

Por meio dos dados da **Tabela 13**, construiu-se o gráfico de correlação pka e logKow.

Figura 10. Gráfico de correlação entre pKa e LogKow.

Podemos observar pela **Figura 10**, que com o aumento do valor de pKa, não há o acompanhamento proporcional dos valores de logKow, gerando um coeficiente de correlação entre as variáveis com valor de $R^2 = 0,1546$. Desta forma, por meio da analogia entre o valor de pKa e pH, concluímos que para esse parâmetro presente no cálculo de IQA, não é possível considerar a influência ou alguma relação com valores da atividade Kow.

9. CONCLUSÃO

Para o estudo teórico de logKow, com a criação dos 16 modelos iniciais utilizando todos os métodos semiempíricos, pode-se avaliar que o método de cálculo semiempírico PM7 foi o que apresentou melhores valores na construção dos modelos QSAR em questão. No entanto, em todos os casos, o primeiro conjunto de moléculas não ofereceu dados satisfatórios para a modelagem QSAR, apresentando valores insuficientes para Q^2 e muitas moléculas com resíduos maiores que 10%. A adição de novas moléculas

permitiu a construção de um melhor modelo com maior confiabilidade de valores. Mesmo com a retirada de algumas delas, consideradas de comportamento anômalo, temos um total de 27 compostos para a formulação do modelo. Três componentes principais com informação acumulada de aproximadamente 99,99% mostra que a dimensão do sistema foi reduzida com êxito. Os coeficientes de correlação interno (Q^2) e externo (R^2) apresentaram valores acima de 0,9, o que sugere uma maior robustez no que diz respeito à força preditiva. Ainda neste caso, menos moléculas (apenas 5) obtiveram diferença entre o valor experimental e o calculado acima de 10%, dentre as 27 utilizadas; mesmo assim, esses valores são somente ligeiramente superiores. Deve-se ressaltar que há, na literatura, diferentes valores de logKow dependendo da metodologia utilizada. Uma nova busca por valores mais adequados pode fazer diferença na formulação dos modelos. Além disso, também é importante enfatizar que os cálculos teóricos são feitos no vácuo, enquanto que a toxicidade é avaliada em relação à partição dos compostos entre dois diferentes solventes. Assim, uma posterior avaliação da influência do solvente nos descritores selecionados pode ser oportuna.

Das variáveis selecionadas, temos uma composição entre variáveis estéricas e eletrônicas, o que mostra que ambas são importantes no que diz respeito à descrição de logKow. Por fim, conclui-se que a metodologia para a determinação das toxicidades utilizando métodos quânticos semiempíricos e quimiometria foi eficiente em descrever um modelo para a previsão dos valores individuais.

A influência da toxicidade no cálculo do valor de IQA foi estudada para o parâmetro pH. Por meio do uso da formula de Henderson-Hasselbach, foi possível estudar a relação de logKow e pKa e estender essa correlação para os valores de pH. Os resultados mostraram que a correlação os valores de logKow e pka para os fenóis escolhidos para este estudo foi pobre (tendo um coeficiente de correlação com o valor

de 0,1546), o que nos leva a concluir que a toxicidade não pode ser tomada como intrínseca para os valores de pH de cada fenol.

Por fim, considera-se que o estudo apresentado nessa dissertação foi profícuo em relação aos objetivos propostos, uma vez que foi demonstrado que a toxicidade varia em relação ao tipo de molécula estudada. Ainda, temos que foi encontrada uma pobre correlação entre esses valores e os associados ao pH, indicando que esse índice não é representativo da toxicidade. Assim, a determinação do dano no caso de fenóis deve usar uma metodologia própria, uma vez que o índice de qualidade de água por si só não apresenta elementos suficientes para indicar a dimensão e o alcance do dano em caso de derramamento, podendo causar insegurança jurídica quando da determinação dos valores associados em casos de indenização.

10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DODDS, F. **De Estocolmo 1972 a Rio 2012**. Disponível em: <<http://www.eco21.com.br/textos/textos.asp?ID=2205>>. Acesso em: 13 ago. 2014.
- [2] BRUNI, A. T.;; VELHO, J. A. e OLIVEIRA, M. Química aplicada à análise legal de questões ambientais. In: MILLENNIUM (Ed.). **Fundamentos de Química Forense**. 1^a. ed. [S.l: s.n.], 2012. p. 400.
- [3] CETESB. **Índice de Qualidade das Águas**. Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/ÁguasSuperficiais/42-Índice-de-Qualidade-dasÁguas-\(iqa\)](http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/ÁguasSuperficiais/42-Índice-de-Qualidade-dasÁguas-(iqa))>. Acesso em: 20 mar. 2014.
- [4] MILARÉ, E. Direito do ambiente: doutrina, prática, jurisprudência, glossário. **São Paulo: Revista dos Tribunais**, v. 2. ed. rev, 2001.
- [5] DUCHOWICZ, P. R. et al. Prediction of aqueous toxicity for heterogeneous phenol derivatives by QSAR. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 90, n. 2, p. 97–107, 2008.
- [6] SALDANHA, M. S. **Cálculo da estimativa mínima de valoração por danos ao meio ambiente, quer no espectro da indenização pecuniária e/ou compensatória**.
- [7] **METODOLOGIAS DE AVALIAÇÃO DE IMPACTO AMBIENTAL: APLICAÇÕES E SEUS LIMITES***. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/rap/article/viewFile/8812/7568>>. Acesso em: 24 mar. 2014.
- [8] **RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2014.
- [9] BRADBURY, S. P. Quantitative structure-activity relationships and ecological risk assessment: an overview of predictive aquatic toxicology research. **Toxicology Letters**, v. 79, n. 1-3, p. 229–237, doi:10.1016/0378-4274(95)03374-T, 1995.
- [10] HE, G.;; FENG, L. e CHEN, H. A QSAR Study of the Acute Toxicity of Halogenated Phenols. **Procedia Engineering**, v. 43, p. 204–209, 2012.
- [11] **MOPAC2009: the next generation quantum chemistry tool for property prediction**. Disponível em: <<http://openmopac.net/MOPAC2009brochure.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2013.
- [12] GOVERS, H.;; RUEPERT, C. e AIKING, H. Quantitative structure activity relationships for polycyclic aromatic - hidrocarbons - Correlation Between Molecular Connectivity, Physicochemical properties, bioconcentration and toxicity in daphnia-pulex. **Chemosphere**, v. 13, 1984.

- [13] RUEPERT, C.;; GRINWIS, A. e GOVERS, H. Prediction of partition-coefficients of unsubstituted polycyclic aromatic-hydrocarbons from c-18 chromatographic and structural-properties. **Chemosphere**, v. 14, 1985.
- [14] SILVA, L. R. Da e FERREIRA, M. M. C. Estudo do coeficiente de partição octanol-água de bifenilas policloradas (PCBs) utilizando parâmetros topológicos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 312–318, 2003.
- [15] ASADOLLAHI-BABOLI, M. Exploring QSTR analysis of the toxicity of phenols and thiophenols using machine learning methods. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 34, n. 3, p. 826–31, 2012.
- [16] ZHAO, Y. H. et al. Classification of toxicity of phenols to *Tetrahymena pyriformis* and subsequent derivation of QSARs from hydrophobic, ionization and electronic parameters. **Chemosphere**, v. 75, n. 7, p. 866–71, 2009.
- [17] LU, G.-H.;; WANG, C. e GUO, X.-L. Prediction of toxicity of phenols and anilines to algae by quantitative structure-activity relationship. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 21, n. 3, p. 193–6, 2008.
- [18] DEE, N., BAKER, J., DROBNY, N., DUKE, K., WHITMAN, T. & FAHRINGER, P. Environmental Evaluation System for Water Resource Planning. Final Report. Columbus, Ohio: Battelle-Columbus Laboratories. 1972.
- [19] KLING, A. S. M. Aplicação do Método Battelle na avaliação do impacto ambiental na Bacia hidrográfica do rio Piabanha. 2005.
- [20] MORICOCCH, L.;; PINO, F. A. e VEGRO, C. L. R. Método Delphi como alternativa para previsão de safras: O exemplo do café. **Informações Econômicas**, v. 25, p. 47–52, 1995.
- [21] CANTO, E. e PERUZZO, T. **Química na abordagem do cotidiano**. 2. ed. São Paulo: Moderna, 2002. v. 55
- [22] ALLINGER, N. . Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 8127-8134, 1977.
- [23] ERIKSSON, L. et al. Methods for reliability and uncertainty assessment and for applicability evaluations of classification- and regression-based QSARs. **Environmental health perspectives**, v. 111, n. 10, p. 1361–75, 2003.
- [24] BEEBE, K. R.;; PELL, R. J. e SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A Practical Guide**. 1. ed. New York: Wiley-Interscience, 1998.
- [25] MARTINS, J. P. A. e FERREIRA, M. M. C. QSAR modeling: um novo pacote computacional open source para gerar e validar modelos QSAR. **Química Nova**, v. 36, p. 554–560, 2013.

- [26] NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR**. Universidade Federal da Paraíba - [S.l.]. 2008.
- [27] LIMA., I. V. As bases toxicológicas da ecotoxicologia. **Toxicocinética**, p. 27–89, 2003.
- [28] STEWART, J. J. P. **Manual MOPAC**. . [S.l: s.n.]. Disponível em: <<http://openmopac.net/manual/index.html>>, [S.d.].
- [29] **Stewart Computational Chemistry - MOPAC Home Page**. Disponível em: <<http://openmopac.net/index.html>>. Acesso em: 7 abr. 2014.
- [30] STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of molecular modeling**, v. 13, n. 12, p. 1173–213, 2007.
- [31] **MOPAC2009: the next generation quantum chemistry tool for property prediction**. . [S.l: s.n.], [S.d.].
- [32] PETER ANDREAS HARTEG. **VEGAZZ**. . [S.l: s.n.], 1999.
- [33] JAMES J. P. STEWART. **MOPAC 2012**. . [S.l: s.n.], [S.d.].
- [34] **GESTIS Stoffdatenbank**. Disponível em: <<http://gestis-en.itrust.de/>>. Acesso em: 19 jul. 2013.
- [35] ATKINS, P. E PAULA, J. D. **Físico-Química Volume 1**. 7. ed. [S.l: s.n.], 2002.
- [36] INFOMETRIX INC.: WOODINVILLE, W. **Pirouette, Multivariate Data Analysis for IBM PC Systems**. . [S.l: s.n.], 2001.
- [37] REDDY, K. N. e LOCKE, M. A. Relationships between molecular properties and log P and soil sorption (Koc) of substituted phenylureas: QSAR models. **Chemosphere**, v. 28, n. 11, p. 1929–1941, 1994.
- [38] **ChemTeam: Introduction to the Henderson-Hasselbalch Equation**. Disponível em: <<http://www.chemteam.info/AcidBase/HH-Equation.html>>. Acesso em: 2 jun. 2014.
- [39] RAPPOPORT, Z. **CRC Handbook of Tables for Organic Compound Identification**. Third ed. [S.l.]: CRC Press, Inc, 1967.
- [40] BJERRUM, J. Stability Constants. **Chemical Society**, 1958.

11.ANEXOS

Anexo 1. Tabela de dados de descritores utilizados para os cálculos.

	LogKow	Melting point (°C)
	Kow	MP
Mol_01	4,21	116,5
Mol_02	4,45	70
Mol_03	3,88	113
Mol_04	3,04	57
Mol_05	3,72	67
Mol_06	4,08	90
Mol_07	3,69	69
Mol_08	3,17	42
Mol_09	1,54	111
Mol_10	3,14	57
Mol_11	2,15	7
Mol_12	0,8	111
Mol_13	1,98	31
Mol_14	0,96	126
Mol_15	1,77	44
Mol_16	3,69	42
Mol_17	2,35	61
Mol_18	2,5	34
Mol_19	1,98	10,9
Mol_20	0,04	190

	LogKow	Melting point (°C)
	Kow	MP
Mol_21	3,27	115
Mol_22	3,1	68
Mol_23	2,39	43
Mol_24	1,91	114
Mol_25	3,31	97
Mol_26	3,3	50
Mol_27	1,5	41

Anexo 2. Tabela de dados AM1.

	HF_AM1 (KJ/mol)	Total Energy_AM1 (EV)
	HF_AM1	TE_AM1
Mol_01	-70,36696	-2596,24731
Mol_02	-73,00023	-2596,27461
Mol_03	-70,77239	-2596,25152
Mol_04	-28,80941	-1876,21706
Mol_05	-56,59113	-2236,30477
Mol_06	102,25245	-2174,71309
Mol_07	-57,8978	-2236,31831
Mol_08	-36,45882	-1876,29634
Mol_09	99,90413	-2817,31668
Mol_10	-33,04072	-1876,26091
Mol_11	-6,81095	-1516,18929

	HF_AM1 (KJ/mol)	Total Energy_AM1 (EV)
	HF_AM1	TE_AM1
Mol_12	-184,74415	-1476,91591
Mol_13	-15,29397	-1312,0153
Mol_14	-3,88426	-2093,76895
Mol_15	273,86991	-1869,92655
Mol_16	287,17128	-3077,87764
Mol_17	-45,81882	-1467,86953
Mol_18	-7,90982	-1516,20067
Mol_19	507,59504	-974,2579
Mol_20	45,64094	-1986,86248
Mol_21	174,66795	-1798,07254
Mol_22	-41,85916	-1672,0904
Mol_23	-12,33098	-1516,2465
Mol_24	-16,8281	-1312,0312
Mol_25	-135,48624	-1631,94325
Mol_26	421,40032	-1875,01758
Mol_27	718,63212	-1411,37267

Anexo 3. Tabela de dados PM3.

	HF_PM3 (KJ/mol)	Total Energy_PM3 (EV)
	HF_PM3	TE_PM3
Mol_01	-86,5647	-2285,8056
Mol_02	-91,90354	-2285,8609
Mol_03	-89,27594	-2285,8337
Mol_04	-38,838	-1683,0721
Mol_05	-67,26666	-1984,4862
Mol_06	134,30885	-2094,1391
Mol_07	-72,45312	-1984,5399
Mol_08	-45,44009	-1683,1406
Mol_09	-17,15774	-2542,6709
Mol_10	-41,62721	-1683,101
Mol_11	-15,47613	-1381,7106
Mol_12	-189,6435	-1374,3213
Mol_13	-26,61519	-1230,0124
Mol_15	224,07454	-1705,8318
Mol_16	180,02034	-2799,9274
Mol_17	-66,74356	-1379,7341
Mol_18	-13,06154	-1381,6856
Mol_19	494,21112	-917,35684
Mol_20	-10,4303	-1811,57
Mol_21	174,66795	-1798,0725
Mol_22	-54,59743	-1531,4219

	HF_PM3 (KJ/mol)	Total Energy_PM3 (EV)
	HF_PM3	TE_PM3
Mol_23	-17,54327	-1381,732
Mol_24	-10,4303	-1811,57
Mol_25	682,44859	-1332,6579
Mol_26	421,40032	-1875,0176
Mol_27	162,16067	-975,4424

Anexo 4. Tabela de dados PM6.

	HF_PM6 (KJ/mol)	Total Energy_PM6 (EV)
	HF_PM6	TE_PM6
Mol_01	-82,12709	-2056,40592
Mol_02	-92,79781	-2056,51652
Mol_03	-90,17177	-2056,4893
Mol_04	-34,5899	-1574,59286
Mol_05	-72,01107	-1815,64089
Mol_06	79,06181	-1735,93702
Mol_07	-82,37382	-1815,74829
Mol_08	-49,62892	-1574,74873
Mol_09	43,43394	-2583,95083
Mol_10	-46,52909	-1574,7166
Mol_11	-9,62341	-1333,67392
Mol_12	-173,55442	-1384,4227
Mol_13	-16,02719	-1242,70481

	HF_PM6 (KJ/mol)	Total Energy_PM6 (EV)
	HF_PM6	TE_PM6
Mol_15	29,92739	-1729,25078
Mol_16	191,7603	-2850,68344
Mol_17	-58,83551	-1392,7732
Mol_18	-10,06609	-1333,67851
Mol_19	442,95822	-934,7315
Mol_20	21,78431	-1838,43169
Mol_21	217,48475	-1603,55689
Mol_22	-58,72743	-1483,80756
Mol_23	-14,37926	-1333,72321
Mol_24	21,78431	-1838,43169
Mol_25	593,6632	-1355,03105
Mol_26	209,00703	-1784,84607
Mol_27	127,13884	-982,49053
Mol_28	-102,37266	-2297,27594

Anexo 5. Tabela de dados PM7.

	HF_PM7 (KJ/mol)	Total Energy_PM7 (EV)
	HF_PM7	TE_PM7
Mol_01	-81,43905	-2112,16358
Mol_02	-86,53946	-2112,21518
Mol_03	-84,09303	-2112,19023

	HF_PM7 (KJ/mol)	Total Energy_PM7 (EV)
	HF_PM7	TE_PM7
Mol_04	-29,38123	-1605,33566
Mol_05	-61,54626	-1858,81432
Mol_06	98,15068	-1725,0297
Mol_07	-66,31389	-1858,86129
Mol_08	-36,60239	-1605,41008
Mol_09	45,75144	-2618,74198
Mol_10	-33,78675	-1605,38151
Mol_11	-1,10972	-1351,8955
Mol_12	-170,94784	-1393,99824
Mol_13	-11,74936	-1248,59268
Mol_15	-0,76206	-1749,00736
Mol_16	188,0848	-2882,6979
Mol_17	-49,41189	-1398,71847
Mol_18	-1,19138	-1351,89599
Mol_19	452,28837	-936,95711
Mol_20	25,68486	-1858,71226
Mol_21	220,85743	-1622,40774
Mol_22	-49,83004	-1502,13489
Mol_23	-4,61867	-1351,93247
Mol_24	25,68486	-1858,71226
Mol_25	628,46728	-1357,67539
Mol_26	235,25712	-1791,65379

	HF_PM7 (KJ/mol)	Total Energy_PM7 (EV)
	HF_PM7	TE_PM7
Mol_27	133,98323	-987,57506
Mol_28	-105,61829	-2365,55449

Anexo 6. Tabela de dados novos de PM7 para o conjunto representado pela tabela 2.

	Nome	HF
Mol_01	2 – clorofenol	539,16884
Mol_02	2,3,4,5-Tetraclorofenol	-36,9189
Mol_03	2,3,5,6-tetraclorofenol	-36,9049
Mol_04	2,3,6-triclorofenol	244,76126
Mol_05	2,3-diclorofenol	364,48739
Mol_06	2,4,5,6-Tetraclorofenol	-36,90425
Mol_07	2,4,5-triclorofenol	652,46114
Mol_08	2,4,6-tribromofenol	543,76089
Mol_09	2,4,6-triclorofenol	379,9316
Mol_10	2,4,6-trimetilfenol	1196,43087
Mol_11	2,4-diclorofenol	429,86996
Mol_12	2,4-dimetilfenol	1314,40451
Mol_13	2,4-dinitrofenol	720,12282
Mol_14	2,5-diclorofenol	103,50872
Mol_15	2,6-diclorofenol	641,11663
Mol_16	2-hidroxifenol	482,21419
Mol_17	2-metilfenol	721,8869

	Nome	HF
Mol_18	2-nitro-4-aminofenol	558,76874
Mol_19	2-nitrofenol	832,27463
Mol_20	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	921,58013
Mol_21	3,4-diclorofenol	333,13571
Mol_22	3,5-diclorofenol	200,55659
Mol_23	3,5-dimetilfenol	1221,09821
Mol_24	3-clorofenol	821,54631
Mol_25	3-metilfenol	721,8869
Mol_26	3-metoxifenol	907,1562
Mol_27	4-aminofenol	927,95249

Anexo 7. Tabela de dados novos de PM7 para o conjunto apresentado na Tabela 3.

	Nome	CV
Mol_01	2 – clorofenol	96,02
Mol_02	2,3,4,5-Tetraclorofenol	188,77
Mol_03	2,3,5,6-tetraclorofenol	188,74
Mol_04	2,3,6-triclorofenol	166,03
Mol_05	2,3-diclorofenol	151,7
Mol_06	2,4,5,6-Tetraclorofenol	188,43
Mol_07	2,4,5-triclorofenol	177,44
Mol_08	2,4,6-tribromofenol	158,92
Mol_09	2,4,6-triclorofenol	143,1
Mol_10	2,4,6-trimetilfenol	90,48

	Nome	CV
Mol_11	2,4-diclorofenol	148,99
Mol_12	2,4-dimetilfenol	133,09
Mol_13	2,4-dinitrofenol	170,98
Mol_14	2,5-diclorofenol	104,11
Mol_15	2,6-diclorofenol	155,42
Mol_16	2-idroxiifenol	123,88
Mol_17	2-metilfenol	57,69
Mol_18	2-nitro-4-aminofenol	150,05
Mol_19	2-nitrofenol	139,45
Mol_20	2-secbutil-4,6-dinitrofenol	230,4
Mol_21	3,4-diclorofenol	112,22
Mol_22	3,5-diclorofenol	114,55
Mol_23	3,5-dimetilfenol	80,72
Mol_24	3-clorofenol	119,72
Mol_25	3-metilfenol	57,69
Mol_26	3-metoxifenol	133,36
Mol_27	4-aminofenol	79,56