



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA MESTRADO
EM ENGENHARIA QUÍMICA

MARINALDO CARVALHO LOBATO

ESPECTROSCOPIAS RAMAN, IR, DOS, UV-VIS E DICROISMO CIRCULAR DAS
TOXINAS (ANATOXINA-A, ANATOXINA-AS, CILINDROSPERMOPSINA,
HOMOANATOXINA-A E SAXITOXINA) DAS ALGAS

BELÉM

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA MESTRADO
EM ENGENHARIA QUÍMICA**

MARINALDO CARVALHO LOBATO

**ESPECTROSCOPIAS RAMAN, IR, DOS, UV-VIS E DICROISMO CIRCULAR DAS
TOXINAS (ANATOXINA-A, ANATOXINA-AS, CILINDROSPERMOPSINA,
HOMOANATOXINA-A E SAXITOXINA) DAS ALGAS**

Apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – PPGEQ, do Instituto de Tecnologia – ITEC, da Universidade Federal do Pará – UFPA, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Coorientador: Prof. Dr. José Francisco da Silva Costa

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos

Linha de Pesquisa: Engenharia de Processos Orgânicos: Modelagem

BELÉM

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C331c Carvalho Lobato, Marinaldo Carvalho Lobato.
ESPECTROSCOPIAS RAMAN, IR, DOS, UV-VISE
DICROISMO CIRCULAR DAS TOXINAS (ANATOXICINA-A,
ANATOXICINA-A(S), CILINDROSPERMOPSINA,
HOMOANATOXICINA-A E SAXITOXINA) DAS ALGAS /
Marinaldo Carvalho Lobato Carvalho Lobato. — 2024.
81 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
Maia de Jesus Chaves Neto
Coorientador(a): Prof. Dr. José Francisco da Silva Costa
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química, Belém, 2024.

1. Espectroscopia Densidade de estado. 2. Dicroísmo
Circular e UV-Vis. 3. algas, Anatoxicina-a, Anatoxicina-a(s),
Cilindropermopsina, Homoanatoxicina-a e Saxitoxina,. 4.
modos vibracionais . 5. análises . I. Título.

CDD 660.28

MARINALDO CARVALHO LOBATO

**ESPECTROSCOPIAS RAMAN, IR, DOS, UV-VIS E DICROISMO CIRCULAR DAS
TOXINAS (ANATOXINA-A, ANATOXINA-AS, CILINDROSPERMOPSINA,
HOMOANATOXINA-A E SAXITOXINA) DAS ALGAS**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – PPGEQ, do Instituto de Tecnologia – ITEC, da Universidade Federal do Pará – UFPA, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química na área de concentração de desenvolvimento de processos. Linha de Pesquisa: Engenharia de Processos Orgânicos: Modelagem.

Data: 02-02-2024

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Antonio Mais de Jesus Chaves Neto
Orientador – ICEN – UFPA


Prof. Dr. Abel Ferreira Gomes Neto
Membro Externo - IFPA - Castanhal


Prof. Dr. Marcelo Gonçalves Martins
Membro Externo - UFPA


Prof. Dr. Raúl Nunes de Carvalho Junior
Membro Interno – UFPA


Dr. Ossalir de Almeida
Membro Externo - UFPA

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força e coragem para enfrentar e superar os desafios que a vida tem me proporcionado.

A minha mãe, Maria de Nazaré Carvalho Lobato (*in memorian*), e meu pai, Marinho dos Santos Lobato (*in memorian*), razões da minha existência e por terem contribuído para que me tornasse um homem de bom caráter.

A minha esposa, Maria de Fátima, que sempre esteve ao meu lado, com muito companheirismo e parceria dando apoio e, com paciência, me incentivou tornando possível a realização dessa caminhada na busca de novos conhecimentos.

Aos meus filhos Mairo, Maurício, Mayson e filhas Mayara e Maira, que me apoiaram e acreditaram em mim.

Aos meus netos José Felipe, Pedro Henrique, Gael Wilian e minhas netas Maria Isabela, Maria Antônia e Monique que, com seus sorrisos inocentes, me faziam ter forças para continuar nessa caminhada.

Ao meu orientador, professor Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto e o coorientador Prof. Dr José Francisco da Silva Costa por terem aceitados contribuir relevantemente para a viabilização desta dissertação, cujos empenhos foram indispensáveis à minha motivação na escolha e ingresso desse Mestrado e, à medida que as dificuldades iam surgindo, se empenharam para que pudesse continuar na caminhada ao longo de todo esse percurso.

A professora Dra. Samira Maria Leão de Carvalho e ao secretário Sr. Daniel Góes Tavares da PPGEQ pelo apoio nestes anos.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química por todos os ensinamentos, compromisso e profissionalismo.

Ao meu amigo Tiago da Silva Arouche pelo apoio irrestrito na parte computacional durante a trajetórias desta dissertação.

De um modo geral, a todos que colaboraram de alguma forma para que este trabalho fosse possível.

**ESPECTROSCOPIAS RAMAN, IR, DOS, UV-VIS E DICROÍSMO CIRCULAR DAS
TOXINAS (ANATOXINA-A, ANATOXINA-AS, CILINDROSPERMOPSINA,
HOMOANATOXINA-A E SAXITOXINA) DAS ALGAS**

MARINALDO CARVALHO LOBATO

Orientador: Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Coorientador: Prof. Dr. José Francisco da Silva Costa

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos

Linha de Pesquisa: Engenharia de Processos Orgânicos: Modelagem

RESUMO

A presente dissertação tem como objetivo compreender a espectroscopia RAMAN, IR, DOS, UV-Vis e Dicroísmo Circular, de moléculas de toxinas de algas Anatoxina-a, Anatoxina-a(s), Cilindropermopsina, Homoanatoxina-a e saxitoxina. Utilizou-se o software Gaussian 09W para os cálculos teóricos de minimização de energia correspondente ao método da mecânica molecular MM+ com o nível funcional B3lyp/6-311++G (d,p), empregada tanto na otimização da geometria quanto nos cálculos de espectrometria UV-Vis, Densidade de Estado e Dicroísmo Circular das moléculas no solventes água. Os resultados da pesquisa mostram relevantes espectros de UV-Vis, Densidade de Estado, Dicroísmo Circular, Raman e Infravermelho na elaboração de Tabelas que identificam os modos de vibrações moleculares de toxinas supracitadas, que levaram a identificar os tipos de vibrações em cada região contido nos intervalos de comprimento de ondas específico. Verificou-se que cada toxina de algas apresenta um gap específico o que possibilita identificar aquela que apresenta maior reatividade em relação a outra (menor gap) ou maior estabilidade (maior gap). Para o MEP (mapa de potencial eletrostático) possibilita observar a região que apresenta maior concentração de cargas negativas o que pode ser útil para identificar regiões de reativação entre a toxina e uma proteína. Conclui-se a pesquisa considerando a comparação experimental entre a toxina cilindropermopsina com análises gráficas dos espectros de UV-Vis o que levou a um percentual de 0,5% como margem de erro, mostrando-se que a base B3lyp/6-311++G(d, p) escolhida foi muito significante para comparação entre os dados teórico em relação a experimental.

Palavras-Chave: Espectroscopia Densidade de Estado, Dicroísmo Circular e UV-Vis, algas, Anatoxina-a, Anatoxina-a(s), Cilindropermopsina, Homoanatoxina-a e Saxitoxina, modos vibracionais e análises.

**RAMAN, IR, DOS, UV-VIS AND CIRCULAR DICHROISM SPECTROSCOPIES
TOXINS (ANATOXIN-A, ANATOXIN-AS, CYLINDROSPERMOP SIN,
HOMOANATOXIN-A AND SAXYTOXIN) FROM ALGAE**

MARINALDO CARVALHO LOBATO

Advisor: Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Co-supervisor: Prof. Dr José Francisco da Silva Costa

Area of concentration: Process development

Line of Research: Organic Process Engineering: Modeling

ABSTRACT

This thesis aims to understand Raman, IR, DOS, UV-Vis and Circular Dichroism spectroscopy of algal toxin molecules Anatoxin-a, Anatoxin-a(s), Cylindrospermopsin, Homoanatoxin-a and saxitoxin. The Gaussian 09W software was used for the theoretical calculations of energy minimization corresponding to the molecular mechanics method MM+ as well as the functional level B3lyp/6-311++G (d,p), used both in the optimization of the geometry and in the calculations of UV-Vis spectrometry, State Density and Circular Dichroism of non-solvent water molecules. The research results show relevant UV-Vis spectra, State Density, Circular Dichroism, Raman and Infrared in the elaboration of Tables that identify the modes of molecular vibrations of the aforementioned toxins, which lead to identifying the types of vibrations in each region contained in us specific wave compression intervals. Verify that each algal toxin presents a specific gap or that makes it possible to identify the one that presents the greatest reativity in relation to others (smallest gap) or greatest stability (largest gap). For the MEP (electrostatic potential map) it is possible to observe the region that presents the highest concentration of negative charges or that can be useful to identify regions of reaction between a toxin and a protein. The research was concluded considering an experimental comparison between the cylindrospermopsin toxin with graphical analyzes of two UV-Vis spectra that with a percentage of 0.5% of error, showing that based on B3lyp/6-311++G(d, p) selected was very significant for comparison between theoretical data in relation to experimental data.

Keywords: Raman, Infrared, State density, Circular dichroism and Visible ultraviolet spectroscopy, algal molecules, Anatoxicin-a, Anatoxicin-a(s), Cilyndrospermopsin, Homoanatoxicin-a end Saxitoxin vibrational modes and analysis.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
1 INTRODUÇÃO	13
1.1 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	18
1.2 OBJETIVOS.....	19
1.2.1 Geral	19
1.2.2 Objetivos Específicos	19
CAPÍTULO 2	20
ASPECTO TEÓRICO DE HIDROGRAFIA, PROLIFERAÇÃO DE ALGAS PELO PROCESSO DE FOTOSÍNTESE EM ÁGUAS DOCES E SALGADAS.	20
2.1 HIDROGRAFIA NA SUPERFÍCIE TERRESTRE.....	20
2.2 ESPÉCIES DE ALGAS DE ÁGUA DOCE NO BRASIL.....	21
2.3 A EUROTROFIZAÇÃO, ALGAS E CIANOBACTÉRIAS.....	22
2.4 PROLIFERAÇÃO DE CIANOBACTÉRIA PELA FOTOSÍNTESE.....	24
2.5 PROLIFERAÇÃO DE ALGAS EM ÁGUAS DOCES E SALGADAS	25
2.6 ALGAS AUTOSSUFICIENTES, CLASSIFICAÇÃO E PRODUÇÃO	26
2.7 TOXINAS DE ALGAS NOCIVAS AO SER HUMANO	28
2.8 CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA PELAS CIANOBACTÉRIAS	29
2.9 CLASSIFICAÇÃO DAS TOXINAS	30
CAPÍTULO 3	34
MECÂNICA MOLECULAR E TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE DEPENDENTE DO TEMPO E ESPECTROMETRIA	34
3.1 A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL	34
3.2 MECÂNICA MOLECULAR	34
3.2.1 O método da Teoria do Funcional da Densidade dependente do tempo	34
3.2.2 Aproximação de Born-Oppenheimer	35
3.3 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE.....	37
3.3.1 Formalismo da Partícula Independente e as Equações de Kohn-Sham	38
3.3.2 Funcional da Densidade Dependente do Tempo	40
3.3.3 Funcionais Híbridos B3LYP	41
CAPÍTULO 4	42
ANÁLISES DOS ESPECTROS DC, UV-Vis, DOS, RAMAN E IR	42
ESPECTROMETRIA	42
4.2 DICROISMO CIRCULAR	43
4.3 ULTRAVIOLETA VISÍVEL.....	46
4.4 DOS.....	47
4.5 RAMAN	48
4.6 INFRAVERMELHO	49

CAPÍTULO 5	51
ESPECROS UV-Vis, DOS, DC, RAMAN E IR DAS TOXINAS DE ALGAS	51
5.1 METODOLOGIA	51
5.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
5.2.1 Modos vibracionais das toxinas de algas do Raman	52
5.2.2 Modos vibracionais das toxinas de algas na região no IR	53
5.2.3 Atividades IR e Raman de moléculas de toxinas de algas	55
5.2.4 Espectros UV-Vis	57
5.2.5 Espectros DC	60
5.3 DOS	63
5.4 DOS DAS TOXINAS E TRANSIÇÃO ELETRÔNICA	65
5.4.1 Transição do HOMO para o LUMO da ANA-A	66
5.4.2 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da ANAT-AS	66
5.4.3 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da CYLIN	67
5.4.4 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da HOATX-A	67
5.4.5 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da SAX	67
ANÁLISE DE MEP	68
CAPÍTULO 6	72
CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 :	Fluxograma da pesquisa	14
Figura 2	Representação da estrutura química e molecular das neurotoxinas A) ANA-A; B) ANAT-AS; C) CYLIN; D) HOATX-A; E) SAX-----	17
Figura 3:	Representação de DC uma rotação do plano de polarização da luz em moléculas que possuem carbonos quiral.....	45
Figura 4:	Regiões de deformação e estiramento.....	52
Figura 5:	Espectros IR.....	54
Figura 6:	Espectros de UV-Vis.....	58
Figura 7:	Espectros de DC.....	61
Figura 8:	Espectros de DOS.....	65
Figura 9:	Transição do Homo para o LUMO ANA-A com energia de $gap \cong 5eV$	66
Figura 10:	Transição do HOMO para o LUMO ANAT-AS com energia de $gap \cong 5eV$	66
Figura 11:	Transição do HOMO para o LUMO CYLIN com energia de $gap \cong 5eV$	67
Figura 12:	Transição do HOMO para o LUMO HOATX-A com energia de $gap \cong 5eV$	67
Figura 13:	Transição do HOMO para o LUMO SAX com energia de $gap \cong 5eV$	67
Figura 14:	MEP das toxinas de algas com representações das maiores regiões de presença de elétrons.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Classificação dos tipos de algas conhecidas cientificamente.....	27
Tabela 2:	Mostra as toxinas e os respectivos organismos reprodutores.....	33
Tabela 3:	Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia do IR.....	55
Tabela 4:	Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman.....	55
Tabela 5:	Estados excitados obtidos do espectro do UV-Vis.....	56
Tabela 6:	Maior e menor contribuição do HOMO e LUMO.....	56
Tabela 7:	Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de Toxina SAX...	57
Tabela 8:	Estados excitados obtidos do espectro do UV-Vis.....	59
Tabela 9:	Contribuições do HOMO E LUMO.....	64

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1:	Número de espécies de algas em água doce no Brasil.....	22
------------	---	----

NOMENCLATURA

- IR: infravermelho
- DOS: Densidade de estados
- UV-Vis: Ultravioleta visível
- DC: Dicroísmo circular
- ANA-A: Anatoxina-a
- ANAT-AS: Anatoxina-a (s)
- CYLIN: Cilindrospermopsina
- HOATX-A: Homoanatoxina-a
- SAX: Saxitoxina
- HOMO: Orbital mais alto ocupado
- LUMO: Orbital mais baixo desocupado
- OMS: Organização Mundial de Saúde
- TD-DFT: Time-Dependence Density Functional
- Theory LDA: Aproximação da Densidade Local
- B3lyp*: Combinação linear exata do funcional de troca de Hartree-Fock RG: Teorema de Runge-Gross
- B3LYP/6-311++G (d, p): Funcional híbrido para otimização da geometria e cálculos de espectrometria *em que 311++G (d,p) é o* Conjunto de bases
- DM: Dinâmica molecular
- MEP: Mapa de potencial eletrostático
- MM: Mecânica molecular
- ΔG : Variação de energia livre de Gibbs
- ΔH : Variação de entalpia
- ΔS : Variação de entropia
- T: Temperatura na unidade Kelvin
- \hat{H} : Operador hamiltoniano
- $E_0(\rho)$: Energia do estado fundamental
- $T(\rho)$: Energia cinética do sistema
- $U(\rho)$: Termo de interação entre os elétrons
- $V_{ext}(\rho)$: Energia promovida pelos potenciais nucleares
- Z: Carga nuclear
- (E_{ex}^{HF}) : Funcional de troca de Hartree-Fock ;
- $V_{ef.}$: Potencial efetivo.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

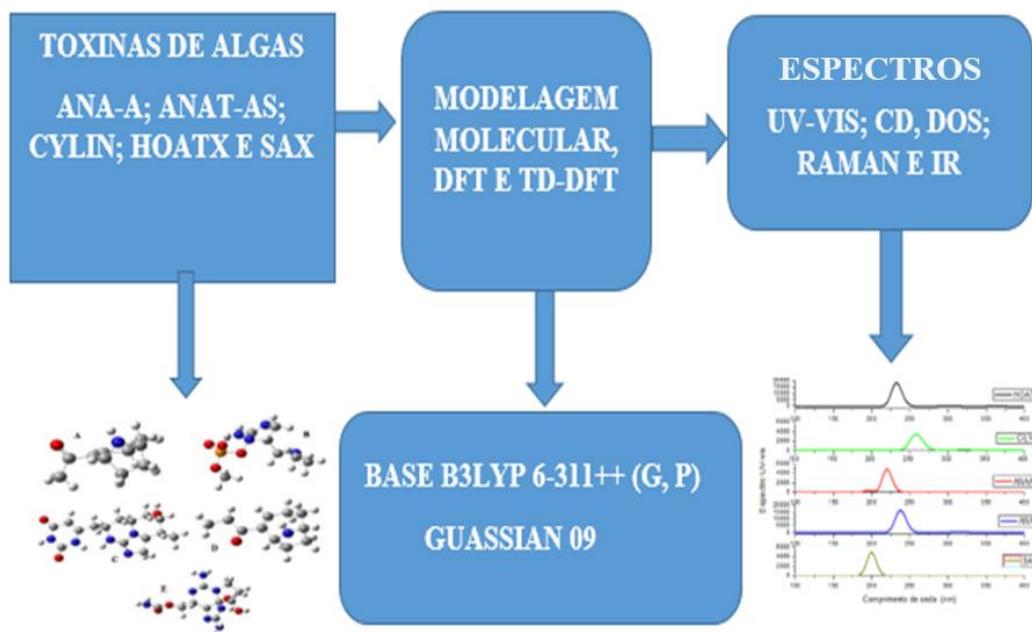
A água é de fundamental importância para todos os seres vivos no mundo, mas, a porcentagem do tipo potável existente no planeta é muito pequena, quando comparada ao volume total. Em consequência do crescimento populacional e da produção agrícola e industrial nas últimas décadas em todo o mundo. Nesse contexto os corpos hídricos, têm se tornado cada vez mais poluídos e conseqüentemente mais eutrofizados. Assim, as águas se tornam propícias à proliferação excessiva das algas, as quais produzem e liberam toxinas para o meio líquido (SHIKLOMANOV'S, GLEICK, 1993).

Assim sendo, para que seja possível estudar e analisar os espectros Raman (SHIPP, SINJAB, NOTINGHER, 2017), infravermelho (IR) (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014), circular dicróismo (DC) (SLAD, FERREIRA, MARAIS, 2005), ultravioleta e visível (UV-Vis) (STEPHEN, DEVLIN, CHABALOWSKI, 1994) e DOS (ADEKOYA et al., 1972), otimizam-se essas toxinas de algas para que sejam obtidas as estruturas moleculares mais estáveis, isto é, que apresentam minimização energética de modo a obter os espectros supracitados.

Esta dissertação busca caracterizar com técnicas de espectrometria, as moléculas de toxinas de algas: Anatoxina-a (ANA-A) (DEVLIN et al., 1977). Anatoxina-as (ANA-AS)(MAHMOOD; CARMICHAEL, 1998), Cilindrospermopsina. (CYLIN) (OHTANI et al. 2010).

Homoanatoxina (HOATX) (SKULBERG, 1992); (LILIEHEIL, 1997); (NAMIKOSHI, 2003); (FUREY; CROWLEY, 2003) e Saxitoxina (SAX) (OYANEDERTERRAZAS, 2017); (SELWOOD, et al., 2017) considerando uma teoria relacionada a modelagem molecular com a utilização de B3lyp que representa funcionais híbridos oferecendo uma maneira fácil de obter resultados de uma quantidade significativa de propriedades moleculares, a saber: comprimento de ligações, espectros de vibração dentre outras propriedades química e física. A Figura 1 ilustra o fluxograma deste trabalho e os passos que serão seguidos para chegar à análise espectral e aos resultados que essas simulações podem oferecer do ponto de vista teórico.

Figura 1: Fluxograma da pesquisa.



Fonte: Própria do autor.

O funcional B3lyp (Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr) representa uma combinação linear exata do funcional de troca de Hartree-Fock (E_{ex}^{HF}) e a base 6-311++G (d, p) (FRISCH, et al, 2009) corresponde uma maneira de obter maior probabilidade de verificação teórica em comparação com dados experimentais.

O uso de base utilizada em simulações por modelagem molecular pode viabilizar a determinação de espectros de propriedades oriundas de espectroscopia por DC, DOS, UV-Vis, Raman e IR. Porém é aconselhável a escolha de uma base forte para que não tenha muita discrepância em relação aos dados experimentais e também, leva-se em consideração o tempo computacional que para moleculares de grandes tamanhos, o tempo de simulação é extensivo devido as inúmeras integrais a serem calculadas, como prevista pela mecânica quântica. Assim sendo, para que seja possível estudar e analisar os espectros Raman, IR, DC, UV-vis e DOS, as toxinas de algas se apresentam inserida numa categoria onde o tempo computacional é pequeno o que se torna possível otimizar as moléculas para minimização energética e calcular as propriedades espectrais.

No entanto, deve-se escolher o solvente em que cada molécula deverá ser envolvida e, como as algas são de habitat aquático e o corpo humano apresentando cerca de 80% de água, considera-se solvente água para simular as cinco principais toxinas que podem proliferar e causar danos ao ser in vitro. Portanto, a escolha do solvente e de uma base forte, pode ser útil

para investigar e analisar as propriedades dessas toxinas presentes nas algas onde ocorre a interação da luz e esse microrganismo a partir do processo fotossintético no meio aquático (RAVEN, EVERT, EICHHOM 2001).

Nesse estudo, compreende-se a importância de verificar as estruturas moleculares, números de átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio das toxinas supramencionadas assim como sua disposição espacial para minimizar a energia e simular no software (FRISCH et al., 2009). Pois a espectroscopia tem a finalidade de analisar e estudar as rotações levogiro e dextrogiro para exibição das regiões de comprimento de ondas onde acontecem as absorções por DC dessas moléculas toxinas.

Este estudo, porém, se torna relevante para saber se essas moléculas, quando em contato com o ser vivo, podem causar efeitos benéficos ou colaterais e quais dentre as toxinas de algas (ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX) podem atacar o organismo e causar maior dano ao sistema imunológico. Portanto, o estudo de DC é importante porque essas estruturas moleculares apresentam carbono quirais que, com incidência de energia luminosa, podem rotacionar as estruturas moleculares e exibir o efeito de DC (SLADE; FERREIRA; MARAIS, 2005), DOS (DIWAKER et al., 2015), UV-Vis (STEPHENS et al., 1994), Raman (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014) e IR (SHEN 2018). Porém é aconselhável a escolha de uma base forte para que não tenha muita discrepância em relação aos dados experimentais e também, leva-se em consideração o tempo computacional que, para moléculas de grandes, o tempo de simulação é extensivo devido as inúmeras integrais a serem calculadas, como prevista pela mecânica quântica. Assim sendo, as toxinas de algas se apresentam inserida numa categoria onde o tempo computacional é pequeno o que se torna possível otimizar as moléculas para minimização energética e calcular as propriedades espectrais.

No entanto, deve-se escolher o solvente em que cada molécula deverá ser envolvida e, como as algas são de habitat aquático e o corpo humano apresentando cerca de 80% de água, considera-se solvente água para simular as cinco principais toxinas que podem proliferar e causar danos ao ser in vitro. Portanto, a escolha do solvente e de uma base adequada, pode ser útil para investigar e analisar as propriedades dessas toxinas presentes nas algas onde ocorre a interação da luz e esse microrganismo a partir do processo fotossintético no meio aquático (RAVEN, EVERT, EICHHOM, 2001).

Outro fato de interesse no estudo das simulações de modelagem molecular é a absorção pelo espectro UV-Vis, pois assim como as plantas, as algas sobrevivem e se multiplicam devido a incidência da luz (SOLÉ et al., 2005) e sua transformação em energia que possibilita a

sobrevivência das diferentes espécies de algas tanto em águas doces ou salgadas. A absorção no UV-Vis é crucial para verificar em que região do comprimento de onda acontecem as maiores absorções e constitui numa oportunidade de verificar as regiões de maior probabilidade para entrada da luz e conceber o processo fotossintético que leva à proliferação das algas.

Para o estudo de densidades eletrônicas, especificamente o estudo do HOMO e LUMO em que acontece as transições eletrônicas, possibilitado que a ocorrência acontece por causa das camadas de valência em que os elétrons estão fracamente ligados ao núcleo como prever a teoria atômica e a aproximação de Born-Oppenheimer (SOUZA; LONGO, 2018). Em relação a teoria do DOS, constitui numa propriedade de grande importância física de um sistema, principalmente na análise do MEP para identificação de regiões de maior densidade de cargas negativas, moderadas e regiões de maior número de cargas eletricamente positivas, como os prótons.

A iniciativa de estudar as toxinas de algas, como as supracitadas nesse texto dissertativo, abre um horizonte promissor para analisar docagem molecular (DOC) entre uma enzima, proteína e as toxinas de algas que poderá oferecer uma oportunidade futura para continuidade no estudo de sensores promissores e aplicados às nanotecnologias ou em outras áreas de aplicações científicas (AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIA, 2010).

Portanto, estudar o número dos estados acessíveis em regiões de gaps de orbitais HOMO e LUMO como será estudado nessa pesquisa, sendo interessante para estudar os níveis de energia que estão disponíveis para ser ocupado. Vale ainda salientar nesse contexto que se uma toxina de alga apresenta um valor de DOS elevados em um nível de energia específico, significa que há muitos estados disponíveis para a ocupação que possibilita uma avaliação da quantidade de energia de gap. Assim sendo, o DOS constitui um importante caminho para analisar a distribuição da probabilidade da ocupação de um estado particular de energia.

Outra questão de interesse que faz parte de um dos objetivos específicos desse trabalho é o estudo da espectroscopia Raman, cujo estudo de espectroscopia para análise de toxinas de algas requer uma interpretação sucinta e mais detalhadas das vibrações moleculares que podem acontecer por rotação, tesoura, balanço e torção que acontecem a baixas frequências e para as altas frequências onde acontecem as vibrações por estiramento simétrico e assimétrico tanto no Raman como no IR (COLTHUP; DALY; WIBERLEY, 1990).

No entanto, vale ainda considerar neste estudo que a espectroscopia Raman que acontece por incidência de luz em moléculas de algas, pode apresentar variações na energia do fóton. Nesse caso, é preciso analisar as regiões em que não acontece absorção de energia (região

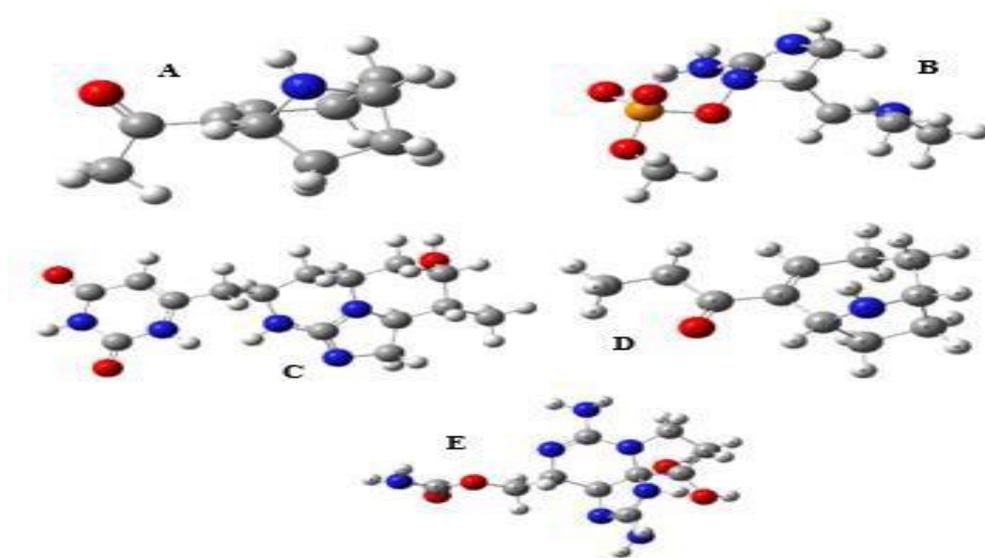
Stokes) e região em que o fóton altera o valor da frequência e, portanto, a molécula absorve energia (região anti-Stokes).

Assim a exibição do espectro Raman se torna útil para verificar as regiões da molécula de toxina que vibra de diferentes maneiras e, para melhor descrever o estudo, é interessante a construção de tabelas que pode trazer melhor resultados dos valores de altas e baixas frequências, mapeando a região molecular em que os átomos vibram de diferentes maneiras, mostrando na verdade, a incidência de fótons que excitam as moléculas, promovendo o estado de vibrações por estiramento simétrico, assimétrico, rotação, balanço, torção e tesoura que podem ser analisados por intermédio do estudo de espectroscopia (PAIVA, 2010).

Por outro lado a espectroscopia IR, como propriedade complementar do Raman, pode ser utilizada também para investigar os diferentes tipos de vibrações moleculares e, nesse caso, o IR pode ser melhor compreendido em duas regiões de modo simples e prático, pois a identificação dos principais grupos funcionais e recurso de grande utilidade no ensino de disciplinas tanto teóricas quanto experimentais nesse trabalho, buscou, assim como no Raman, construir uma tabela para exibirem as vibrações dos grupos funcionais das regiões de cada molécula de toxina de algas (KOMÁREK, 2010).

A Figura 2 ilustra cinco moléculas de toxinas de algas que serão a base para o estudo e análise dos espectros supramencionados. Para essas moléculas, consideram-se as denominações em cores: para os átomos de carbono (cinza), oxigênio (vermelha), fósforo (laranjada), hidrogênio (branca) e nitrogênio (azul).

Figura 2: Representação da estrutura química e molecular das toxinas A) ANA-A, B) ANAT- AS, C) CYLIN, D) HOATX-A e E) SAX.



Fonte: Própria do autor.

Tendo em vista essas estruturas moleculares verifica-se, entre outros objetivos, as origens dessas moléculas oriundas de algas onde as toxinas podem surgir como resultados de desvios metabólicos e produto de interações indiretas com bactérias, como citado por (KODAMA, DOUCETTE, GREEN, 2006). Nesse caso, percebe-se que tem origem de metabólitos ou parte da composição fisiológica e, a partir desse resultado teórico pela literatura, busca-se realizar cálculo de modelagem molecular, dinâmica molecular e dosagem para fazer uma análise química e física completa para que seja possível obter resultados promissores com futuras aplicações em nanotecnologia ou áreas computacionais, especificamente, no estudo teórico de espectros obtidos com as simulações com Gaussian 09W.

1.1 ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

Para melhor descrição do estudo teórico, essa dissertação tem como roteiro o desenvolvimento de 6 (seis) capítulos.

No capítulo 1, abordam-se Aspectos teóricos de hidrografia e proliferação de algas pelo processo de Fotossíntese em águas doces e salgadas. As SAX, ANA-A, ANAT-AS e a HOATX- A receberão um tratamento mais específico. Estudos mostram que as SAXs são produzidas por organismos dos gêneros *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Cylindrospermopsis* e algumas espécies de dinoflagelados cujo mecanismo de ação se dá pelo bloqueio dos canais de sódio causado por uma dose de toxina letal (DL50) referente a 50% dos animais expostos como ratos, os quais apresentaram os sintomas: paralisia progressiva dos músculos, diminuição dos movimentos, respiração abdominal exagerada, cianose, convulsão, parada respiratória e morte.

No capítulo 2, aborda-se a mecânica molecular e a teoria do funcional da densidade dependente do tempo e espectrometria.

No capítulo 3, desenvolvem-se os estudos da espectroscopia por DC, UV-Vis e DOS. Procura-se abordar o estudo da espectroscopia de DC destas cinco toxinas de algas para verificar os espectros obtidos da simulação de mecânica molecular com a utilização B3lyp com base 6-311++G (d, p) onde as toxinas são imersas em solventes água para ser possível comparar o espectro dessas toxinas com uso de programas computacionais.

Assim sendo, investiga-se o estudo da espectroscopia que representa a interação da luz por meio de fótons incidentes com cada uma das toxinas, a saber: ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX- A e SAX. Portanto, aborda-se um estudo teórico com a espectroscopia de DC, UV-

Vis, DOS, Raman e IR a partir de figuras para compreender os intervalos de comprimentos de onda onde acontecem os estados excitados, os picos de absorções, bem como as vibrações moleculares na região do deslocamento Raman e IR.

O capítulo 4, apresenta como abordagem, análises dos espectros Ramam, IR, DOS, UV-Vis das toxinas de algas, trazendo como subtópicos a metodologia utilizada, resultados e discussões, modos vibracionais das toxinas de algas do Raman e na região do Espectro UV-Vis, Análise espectroscópica experimental UV-Vis, DC e DOS das toxinas, Transição Eletrônica e análise de MEP.

O capítulo 5, apresenta a conclusão e as referências.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

Fazer a caracterização molecular dos espectros teóricos de espectroscopia Raman, IR, DOS, UV-Vis e DC, das moléculas de toxinas de algas: ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX, a fim de identificação, forense (IR e Raman), potencial farmacológico (UV-Vis, DOS, DC) destas moléculas, considerando análise do MEP de cada toxina para identificação dos sítios de cargas elétricas.

1.2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Mostrar a classificação das cianotoxinas de algas e a interação com o organismo humano.
- ✓ Verificar o estudo de mecânica molecular e teoria do funcional da densidade dependente do tempo para análise de cianobactérias que representam microrganismos unicelulares, procariontes e fotossintetizantes.
- ✓ Compreender o estudo de toxinas (ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX) de algas com uso de simulação de mecânica molecular para interpretação dos espectros Ramam, IR, DOS, UV-Vis e DC para verificar os modos vibracionais e a região de absorção para um determinado comprimento de onda com os resultados obtidos com os programas computacionais.

CAPÍTULO 2

ASPECTO TEÓRICO DE HIDROGRAFIA, PROLIFERAÇÃO DE ALGAS PELO PROCESSO DE FOTOSSÍNTESE EM ÁGUAS DOCES E SALGADAS.

2.1 HIDROGRAFIA NA SUPERFÍCIE TERRESTRE

O recurso hídrico é abundante na Terra e imprescindível à conservação existencial da vida dos mais diversos organismos, inclusive a do ser humano (BRASIL – ANA, 2002). Segundo o Código Civil Brasileiro, através da Lei n. 10.406, de 10 de janeiro de 2002, artigo 99, proclama que os rios e mares, são bens públicos de uso comum do povo. E como a água é considerada como bem de uso comum, então é válido que seja respeitada e preservada por todos (MANAHAN, 2021) e sem usá-la indiscriminadamente, pois a água é fonte de vida de todo o ecossistema e essencial para o ser humano, desempenhando um papel fundamental em vários setores da economia como, por exemplo, na agricultura que precisa de água para irrigação e geração de energia hidrelétrica contribuindo de forma decisiva em diversas atividades humanas e animais (RODRIGUES, CRUVINEL, 2019); (RIO CARILO, FREI, 2009).

A hidrografia abrange cerca de 70% de água existente, ou seja, cerca de $\frac{3}{4}$ do planeta é constituído de água na superfície terrestre sendo representada pelos oceanos, mares, lagos e rios. E está distribuída em duas partes: a primeira correspondente a 97,5% de água salgada e a segunda em 2,5% de água doce (Figura 2). No entanto, os 2,5% que é própria para o consumo humano, pode ser compreendida em duas outras partes: uma com percentual de 0,3 em rios e lagos e outra parte restante com 2,2% (2,5%-0,3%) que estão presentes em forma de neve, calotas polares e glaciais (SANTILLI, 2001).

Apesar do percentual de água doce existente ser muito pequena em relação a água salgada, ou seja, cerca de 40 vezes menor, é preciso que o homem valorize o meio ambiente, buscando sua preservação, pois os 2,5% corresponde a única fonte saudável para o consumo e além disso, deve-se evitar que não sofra nenhuma alteração nos parâmetros físico-químico e microbiológico para que esteja livre de contaminação (RIBEIRO, 2004) o que é fundamental para a sobrevivência humana (CETESB, 2014). Nessa subdivisão da hidrografia do planeta, existe uma quantidade elevada de seres vivos distribuídos nessa parte líquida. Alguns seres produzem toxinas que podem ser prejudiciais ao homem, principalmente em águas doces já que podem ser utilizados para o consumo humano e deve estar livre de contaminação e, nesse sentido, entende-se que apesar da divisão hídrica doces, salina, salobra e salgada, existem seres vivos inerentes a cada habitat aquático.

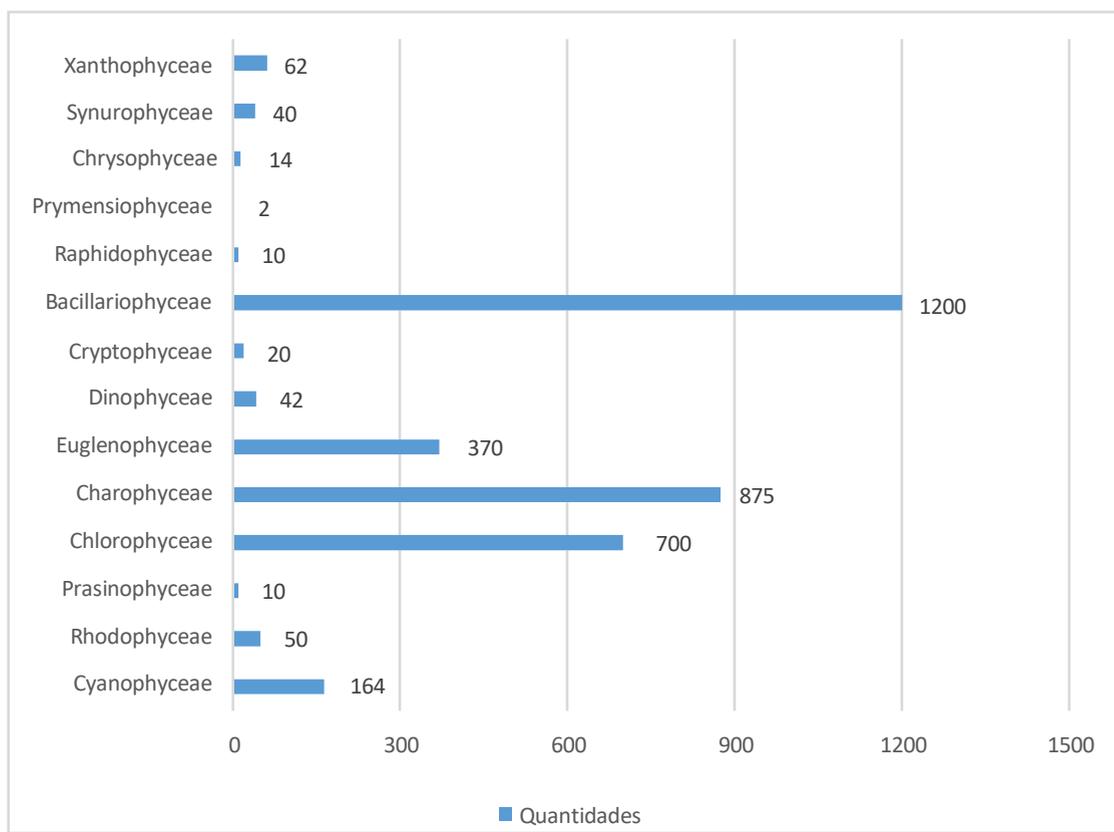
As algas, como seres vivos que são, surgem pelo fenômeno de eutrofização (Eutrofização vem do grego *eutrophos*, que significa bem nutrido) em águas doces que acontece devido elas necessitarem de nutrientes para crescerem e proliferarem que são encontrados em concentrações significativas de nitrogênio e fósforo (ANTONIOU, DIONYSIOU, 2005); (SMITH, JOYE, HOWARTH, 2006), em lagos, represas, rios, açudes ou mesmo piscinas, possibilitando o fenômeno eutrofizativo em regiões propícias para à proliferação, pois em condições ambientais normais, há um equilíbrio de cianobactérias com outros organismos aquáticos e o processo acontece em consequência do aumento de nutrientes supracitados que servem de alimento causando a proliferação de algas e cianobactérias, caracterizada pela formação de uma massa densa na superfície da água devido o fenômeno da eutrofização (SMITH, SCHINDLER, 2009).

A camada densa formada nos mananciais, impede a entrada de luz para o interior da água o que traz como consequência a incidência de microrganismos que dependendo do nível de contaminação hídrica, passam a desencadear uma série de problemas no meio aquático. Para melhor compreender como acontece o surgimento desses microrganismos tanto em águas (1992) doce e salgada, torna-se fundamental entender a eutrofização, o surgimento de algas e cianobactérias no meio aquático (AZEVEDO et al. 2002).

2.2 ESPÉCIES DE ALGAS DE ÁGUA DOCE NO BRASIL

As estimativas a sobre a quantidade de espécies de algas existentes no mundo giram em torno de 40.000 ocorrências (WILSON, 1992) e as mais ocorrentes, em torno de 26.900 (HAMMOND, GROOMBRIDGE, 1992) no entanto no Brasil, calcula-se em 5.000 espécie já referenciadas (BICUDO et al., 1998) que posteriormente foram ratificados por (MENEZES, BICUDO, 2009) em 5.614 espécies, distribuídas em 3.689 epicontinentais, ou seja, de água (Gráfico 1).

Gráfico 1: Número de espécies de algas em água doce no Brasil.



Fonte: Adaptado (Menezes & Bicudo, 2009).

2.3 A EUROTROFIZAÇÃO, ALGAS E CIANOBACTÉRIAS

Tendo em vista o contexto anterior, pode-se considerar que a subdivisão da eutrofização acontece de dois tipos: o processo de eutrofização natural e o antrópico. Para o processo natural, ocorre o surgimento de algas em grandes intervalos de tempo e sem interferência humana, e são decorrentes de variações climáticas ou outros efeitos naturais. No segundo processo antrópico, acontece a interferência humana ou de animais que frequentam as regiões aquáticas, o que ao entrar e sair, deixam moléculas que podem contribuir para o fenômeno da eutrofização que tem se tornado num problema global devido os problemas ambientais resultantes desse fenômeno da eutrofização (SMITH, SCHINDLER, 2009).

No entanto, o fenômeno eutrofizativo altera a qualidade da água, permitindo o surgimento das algas e sua proliferação e esse fato pode ser justificável, devido às cianobactérias que quando presentes no meio hídrico, são capazes de proporcionar um local propício para produção de compostos tóxicos que põe em risco a vida aquática, tendo em vista a alteração da qualidade dos recursos hídricos (CHORUS; BARTRAM, 1998).

Todavia a principal característica da presença de algas em água doce é a mudança na coloração podendo ser esverdeada, azulada, castanha ou vermelhada, que pode causar mau cheiro e gosto desagradável e, quanto maior a proliferação, tanto mais turva se torna a região líquida e densa, o que possibilita a não passagem dos raios solares até a região onde existe a flora. Nesse caso, com a proliferação e aumento de concentração de algas, a água se torna turva, impossibilitando a passagem dos raios solares que poderiam ser absorvidos pela flora do fundo.

Dessa maneira, com o impedimento dos raios, as plantas não podem realizar fotossíntese em consequência da queda do nível de oxigênio dissolvido, o que provoca o óbito da flora e fauna ali presentes. Vale ainda ressaltar que, com o óbito da flora, acontece a decomposição e passam a consumir o oxigênio dissolvido na água, o que faz diminuir ainda mais a concentração de oxigênio dissolvido. No limiar do declínio de concentração de oxigênio dissolvido (MORAES, 2009), não pode mais sustentar a flora e fauna e a região atinge o fenômeno da anoxia, pois os raios solares são desviados para o mesmo meio de propagação ou, quando refratados, são atenuados e não chegam às profundezas do meio aquático.

Em água de piscina, caixa d'água, poços de escola ou em rios de comunidades, torna-se imprescindível a implantação de sistemas de filtros ou análises de metais pesados, físico-químico, químico e microbiológico a fim de evitar contaminação por algas e cianobactérias, pois nesse tipo de habitat, pode estar ocorrendo a diminuição de oxigênio dissolvido e proliferação de algas o que sem esses cuidados, pode causar agravos à saúde do ser humano.

Nesse sentido a Organização Mundial de Saúde (OMS) elaborou critérios para a qualidade de água destinada ao consumo, pois muitos rios da região amazônica são frequentados por animais que introduzem moléculas fétidas no corpo hídrico. Nesse sentido, em determinada região que existem moradores, é preciso fazer uma investigação que envolva a análise microbiológica para determinação do nível de contaminação, pois além de haver proliferação de cianobactérias, pode também haver discrepâncias de parâmetro físico (ANA, 2009).

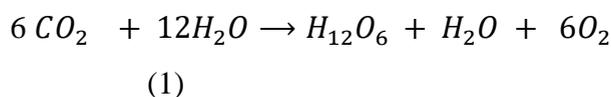
Existem inúmeros fatores que atuam no meio hídrico que provoca impacto ambiental e por essa razão é preciso ficar atento para esses rios em que há comunidades o que é crucial a análise de parâmetros, pois pode estar havendo o despejo de descarga de esgotos domésticos, industriais, agrotóxicos não absorvidos pelas plantações e levados pelo escoamento da água de irrigação, dejetos de pecuária, excesso de alimentos em fazendas de piscicultura e carcinicultura, falta de circulação e de oxigenação da água uma vez em contato com a água,

torna-se num ambiente propício para crescimento de cianobactérias e proliferação de algas por meio da fotossíntese em consequência da ocorrência de nitrogênio e fósforo acima de limites normais o geram a proliferação de algas fósforo (ANTONIOU, CRUZ, DIONYSIOU, 2005); (SMITH, JOYE, HOWARTH, 2006).

2.4 PROLIFERAÇÃO DE CIANOBACTÉRIA PELA FOTOSÍNTESE

Em relação às cianobactérias (DITTMANN; WIEGAND, 2006), são conhecidas como algas azuis e são microrganismos aeróbios foto autotróficos, ou seja, que obtêm energia por reações químicas juntamente com o oxigênio por meio de fotossíntese (representa um processo realizado por organismos produtores em que se observa a captura da energia solar e sua transformação em energia química), cujos mecanismos necessitam de água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz.

Tendo sua origem estimada em 3,5 bilhões de anos, acredita-se que foram os mais antigos produtores de material orgânico a liberar o oxigênio na atmosfera da terra primitiva (CARMICHAEL 1992). A reação que leva à proliferação pode ser entendida pela equação química balanceada a seguir. Ou seja, a reação química das cianobactérias autotróficas pode ser interpretada da forma;



Para melhor compreender esse resultado, considere um microrganismo que recebe luz e que está numa região onde existe CO₂ e H₂O. Nesse caso, na presença de luz e clorofila, acontece uma reação química, resultando no produto glicose (C₆H₁₂O₆), água (H₂O) e oxigênio (O₂). Nesse processo de reação, a água é o principal doador de elétrons e, portanto, libera oxigênio como subproduto. Esse processo por liberação de oxigênio acontece com foto autotróficos que utilizam a luz solar como fonte de energia e usa CO₂ como fonte de carbono para ser possível que aconteça a reação química (STERNER, 2008).

Os foto-heterotróficos usam esse mesmo princípio para obtenção de energia, usando a luz como fonte, entretanto, na reação química são utilizados compostos orgânicos como fonte de carbono. O processo de fotossíntese, que utiliza a luz como princípio ativo, constitui a base para ser possível que plantas e algas existam em duas regiões distintas. No entanto, é preciso compreender o habitat das algas e quais as possíveis toxinas que emanam na região em que vive, tanto em água doce quanto em água salgada. Após esse estudo, torna-se possível saber que maneira esses microrganismos conseguem dominar o habitat ao ponto de a região se tornar propícia para a ocorrência da anóxia da fauna e flora.

É preciso que se compreenda a proliferação de algas pelo processo da fotossíntese levando em conta a energia livre de Gibbs para interpretação de processo espontâneo, considerando a entalpia, temperatura e entropia num processo exotérmico com o intuito de entender como acontece a fotossíntese nas algas e posteriormente, a verificação das trocas energéticas por meio da energia livre de Gibbs.

A fotossíntese nas algas clorofiladas ocorre de forma análoga do que nas plantas, ou seja, através da conversão de energia solar em energia química, usada para produzir moléculas orgânicas para sua alimentação, sendo que o ATP constitui o principal mecanismo de transporte e troca de energia nesses organismos. No entanto, como uma parte dessa energia é dissipada de modo desordenado, o que explica a presença da entropia na energia livre de Gibbs, recebe o nome de *entropia*.

2.5 PROLIFERAÇÃO DE ALGAS EM ÁGUAS DOCES E SALGADAS

A principal característica da presença da proliferação de algas em água doce é a mudança na coloração da água, podendo ser esverdeada, azulada, castanha ou vermelha, que pode causar mau cheiro e gosto desagradável. Porém, as algas verdes – azuladas – encontram-se nos locais de água parada, como, por exemplo, reservatórios sem circulação, que constitui um ambiente propício para o seu crescimento devido à existência de altas temperaturas, abundância de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo. No entanto no verão, formam enormes florações, tornando-se cada vez mais competitivas com outros organismos, o que justifica sua relevante importância nos ecossistemas. Pois a concentração de algas pode afetar o equilíbrio natural e a qualidade da água e causar a mortandade em massa de peixes e outras formas de vida (KIM, BOO, ZAKRYS, 1998).

Portanto, é possível reestabelecer o equilíbrio de um ecossistema através do monitoramento do crescimento das algas. Percebe-se então que, assim como as algas proporcionam malefícios, podem contribuir benéficamente para a saúde. O aumento da floração das algas ocorre naturalmente por correntes marítimas ou tempestades e de modo mais acentuado devido à ação do homem. Considerando o tamanho, estão divididas em dois grupos: microalgas e macroalgas sendo que as microalgas só podem ser observadas por microscópio como as bactérias; as macroalgas, por sua vez, podem formar grupos estruturais muito grande com um certo grau de diferença no que se refere as suas células o que as deixam parecidas com as plantas.

Existem algas, cuja proliferação ocorre em água salgada oceânica, como consequência das mudanças sazonais proporcionadas pela presença de luz solar, nutrientes e a hidrodinâmica que modifica a estabilidade das colunas de água, como, por exemplo, a profundidade da camada de mistura. No entanto, o processo de sintetização do próprio alimento culmina na produção de energia suficiente para garantir não só a sobrevivência da espécie como também a vida na Terra. São caracterizadas por ausência de tecidos que implicam em não possuir o corpo constituído de raiz, caule ou folha, embora ocorra a presença de clorofila.

É possível ainda fazer uma comparação de proliferação de algas em água doce e salgada em que as espécies de algas, as *planctonalgas ic* (de água doce) são responsáveis pela absorção do carbono (C) enquanto as que vivem em ambiente marinho (água salgada), atuam como fonte de proteínas e polissacarídeos. Entretanto, o *Filo Euglenophyta*, que deriva do gênero *Euglena*, é o mais comum do grupo com cerca de 450, são organismos unicelulares que se desenvolvem em água doce, caracterizadas pela presença de um ou dois flagelos. Mesmo não sendo venenosa, algumas espécies produzem toxinas nocivas à saúde humana (AHMAD et al., 2011).

2.6 ALGAS AUTOSSUFICIENTES, CLASSIFICAÇÃO E PRODUÇÃO

As algas, como organismos fotossintetizantes, fazem parte de um grupo heterogêneo de indivíduos constituídos de células individuais ou pluricelulares simples, comparando-as com as plantas terrestres, são adaptadas ao meio aquático, estão agrupadas em seis filos que constituem mais de 20.000 espécies dos quais três representam as formas unicelulares (*Euglenophyta*, *Chrysofhyta* e *Pirrofhyta*) do reino Protista.

Existem, ainda, espécies de algas nos mais diversos mananciais associadas a fungos na forma de líquens constituídas por uma ou mais células. A tabela ilustra as classificações dos tipos de algas conhecidas do ponto de vista científico (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação dos tipos de algas conhecidas.

ALGAS	ESPÉCIES
As diversas espécies de algas e suas características Euglenas	Caracterizam por serem unicelulares e flageladas, vivem em colônia ou não. Peculiares em ambientes de água doce e autotróficas. Na falta de luz tornam-se seres heterotróficos (CAVALIER-SMITH, ALLSOPP, CHAO, 1994).
Verdes	Conhecidas desta maneira pela coloração esverdeada, ela costuma ser encontrada em ambientes terrestres úmidos ou aquáticos. Além disso, podem ser unicelulares ou pluricelulares. Outro aspecto importante é que existem cerca de 17 mil espécies de algas verdes (LEE, 2008).
Dinoflageladas	São unicelulares com a presença de dois flagelos. São responsáveis na formação das marés vermelhas devido a proliferação (COLE; SHEATH, 1990)
Vermelhas	Denominadas de <i>rhodophytas</i> , com característica avermelhada, vivem em habitat marinhos e formadas de mais de uma célula e sem flagelos. São ricas em vitamina C (SOUTH, WHITTICK, 1987).
Pardas	Encontradas com frequência em águas brasileiras, chama muita atenção pelo tamanho, que pode atingir de 60 a 70 centímetros. Prefere como habitat de desenvolvimento as regiões temperadas. São denominados como kelps. Existe outro grupo conhecido como cianófitas ou cianobactérias, sem que haja um consenso sobre essa classificação (VAN-DEN-HOEK, MANN, JAHNS, 1995).
Diatomáceas	As diatomáceas – ou <i>bacillariophytas</i> – caracterizam-se pela falta de celulose nas paredes das células. Habitam em água doce e salgada (ZIMBA et al., 2010).

Fonte: Própria do autor.

Das espécies de algas, as *planctonalgas* são responsáveis pela absorção do carbono (C) enquanto as que vivem em ambiente marinho atuam como fonte de proteínas e polissacarídeos. Entretanto, o *Filo Euglenophyta*, que deriva do gênero *Euglena*, sendo o mais comum do grupo, cerca de 450, são organismos unicelulares que se desenvolvem em água doce, caracterizadas pela presença de um ou dois flagelos (SCHIRRMESTER et al., 2013). Mesmo não sendo venenosa, algumas espécies produzem toxinas nocivas à saúde humana, atacando principalmente o sistema neurológico, fígado, provoca gastroenterites, doenças respiratórias, alergias, irritação na pele e olhos, além de prejudicarem o meio ambiente, podendo contribuir para a mortalidade de peixes e outros organismos, o que as tornam nocivas para os seres vivos (ANDERSON et al, 2008); (CHAPMAN, 1996).

No entanto, a cor real desse recurso hídrico relaciona-se com a presença de vários minerais e substâncias orgânicas existentes naturalmente no meio aquático (CETESB, 2018). Por outro lado, quando a luz sofre redução em intensidade ao atravessar o meio aquático, torna-se evidente a presença de sólidos orgânicos e inorgânicos ali existentes, como, por exemplo, algas em emersas, bactérias e metais dissolvidos. Porém, o problema mais relevante a respeito da alteração na coloração da água é de cunho estético (YUNES, 1998).

Entretanto, no caso de algas verdes – azuladas, são encontradas em locais de água parada, como reservatórios sem circulação que constitui um ambiente propício para o seu crescimento, há a ocorrência de altas temperaturas, abundância de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo que as ajudam, no verão, formarem enormes florações tornando-se cada vez mais competitivas com outros organismos o que justifica sua relevante importância nos ecossistemas, pois, num corpo d'água. Pois a concentração de algas pode afetar o equilíbrio natural e a qualidade da água, podendo causar a mortalidade em massa de peixes e outras formas de vida.

Portanto, é possível reestabelecer o equilíbrio de um ecossistema através do monitoramento de crescimento das algas. Percebe-se então que, assim como as algas proporcionam malefícios, podem contribuir benéficamente para a saúde. Porém, o aumento da floração das algas pode ocorrer de forma natural por correntes marítimas e fluviais ou tempestades e, de modo mais acentuado, devido à ação do homem (CHAPMAN, 1996).

Considerando o tamanho, estão divididas em dois grupos: microalgas e macroalgas sendo que as microalgas só podem ser observadas por microscópio como as bactérias; as macroalgas, por sua vez, podem formar grupos estruturais muito grande com um certo grau de diferença no que se refere as suas células o que as deixam parecidas com as plantas.

2.7 TOXINAS DE ALGAS NOCIVAS AO SER HUMANO

O problema da contaminação que afeta a qualidade da água, tornando-se num problema de saúde pública, advém da descarga de matéria orgânica oriunda de atividades humanas que acontecem nos ambientes aquáticos o que pode resultar no surgimento de infecções provenientes do acúmulo de nutrientes nos corpos hídricos provocado pela eutrofização.

Tendo em vista que algas se proliferam do modo análogo as plantas a partir do processo de energia espontânea prevista pela energia livre de Gibbs, portanto, em ambientes propícios a manifestação de microrganismos, constitui num ambiente favorável para criação de algas e por essa razão as cianobactérias pode causar um problema de saúde pública. No entanto, esse

problema pode ser comum até mesmo em locais residências, principalmente em caixas d'águas representam acúmulos de algas que podem contribuir para a liberação de substâncias nocivas para seres humanos, animais e comunidades sujeitas a esse tipo de problemas.

2.8 CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA PELAS CIANOBACTÉRIAS

É nesse contexto de contaminação da água que as cianobactérias podem liberar toxinas em quantidades expressivas, através do processo de rupturas sofrida na membrana plasmáticas (DEBERDT, CANTUSIO NETO, AGUJARO, 2006) da célula ocasionando a liberação do material intracelular para meio exterior (lise celular) que pode ocorrer após a morte natural, uso de algicida, como sulfato de cobre ou cloração e estresse celular.

No entanto é importante que se investigue a presença dessas espécies produtoras de toxinas, como por exemplo, SAX, ANA-A e CYLIN, sendo que os dois primeiros exemplos são neurotoxinas e o terceiro, hepatoxina, para que sejam monitoradas com o intuito de evitar sérios problemas à saúde dos animais, das pessoas e danos ao próprio ecossistema. Pois nesse cenário de risco, as cianobactérias juntamente com as cianotoxinas ganham espaços consideráveis em normas que dizem respeito à saúde e à qualidade do ambiente em todo o mundo (SIVONEN et al., 1990).

Conhecidas como algas azuis, as cianobactérias são microrganismos aeróbios fotoautotróficos, ou seja, que obtêm energia por reações químicas juntamente com o oxigênio por meio de fotossíntese, cujos processos vitais necessitam de água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz. Tendo sua origem estimada em 3,5 bilhões de anos, acredita-se que foram os mais antigos produtores de material orgânico a liberar o oxigênio na atmosfera da Terra primitiva que pode ter ocasionado o desenvolvimento subsequente de formas de vidas plurecelulares (ANDERSON et al, 2008).

Fazem parte de gêneros e espécies que produzem as Cianotoxinas usadas como fonte de produtos naturais tóxicos produzidos, como por exemplo a SAX e a ANAT-AS, porém, embora os esclarecimentos a respeito da origem da produção de tais toxinas não sejam consistentes, acredita-se que esses compostos tenham função protetora contra organismos herbívoros como é o caso de alguns metabólitos de plantas vasculares (RESSON et al., 1994). Caracterizadas pela ação rápida, induzindo ao óbito de mamíferos provocado por parada cardiorrespiratório em decorrência de alguns minutos de exposição com tais toxinas em que, por esse motivo são identificadas como alcalóides ou organofosforados neurotóxicos. Entretanto, as cianobactérias, no meio aquático, liberam as cianotoxinas em quantidades expressivas, através

do processo de rupturas sofrida pela membrana plasmática da célula ocasionando a liberação do material intracelular para meio exterior, fenômeno conhecido como lise celular que pode ocorrer após a morte natural, uso de algicida, como sulfato de cobre ou cloração e estresse celular (FALCONER; HUMPAGE, 2001).

No entanto é importante que se investigue a presença dessas espécies produtoras de toxinas, como por exemplo, SAX, ANAT-AS e CYLIN, sendo que os dois primeiros exemplos são neurotoxinas e o terceiro, hepatoxina, para que sejam monitoradas com o intuito de evitar sérios problemas à saúde dos animais, das pessoas e danos ao próprio ecossistema. Pois nesse cenário de risco, as cianobactérias juntamente com as cianotoxinas ganham espaços consideráveis junto as normas que dizem respeito à saúde e à qualidade do ambiente em todo o mundo (KOSKINEN, RAPOPORT, 1985). Entretanto na Austrália, Inglaterra, China e África do Sul, foram registradas intoxicações causadas por cianobactérias em populações cujas cepas tóxicas contaminaram a água a ser consumido (RAPALA et al., 1994).

Mas foi por só volta do ano de 1996 houve a confirmação de óbito de origem humano constituindo-se no primeiro caso ocorrido onde 130 pessoas portadoras de deficiências renais crônicas após várias sessões de hemodiálise numa clínica de Caruaru, cidade de Pernambuco (PE), Brasil, apresentaram um quadro clínico equivalente ao da hepatotoxicose grave onde 60 desses pacientes evoluíra a óbito num período de até 10 meses. Porém as análises dos exames detectaram presença tanto de microcistinas quanto de CYLIN no carvão ativado usado no processo de purificação de água da clínica. Identificou-se também microcistinas nas amostras de sangue e do fígado dos pacientes.

2.9 CLASSIFICAÇÃO DAS TOXINAS

A ANA-A é um alcaloide que possui uma amina secundária bicíclica, com massa molecular e Ph de 165 uma e 9,4, respectivamente. Sabe-se produzido por mais de um gênero de cianobactérias e dentre elas podem ser incluídas *Anabaena flos-aquae*, *Oscillatoria spp.*, *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon flos-aquae* e *Cylindrospermum spp.* (SKULBERG et al., 1992). Possui como homólogo a HOATX-A, age como potentes agonistas nicotínicos ativando canais de cálcio, criando um bloqueio da transmissão elétrica decorrente da despolarização, que em dose suficientemente alta, pode levar à paralisia, asfixia e morte (CARMICHAEL, 1975). Os sintomas apresentados em alguns animais que tiveram sido expostos à ANA-A por via oral (administração de água doce contaminada) tiveram problemas musculares, convulsões e morte por parada respiratória (CARMICHAEL, 1998).

A literatura mostra que vários estudos têm examinado os níveis de ANA-A em reservatórios de água doce seguidos da aparição de florações (JAMES, SHERLOCK, STACK, 1997). Porém, até o momento, todos os casos de incidentes toxicológicos relacionados com a ANA-A e que levaram à morte em poucos minutos envolveram apenas animais. Por exemplo, alguns desses relatos incluem morte de gado na Finlândia, cachorros na Escócia, Irlanda e França e flamingos no Quênia (SIVONEN et al., 1990).

A ANAT-AS constitui outra cianotoxina no grupo de alcaloides neurotóxicos. Sua estrutura química constitui um éster metil cujo mecanismo de ação é a inibição irreversível da acetilcolinesterase, que pode promover o bloqueio dos estímulos dos nervos e músculos e causar falência respiratória e morte (VAN APELDOORN et al., 2007). Constitui um composto que age como um inseticida organofosforado sintético, considerado como o único organofosforado que inibe de forma irreversível a acetilcolinesterase de ocorrência natural conhecida (JAMES et al., 1998). Caracteriza-se por ser química e fisiologicamente diferente das Anatoxinas supramencionadas. É produzida por cepas (agrupamento viral) de *Anabaena flos-aquae* e *Anabaena lemmermannii* (MATSUNAGA et al., 1998), sendo muito solúvel em água.

A HOATX-A é um análogo da ANA-A, sendo isolada de culturas e efeitos de cultura de *Planktothrix (Oscillatoria) formosa* NIVA-CYA 92 cuja atividade do seu extrato na transmissão neuromuscular foi testada posteriormente, tendo-se como resultado que o alvo dessa toxina é a emocional neuromuscular. No entanto, identificada como um componente tóxico de uma cepa de *Rhododiopsis mediterranea* LBRI 48, constitui-se no primeiro ente de uma produção simultânea de ANA-A e HOATX-A pela mesma cepa (SKULBERG et al., 1992).

Segundo Araóz et al, das 23 cepas de oscilatória estudadas, somente 3 sintetizaram somente ANA-A. Por outro lado, apenas uma foi capaz de sintetizar as duas, simultaneamente, o que sugere que algumas espécies de Cianobactérias teriam diferenças regulatórias, o que levaria à biossíntese preferencial de uma ou das duas neurotoxinas.

Esse análogo metilênico da ANA-A, HOATX- A, foi isolado pela primeira vez de uma cultura de *Planktothrix (Oscillatoria) formosa* NIVA-CYA 92 em que posteriormente testado a atividade do extrato desta cepa na transmissão neuromuscular, obteve-se como resultado que esta cianotoxina tem como alvo a emocional neuromuscular, atuando especificamente no receptor nicotínico pós-sináptico, observou a sensibilidade deste para a acetilcolina. Entretanto a HOATX-A foi identificada como um componente tóxico de uma cepa de *Rhododiopsis mediterranea* LBRI 48, sendo essa a primeira identificação da

produção simultânea de ANA-A e HOATX- A pela mesma cepa (ARAÓZ et al., 2005) estudaram 23 cepas de *Oscillatoria* e somente 3 delas sintetizavam apenas a ANA-A. Por outro lado, apenas uma cepa foi capaz de sintetizar ANA-A e HOATX-A simultaneamente, sugerindo que algumas espécies de cianobactérias teriam diferenças regulatórias, o que levaria à biossíntese preferencialmente de uma ou das duas neurotoxinas. Pois o mecanismo poderoso de toxicidade da HOATX-A é análoga ao da ANA-A, isto é, atua como agente bloqueador neuromuscular.

As CYLIN constituem alcaloides produzidas por várias espécies de cianobactérias, porém verificou-se em oito espécies de cianobactérias: *Cilindrospermopsina raciborskii* (OHTANI, MOORE, RUNNEGAR, 1992); (HARADA et al., 1992). *Aphanizomenon ovalisporum* (BAKKER, 2007); (SHAW et al., 1999); (LI et al., 2001); (SCHEMBRI, NEILAN, SAINT, 2001).

Foram observados danos muito consistentes em células renais, pulmonares e cardíacas dos animais testados. Além disso, demonstrou-se que a cilindrospermopsina pode causar danos genéticos *in vitro* e *in vivo* (HUMPAGE et al., 2000). Entretanto, é uma toxina de ação lenta, que pode ocorrer num intervalo de 5 a 7 dias para a efetivação de seu efeito tóxico máximo.

A SAX faz parte do grupo dos alcalóides, tendo sua toxicidade muito variável por ser a mais potente. Foi descoberta em água doce e sintetizada por cianobactérias, como, por exemplo, a *Anabaena* e *Aphanizomenon* cujas toxicidades são muito altas. É mais solúvel em metanol do que em etanol, porém insolúvel em acetona, éter ou clorofórmio. Possui resistência à cristalização, é bastante higroscópica, ou seja, possui grande capacidade de absorção de umidade e decompõem-se em fusão (RESSOM et al., 1994). Os organismos reprodutores das SAX são *Cylindrospermopsis*, dinoflagelados *Anabaena* e *Oscillatoria*.

O mecanismo de ação das SAX é rápido, inibindo a condução nervosa, podendo causar paralisia progressiva dos músculos, diminuição dos movimentos, cianose, convulsão, parada respiratória e morte. Foi a partir da década de 1970 que ocorreu um aumento significativo de casos de contaminação por toxinas PSP são considerados, atualmente, um problema globalizado, requerendo grande conscientização pública e profissional. Dentre as toxinas a SAX é a mais pesquisada quanto aos efeitos farmacológicos, devido à dificuldade de se fazer o isolamento das demais para maiores estudos. A Tabela 2, mostra de modo sucinto cada uma das toxinas estudadas e seus organismos reprodutores e, também, a presença de produtores presentes nas toxinas de algas.

Tabela 2: Os organismos produtores de toxinas de algas.

TOXINAS	Organismos Produtores/ Mecanismo de ação	PRODUTORAS/ DL50/ SINTOMATOLOGIA A EXPOSIÇÃO AGUDA
ANA-A	<i>Anabaena, Oscillatoria, Cyndrospermum, Aphanizomenon, Microcystis/</i> Agonista nicotínico irreversível	<i>Anabaena flos-aquae, Oscillatoria spp., Anabaena circinalis, Aphanizomenon flos-aquae</i> e <i>Cyndrospermum spp</i> (CARMICHAEL, 1989). 200 – 250 µg/Kg i.p. ratos/ Paralisia progressiva, forte respiração abdominal, cianose, convulsão, morte por asfixia.
ANAT-AS	<i>Anabaena/</i> Inibição da acetilcolinesterase	A ANAT-AS constitui uma cianotoxina no grupo de alcaloides neurotóxicos. Sua estrutura química constitui um éster metil cujo mecanismo de ação é a inibição irreversível da acetilcolinesterase, que pode promover o bloqueio dos estímulos dos nervos e músculos e causar falência respiratória e morte. 20 µg/Kg i.p. ratos/ Paralisia progressiva, fraqueza muscular, diminuição da frequência respiratória e convulsões. Salivação intensa. Morte ocorre por falência respiratória (VAN APELDOORN et al., 2007).
CYLIN	<i>Cyndrospermopsis raciborskii, Umezakia, Aphanizomenon, Raphidiopsis, Anabaena/</i> Inibição da síntese protéica	<i>Cyndrospermopsis raciborskii, Aphanizomenon ovalisporum, Raphidiopsis curvata, Anabaena bergii, Anabaena lapponica, Aphanizomenon flos-aquae, Lyngbya wollei</i> e possivelmente de <i>Aphanizomenon gracile</i> (ALLEN, TILDESLEY, 1987); (KOHN, 1999).
HOATX-A	<i>Anabaena/</i> Inibição da acetilcolinesterase	<i>Anabaena flos-aquae, Oscillatoria spp., Anabaena circinalis, Aphanizomenon flos-aquae</i> e <i>Cyndrospermum spp</i> 20µg/Kg i.p. ratos/ Paralisia corpora, convulsões e morte por parada respiratórias num intervalo de 7 e 12 min (SKULBERG et al., 1992).
SAX	<i>Aphanizomenon, Anabaena, Lyngbya, Cyndrospermopsis</i> e também algumas espécies de dinoflagelados/ Bloqueio dos canais de sódio	<i>Cyndrospermopsis</i> e também algumas espécies de dinoflagelados <i>Anabaena, Oscillatoria</i> . 10 µg/Kg i.p. ratos/ Paralisia progressiva dos músculos, diminuição dos movimentos, exagerada respiração abdominal, cianose, convulsão, parada respiratória e morte (RESSOM et al., 1994).

Fonte: Própria do autor.

CAPÍTULO 3

MECÂNICA MOLECULAR E TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE DEPENDENTE DO TEMPO E ESPECTROMETRIA

3.1 A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

A simulação computacional é uma importante ferramenta para o desenvolvimento da nanotecnologia e avanço progressivo. Desde o século passado ela tem sido implementada em diferentes áreas do conhecimento científico utilizando imensas variedades de métodos e paradigmas nos vários campos científicos. O método computacional desenvolvido traz como resultado uma maior compreensão dos sistemas átomo a átomo, regiões de difícil acesso experimental que podem conduzir o estudo em condições extremas (LI et al., 2001).

A realização de modificações nas condições de um sistema físico ou pequenas variações em sua estrutura tornou-se uma tarefa possível tendo em vista o grande avanço computacional, e essa mudança ou variação, conduz a simulação para um estágio mais amplo, sendo possível identificar novos fenômenos a partir de uma modelagem computacional. Portanto, estudos teóricos de sistemas físicos ou químicos podem ser desenvolvidos e compreendidos com bases em simulações por computadores e para certificar a veracidade da simulação computacional o mesmo sistema é desenvolvido no campo experimental de modo a comparar os resultados teóricos com o experimental que corresponde um importante papel da ciência (SCHEMBRI, NEILAN, SAINT, 2001).

3.2 MECÂNICA MOLECULAR

3.2.1 O método da Teoria do Funcional da Densidade dependente do tempo

A Teoria da Densidade dependente do tempo (TD-DFT) corresponde um método onde um sistema pode depender de uma perturbação sem levar em consideração o tempo de modificação do potencial externo. Essa teoria foi desenvolvida a partir do formalismo de Kohn-Sham, as equações interpretam a existência de um potencial ativo para um modelo de partículas não-dependentes (HUMPAGE et al., 2000).

O método de Kohn-Sham pode ser usado para determinar os espectros de absorção numa região UV, dicroísmo circular e transições eletrônicas, não previstos pela mecânica molecular. Assim sendo, desenvolve-se nessa seção o método, mostrando a descrição do método DFT que foi usado para a DOS e que mais adiante pode ser explicado no método TD-DFT considerando-se a densidade eletrônica dependente do tempo o que mostra do ponto de

vista teórico o cálculo dos espectros, como DC (SLAD, 2005), DOS (DIWAKER et al. 2015), UV-vis (STEPHEN, DEVLIN, CHABALOWSKI, 1994), Raman (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014) e IR (SHEN, 2018).

3.2.2 Aproximação de Born-Oppenheimer

Em 1925, o físico austríaco Erwin Schrödinger (1887-1961) marcou o início da Mecânica Quântica moderna ao propor a descoberta de uma equação que descreve o mundo quântico. A característica principal da equação determina a função de onda quântica de um sistema desde um átomo até sistemas de muitas moléculas, contendo toda a informação necessária para determinar o estado do sistema. A equação proposta por Erwin Schrödinger é dada pela seguinte equação quântica

$$i\hbar \frac{\partial \Psi}{\partial t} = \hat{H} \Psi . \quad (6)$$

Onde $\Psi(r, t)$ é a função de onda do sistema e \hat{H} é o operador hamiltoniano. Usando a solução de uma equação diferencial, pode-se obter a partir de potenciais independentes do tempo a separação das variáveis espaciais e temporais, obtendo-se o seguinte resultado:

$$\Psi(\vec{r}, t) = \psi(\vec{r}) \exp\left(-i \frac{Et}{\hbar}\right) . \quad (7)$$

Substituindo na Eq. (6), obtém-se:

$$\hat{H}\psi(\vec{r}) = E\psi(\vec{r}) , \quad (8)$$

que é a equação de Schrödinger independente do tempo, na qual E é a energia do sistema quântico. Para um hamiltoniano de muitas partículas, tem-se:

$$H = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \vec{\nabla}_A^2 + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{|\vec{R}_A - \vec{R}_B|} - \sum_{i=1}^N \sum_A^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|} , \quad (9)$$

onde as parcelas das grandezas representam:

- $-\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \vec{\nabla}_i^2$ É o operador de energia cinética dos elétrons;
- $-\sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \vec{\nabla}_A^2$ É o operador de energia cinética dos núcleos;
- $\sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|}$ É o termo de repulsão colombiana entre os elétrons;

- $\sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{|\vec{R}_A - \vec{R}_B|}$ É a interação entre os núcleos;
- $-\sum_{i=1}^N \sum_A^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|}$ Representa a interação colombiana entre os elétrons e os núcleos.

No cálculo da energia do sistema, despreza-se a energia provenientes dos elétrons, pois suas massas em relação as massas nucleares podem ser desprezíveis. Diante disso, considera-se essa teoria prevista pela aproximação de Born-Oppenheimer. Para melhor compreender essa hipótese, supõe-se que os núcleos são praticamente imóveis, semelhantes a um sistema planetário em que o sol se encontra fixo e os demais planetas, tais como os elétrons, orbitam numa trajetória fechada. No caso do sistema quântico, consideram-se desprezíveis as forças interativas devido a infinitude das massas eletrônicas em comparação aos núcleos atômicos.

Com base nas parcelas dadas anteriormente, o potencial elétron-núcleo é constante e passa a depender, parametricamente, das coordenadas nucleares. Assim, na aproximação de Born-Oppenheimer, o hamiltoniano, torna-se:

$$H = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} - \sum_{i=1}^N \sum_A^M \frac{Z_A}{|\vec{r}_i - \vec{R}_A|}. \quad (10)$$

A equação de Schrodinger se torna:

$$\hat{H}_{el} \psi_{el}(\vec{r}) = E_{el} \psi_{el}(\vec{r}). \quad (11)$$

Onde

$$\psi_{el}(\vec{r}) = \psi_{el}(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N), \quad (12)$$

é a função de onda eletrônica. A soluções previstas para desenvolvimento da expressão (11) requer aplicações em termos computacionais, tendo em vista que os números de integrais a serem calculadas é muitíssimo grande. Nesse caso, será utilizado resolução da equação de Schrödinger com o uso de Gaussian 09W.

3.3 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

A mecânica quântica apresenta um formalismo físico muito trabalho quando o sistema apresenta um enorme números de partículas e nesse caso, são poucos os sistemas nos quais a solução da Equação de Schrödinger é exata. Equação diferencial exata pode ser resolvida com o intuito de obter uma função potencial que seja suficiente para descrever o sistema quântico. No entanto, recai-se no problema e para que seja resolvido, químicos e físicos procuram obter métodos alternativos para resolver a equação de Schrödinger de forma aproximada.

O sucesso em descrever sistemas de muitas partículas teve como forte contribuição científica as teorias de Walter Kohn (1923- 2016) que em 1964, publicou, juntamente com Pierre Hohenberg, um artigo onde apresentavam uma reformulação da mecânica quântica baseada, não em funções de onda, mas na densidade eletrônica.

Esta densidade $\rho(r)$ mede a probabilidade de encontrar um elétron no ponto identificado pelo vetor posição r . No entanto, surge a seguinte hipótese: Como determinar na prática $\rho(r)$ para um sistema real. Esse foi um problema que foi resolvido por num artigo de Kohn, mas agora com Lu Sham. Os dois artigos desenvolvidos por eles constituem a base da denominada Teoria dos Funcionais da Densidade (DFT). A partir do desenvolvimento dos computadores e em conseqüentemente, o surgimento dos métodos computacionais ou pacotes computacionais que possibilitou o cálculo das equações-chave da teoria DFT.

As equações de Kohn-Sham, que puderam ser facilmente resolvidas para sistemas cada vez muito mais complexos com pacotes computacionais especializados, onde é possível descrever sistemas complexos utilizando a teoria *DFT*. Todavia, o que permite a densidade eletrônica desempenhar esse papel central na *DFT* são dois importantes teoremas básicos, publicados nos artigos de Kohn e Hohenberg (1929-2019), teoremas de Hohenberg-Kohn:

Teorema (3.1.a). O potencial externo presenciado pelos elétrons, $V_{ext}(\vec{r})$, é um funcional único da densidade eletrônica no estado fundamental, $\rho_o(\vec{r})$.

Teorema (3.1.b). A energia do estado fundamental $E_o(\rho)$ é mínima para a densidade exata. Portanto, o primeiro teorema assegura que se pode determinar a energia como um funcional único da densidade eletrônica no estado fundamental:

$$E = E[\rho_o]. \quad (13)$$

O segundo teorema demonstra que a energia do estado fundamental tem propriedade variacional:

$$E[\rho_o] < E[\rho] . \quad (14)$$

A energia pode, então, ser escrita como um funcional da densidade:

$$E[\rho] = T[\rho] + U[\rho] + V_{ext}[\rho] . \quad (15)$$

onde $T[\rho]$ é a energia cinética do sistema, $U[\rho]$ é o termo de interação entre os elétrons e $V_{ext}[\rho]$ é a energia promovida pelos potenciais nucleares.

3.3.1 Formalismo da Partícula Independente e as Equações de Kohn-Sham

Kohn e Sham propõem, em sua teoria, escrever o funcional da energia dentro do modelo da partícula independente.

$$E_{KS} = T_o[\rho] + U_H[\rho] + V_{ext}[\rho] + V_{xc}[\rho] . \quad (16)$$

Na qual: $T_o[\rho]$: energia cinética para um sistema não interagente de elétrons com densidade eletrônica ρ ; $U_H[\rho]$: termo de interação colombiana média entre os elétrons e $V_{xc}[\rho]$: contém a correção da energia cinética ($T-T_o$) e da energia de Hartree ($U-U_H$), conhecido como energia de *troca-correlação*.

Portanto, tem-se um formalismo de partícula única que contém os efeitos de uma interação de muitos corpos, sendo assim, formalmente exato. As equações de Kohn-Sham são obtidas explicitando a funcional energia e, em seguida, minimizando esse funcional, com o vínculo do número de partículas constante:

$$E[\rho] = T_o[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r d^3r' + \int v(\vec{r})\rho(\vec{r})d^3r + E_{xc}[\rho] . \quad (17)$$

Minimizando esse funcional, tem-se:

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{ef} \right) \psi_i = \varepsilon_i \psi_i , \quad (18)$$

onde:

$$V_{ef} = \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r' + v(\vec{r}) + \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho} , \quad (19)$$

de modo que ε_i são os autovalores de Kohn-Sham e ψ_i são as autofunções de Kohn-Sham. Esse procedimento de minimizar a funcional energia em termos da densidade eletrônica é equivalente a resolver uma equação de Schrödinger com um potencial efetivo V_{ef} . Nesse

fictício sistema de partículas independentes, a densidade eletrônica é escrita em função dos orbitais eletrônicos de Kohn-Sham:

$$\rho(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N \psi_i^*(\vec{r})\psi_i(\vec{r}) . \quad (20)$$

Deve-se notar que o potencial efetivo de Kohn-Sham é um funcional da densidade. O potencial efetivo ser

$$V_{ef} = \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d^3r' + v(\vec{r}) + \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho} \quad (21)$$

o que permite concluir que as equações de Kohn-Sham devem ser resolvidas de modo auto-consistente, pelo fato de a densidade eletrônica ser dependente das autofunções de Kohn-Sham. Como a dependência do termo de troca-correlação com a densidade não é conhecida exatamente, várias aproximações foram criadas para suprir essa dificuldade. Entre essas aproximações, tem-se a LDA. Essa aproximação consiste em escrever a energia de troca-correlação por elétron num ponto tal como aquela em que um gás homogêneo tenha a mesma densidade nesse ponto

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{xc}^h(\rho(\vec{r})) d^3r . \quad (22)$$

Tal aproximação é útil em sistemas nos quais a densidade eletrônica não varia rapidamente em uma região pequena. No caso de a densidade variar significativamente dentro de certa região, deve-se incluir o termo que contém a dependência com a primeira derivada espacial da densidade:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int f(\rho(\vec{r}), \nabla \rho(\vec{r})) d^3r . \quad (23)$$

Essa é a conhecida Aproximação do Gradiente Generalizado, GGA (*Generalized Gradient Approximation*), onde a energia de troca-correlação por elétron é substituída por uma função local da densidade eletrônica e do gradiente da densidade. Com a introdução do termo do gradiente da densidade eletrônica presente no funcional de troca-correlação, espera-se um melhor resultado e, portanto, uma melhor descrição de sistemas não homogênea pode ser obtida. No caso de o potencial depender explicitamente do tempo, é possível calcular espectros UV e Raman. Nesses casos, tem-se o método da teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT).

3.3.2 Funcional da Densidade Dependente do Tempo

Trata-se de uma extensão da DFT, agora para potenciais efetivos dependentes do tempo. Como consequência disso, podem-se determinar, através desse método, resultados tais como: energia de excitação, espectros de absorção etc. A base da TD-DFT é o teorema de RG (1984) (RESSOM et al.,1994); (ALLEN, TILDESLEY, 1987). O teorema equivalente ao de Hohenberg-Kohn, todavia dependente do tempo. Utilizando-se desse formalismo, podem-se descrever as otimizações das estruturas analisadas, bem como estabelecer as propriedades espectroscópicas das moléculas. O método de Runge e Cross considera um sistema único na presença de um potencial externo dependente do tempo. Assim, a hamiltoniano do sistema fica:

$$\hat{H}(t) = \hat{T} + \hat{V}_{ext}(t) + \hat{U}_{el} \quad (24)$$

onde \hat{T} é o operador de energia cinética dos elétrons, \hat{U}_{el} é a interação elétron-elétron e $\hat{V}_{ext}(t)$ é o potencial externo que, junto com o número total de elétrons, define o sistema. Toda a informação fornecida pelo sistema (resposta) está associada a esse potencial. Aplicando esse operador na equação de Schrödinger, tem-se:

$$\hat{H}(t)\Psi(t) = i \frac{\partial}{\partial t} \Psi(t), \quad \Psi(0) = \Psi_0 \quad (25)$$

Utilizando a equação de Schrödinger como ponto de entrada, o teorema de Runge-Gross (R-G) estabelece que, num instante qualquer, a densidade determina, de maneira única, o potencial externo. Isso é feito em duas etapas:

- ✓ Admitindo que o potencial externo possa ser expandido em série de Taylor, num dado instante, eles demonstram, em seu artigo este que, se dois potenciais externos diferem a menos de uma constante aditiva, então eles geram diferentes densidades de corrente.
- ✓ Aplicando a equação da continuidade, eles demonstram que, para sistemas finitos, diferentes densidades de corrente correspondem a diferentes densidades eletrônicas.

A solução da equação de Schroedinger via teorema RG, permitiu obter os resultados dos espectros analisados. Na subseção seguinte, apresenta-se o funcional híbrido B3LYP/6-311++G (d, p), o qual foi utilizado no estudo.

3.3.3 Funcionais Híbridos B3LYP

Com o intuito de otimizar o tempo computacional dos cálculos baseados em DFT, foi feito uma aproximação para os termos de troca-correlação introduzindo uma parte exata do termo de troca, na teoria de Hartree-Fock, com a troca e correlação de outros métodos (*ab-initio*, como, por exemplo, a aproximação da densidade local, *LDA*, métodos semi-empíricos, entre outros). Esses funcionais híbridos oferecem uma maneira simples de obter resultados de muitas propriedades moleculares tais como, comprimento de ligações, espectros de vibração etc. O funcional B3lyp (Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr), (MOREIRA, 2005); (KOHN, 1999) que é uma combinação linear exata do funcional de troca de Hartree-Fock (E_{ex}^{HF}), é dado por:

$$E_{xc}^{B3LYP} = E_{xc}^{LDA} + a_o(E_{ex}^{HF} - E_{ex}^{LDA}) + a_{ex}(E_{ex}^{GGA} - E_{ex}^{LDA}) + a_c(E_c^{GGA} - E_c^{LDA}), \quad (26)$$

$a_o = 0,2$, $a_{ex} = 0,72$ e $a_c = 0,81$ são parâmetros empíricos, E_{ex}^{GGA} e E_c^{GGA} são aproximações do gradiente generalizada e E_c^{LDA} é a densidade local de Vosko-Wilk-Nusair (VWN). Os resultados, em relação à caracterização das estruturas analisadas, foram estimados, conforme se verificarão nos capítulos seguintes, através dos funcionais *B3lyp*, com o conjunto de bases $311++G(d,p)$.

CAPITULO 4

ANÁLISES DOS ESPECTROS DC, UV-Vis, DOS, RAMAN E IR

4.1 ESPECTROMETRIA

A espectroscopia é um estudo que representa uma interação da luz com um composto molecular. Essa incidência luminosa pode ser considerada como uma luz monocromática ou de frequência única com um determinado comprimento de onda e energia. Essa interação é de fundamental importância para estudar as propriedades físico-químico com obtenção de diferentes espectros que podem ser extraídos da simulação com mecânica molecular. Após a incidência do fóton poderá haver uma diminuição da energia no raio emergente, pois o composto poderá ou não absorver energia.

Dessa maneira, a espectroscopia vem fazer uma abordagem puramente teórica, incluindo estudos de DC, DOS, UV-Vis, Raman e IR que correspondem os processos de interação da luz com a matéria. A teoria pode ser aplicada numa gama de compostos orgânicos permitindo obter as propriedades do composto a ser analisado. Neste caso, com o desenvolvimento da mecânica quântica e com a aplicação da análise computacionais, como DM e MM assim como DOC, tornou-se possível o estudo teórico para obtenção dos espectros de DC, UV-Vis, DOS, Raman e IR do composto irradiado por luz polarizada.

Dessa maneira, os componentes de uma substância orgânica podem ser determinados através de análises para saber se os elementos são quantitativos ou qualitativos. Para isso existem inúmeros testes simples, através dos quais pode-se relacionar tais elementos do composto em análise. Portanto, a espectrometria constitui um método para a analisar a interação da luz com a matéria com objetivo de identificar e quantificar as substâncias químicas, por meio da medida da absorção e transmissão de luz em trânsito numa determinada amostra e do ponto de vista teórico, verificar os espectros extraídos com a utilização de uma base B3Lyp específica.

A seção seguinte irá abordar do ponto de vista teórico, a espectroscopia por DC, DOS, UV-Vis, IR e Raman, enfatizando a diferença existente entre eles. Posteriormente, o estudo será aplicado com metodologia que trata da espectroscopia de toxicinas de algas, derivados e metabólitos a saber, ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX onde com os espectros obtidos, será possível investigar com maior detalhe o estado excitado, as transições eletrônicas, as deformações moleculares no IR próximo e médio e o Raman para verificar as vibrações em partes das moléculas nos valores específicos de frequência.

4.2 DICROISMO CIRCULAR

A luz polarizada foi descoberta em 1808 por Étienne Louis Malus (1775-1812). Logo depois, Jean-Baptiste Biot (1774-1862) descobriu que certos cristais de quartzo desviam, ou melhor, fazem girar o plano de polarização da luz. Essas substâncias são chamadas opticamente ativas, ou seja, têm atividade óptica. Posteriormente, outros estudos comprovaram a existência de dois tipos de cristal de quartzo, com formas geométricas assimétricas, de tal maneira que a forma de um deles é igual à imagem do outro num espelho plano. A teoria de *DC* pode ser utilizada no estudo de moléculas quirais. O *DC* mede diferença de absorção de radiação com polarização circular à esquerda e à direita. Isto é:

$$DC = A_E - A_D . \quad (27)$$

De acordo com essa equação, numa mistura racêmica o fenômeno descrito não é observado, uma vez que a diferença de absorção para duas moléculas que são moléculas assimétrica. Entende-se por mistura racêmica a mistura de dois enantiômeros de modo que quando uma luz polarizada a atravessa nenhum desvio da luz monocromática é observado. Havendo um desdobramento dessa mistura, os enantiômeros se separam. Se ocorrer a incidência de uma luz monocromática, o primeiro pode desviar a luz circularmente para a direita e o segundo, para a esquerda.

No entanto, ao ocorrer um desdobramento da mistura, observa-se uma exibição de *DC* correspondente a cada um dos enantiômero que compõe a mistura. É devido a esse motivo que se deve ter o cuidado na administração de medicamentos sintéticos tendo em vista os efeitos colaterais que podem causar quando não completa o processo chave fechadura, causando possíveis danos ao organismo.

O *DC* é uma técnica espectroscópica relevante porque mostra que um determinado composto, quando incidido por luz monocromática, rotaciona o plano de polarização da luz. É utilizado para determinar a diferença dos coeficientes de absorção molar para a luz circularmente polarizada à esquerda e à direita em frente a um determinado comprimento de onda. A técnica de *DC* contribui para determinar a estrutura secundária de uma molécula (RUNGE, GROSS, 1984), (AKERMAN, 2015), a configuração absoluta e conformação de produtos naturais, por exemplo, flavonoides (STEPHEN et al., 1994).

A espectrometria *DC* ocorre devido à presença de carbonos quirais nas estruturas moleculares sendo os responsáveis em girar o plano de polarização da luz. A luz pode

rotacionar, circularmente, para a direita ou esquerda. Como há somente os dois sentidos para a luz, os isômeros ópticos podem ser separados em dois grupos, os levógiros e os dextrógiros. Levógiros são os isômeros que desviam a luz polarizada à esquerda. Dextrógiros são os isômeros que desviam a luz polarizada à direita. À mistura dos isômeros dextrógiro e levógiro, dá-se o nome de mistura racêmica.

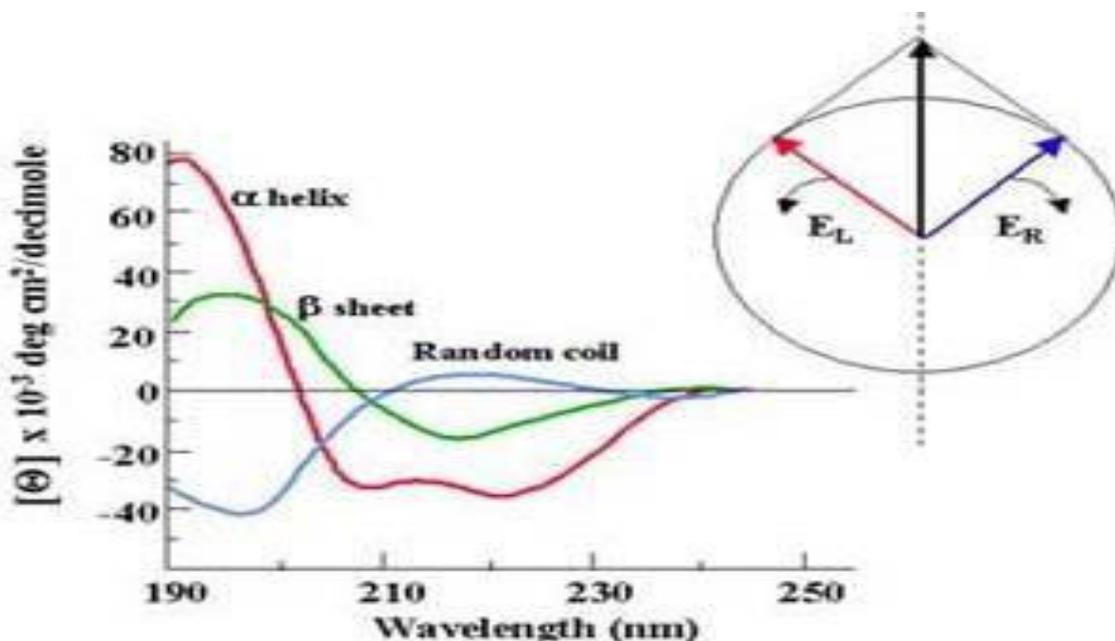
Um medicamento por exemplo, é considerado como uma mistura racêmica. Isto é, não desvia o plano de polarização da luz. Assim como nos medicamentos, o DC se encontra nos alimentos, bem como a celulose dos tecidos e do papel que se utiliza, são formados por várias substâncias que contém átomos de carbonos em posições assimétricas. Todos esses compostos apresentam carbono quirais em suas estruturas cujo pesos moleculares diferentes nas quatro ramificações, geram rotações no sentido dextrógiro ou levógiro, exibindo o DC.

Com a introdução do medicamento no organismo humano, acontece uma reação química complexa resultando na separação dos isômeros, razão que explica o medicamento possui um efeito benéfico e outro efeito colateral, pois se tratam de dois isômeros, onde o primeiro exerce o papel da chave-fechadura e o segundo, não possui esse encaixamento o que provoca reações desagradáveis ao organismo. Dessa maneira, no organismo ocorrem sucessões e enormes reações bioquímicas, nas quais cada substância deve se “encaixar”, com precisão, na molécula reagente seguinte, dando origem a etapas bem definidas da reação global.

Outro fato importante é que muitos dos medicamentos quirais devem conter apenas o antípoda adequado para ter efeitos benéficos no organismo. Nos medicamentos naturais existe, em geral, somente um dos enantiomorfos. Nos medicamentos sintéticos, porém, a tendência é existir a mistura racêmica, pois são difíceis as reações estereoseletivas, isto é, as que levam a apenas um dos isômeros. Além disso, a separação dos isômeros é uma operação cara e complicada, pois os dois isômeros apresentam propriedades física e química semelhante tendo como única diferença a rotação circular para a direita ou para a esquerda.

Stefka Kaloyanova e coautores fizeram uso de espectroscopia *DC* a fim de obter uma visão das alterações das propriedades polinucleotídicas que exibem quiralidade, mudanças conformacionais na sua estrutura secundária e informações úteis sobre os modos de interação (HAN et al., 2015). A figura 4, mostra a exibição de DC de uma substância que apresenta na estrutura carbono quiral, exibindo o desvio do plano de polarização da luz (Cores verde e azul), A cor em vermelho é a diferença de absorção dessas duas rotações (Figura 3).

Figura 3: Representação de DC uma rotação do plano de polarização da luz em moléculas que possuem carbonos quirais.



Fonte: (Matthews & van Holde. (Bioquímica 2ª ed. 1998 McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U.)

Os espectros de DC serão interpretados no estudo de toxinas de algas em que as moléculas em meios dielétricos água, irão exibir variação se houver interação entre a molécula e o meio dielétrico. As toxinas de algas são estruturas moleculares com predominância de carbonos e hidrogênio, com exceção de alguns outros átomos de oxigênio, nitrogênio e fósforo. A presença ascendência de carbono em cada estrutura molecular leva a presença de carbonos quirais com peso moleculares de diferentes valores e que, portanto, ao receberem a luz polarizada, cada uma irá exibir o DC, como será observado nos resultados e discussões desse texto dissertativo.

O fenômeno de DC apenas acontece no intervalo de comprimento de onda do espectro do UV onde a energia incidente é mais intensa para causar a rotação do carbono quiral presente na estrutura das moléculas estudadas, desviando o plano de polarização da luz. Para o intervalo do espectro visível o fenômeno não é observável devido à energia incidente não ser suficiente para causar a rotação no carbono quiral e exibir o fenômeno.

4.3 ULTRAVIOLETA VISÍVEL

Quando a radiação eletromagnética da região ultravioleta (*UV*) passa através de um átomo ou uma molécula que possuam ligações químicas múltiplas, uma parcela da radiação é usualmente absorvida. A quantidade de radiação eletromagnética absorvida depende do comprimento de onda da radiação e da estrutura.

As absorções de energia na região do UV provocam transições eletrônicas. Logo, para que uma molécula possa ser detectada com radiações na região do UV, é necessário que possua elétrons capazes de serem excitados, ou seja, elétrons π ou elétrons livres (não-ligantes). Os elétrons sigma não podem ser excitados, porque a transição de elétrons de uma ligação sigma acarretaria a quebra da ligação e, conseqüentemente, a perda da estrutura característica da mesma.

Nas faixas de energias correspondentes à espectroscopia *UV*, as moléculas sofrem transições eletrônicas, como mencionado acima. Como uma molécula absorve energia, neste caso, a absorção da radiação na faixa do ultravioleta, um elétron é promovido a partir de um orbital ocupado (*HOMO*) para um orbital desocupado (*LUMO*) de maior energia potencial. Este processo é conhecido como transições eletrônicas da molécula. Os elétrons que se encontram mais próximos do núcleo são fortemente ligados a ele e seriam necessários valores de altas energias para que pudessem sofrer transições eletrônicas. Logo, as transições ocorrem para os elétrons de valência, os quais são promovidos de seu estado normal (estado fundamental) para estados de mais alta energia (estado excitado).

Em geral, a transição mais provável é do mais alto orbital molecular ocupado (*HOMO*), para o mais baixo *LUMO*. O *HOMO* é de maior energia e está diretamente relacionado com a capacidade de doar elétrons, podendo ser utilizado para caracterizar o composto como nucleofílico.

A maior ou menor nucleofilicidade estão relacionadas com o menor ou maior valor em módulo, respectivamente. Enquanto que o *LUMO* é o orbital molecular desocupado de mais baixa energia, sendo diretamente relacionado com a capacidade de receber elétrons, indicando a possibilidade de reagir como um eletrófilo. A maior ou menor eletrofilicidade estão relacionadas com o maior ou menor valor em módulo, respectivamente. Estes parâmetros estão relacionados com as regiões ricas ou deficientes em elétrons presentes na estrutura química de um derivado, que podem reagir com radicais livres contendo elétrons desemparelhados.

Numa transição eletrônica a molécula entra em vibração devido as diferentes forças que prevalecem antes e após a transição. Como consequência dessas diferentes intensidades de

forças, a densidade de elétrons aumenta rapidamente em certas regiões e diminui em outras regiões. Como antes da transição os núcleos estavam estacionários, sofrem subitamente ação de um novo campo de forças entrando em vibração e oscilam em torno da posição original.

O espectro de absorção na faixa do ultravioleta é exclusivo de determinadas substâncias e depende dos átomos e moléculas que as compõem, bem como das energias e arranjo espacial. Verifica-se que a absorvância é tanto maior quanto maior for a intensidade da luz absorvida e ocorre sempre que uma dada radiação eletromagnética interage com uma espécie química, pois parte da radiação incidente será absorvida e outra parte transmitida. A técnica de espectroscopia de absorção, refletância e transmitância tem sido muito estudada e seus espectros determinados devido à vantagem de energia absorvida pela molécula possuir um valor característico.

As mudanças no espectro de absorção da molécula em solventes são devidas as diferentes polaridades, à posição, à intensidade e à largura da banda que resultam em interações físicas intermoleculares, soluto-solvente (íon-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo induzido, ligação de hidrogênio, dentre outras), que tendem a alterar a diferença de energia entre o estado fundamental e excitado. Assim sendo, as mudanças observadas nos espectros de absorção podem ser explicadas com base nas forças intermoleculares decorrentes entre as moléculas do solvente com as do soluto, particularmente dos compostos canabinóides com as moléculas do solvente citados.

4.4 DOS

Uma propriedade de grande importância física é a densidade de estados (*DOS*) de um sistema. Ele descreve o número dos estados em cada nível de energia que estão disponíveis para ser ocupado. Um valor de *DOS* elevado em um nível de energia específico significa que há muitos estados disponíveis para a ocupação. O *DOS* é combinado, frequentemente, com a distribuição da probabilidade da ocupação de um estado particular de energia. O produto do *DOS* e da função de distribuição da probabilidade é o número de estados ocupados pelo volume de unidade em uma energia dada para um sistema no equilíbrio térmico. Analisar o fenômeno de *DOS* corresponde num interessante estudo para saber os valores de gaps e assim, verificar os saltos quânticos de um nível para o outro.

A probabilidade nesse caso, é suficiente para explicar as densidades de elétrons que acontecem de uma região para a outra. A nuvem eletrônica pode ser estudada mapeando a região de cada molécula, permitindo estudar as duas regiões em verde e vermelho, como mostra

a Figura 3.

4.5 RAMAN

A espectroscopia Raman é usada para identificar a estrutura química de um material a ser analisado para interpretar por meio da identificação da amostra e verificar se estar ocorrendo perda e ganho de energia na interação da luz com o substrato (DUSTIN, 2017).

Para isso há três modos de avaliação para o substrato considerando que o Raman poderá tirar informações da amostra em questão, uma vez que os fótons da radiação, incidindo na amostra, causam interação por espalhamento elástico chamado de Rayleigh não muito importante, pois não fornece informações sobre a amostra devido os fótons incidentes e emergentes terem a mesma frequência o que faz com que o espectrômetro não consiga mapear e gerar o espectro.

A técnica Raman permite obter a informação química e estrutural de materiais, identificar composto orgânico ou inorgânico. A técnica de Raman é complementar ao IR e este tem regras de seleção diferentes do IR dependendo dos modos vibracionais moleculares. Verifica-se que quando a molécula se encontra no seu estado fundamental, a luz emergida é menor que a luz incidente, pois a molécula recebe a luz incidente e é excitada. Isto é, a molécula absorve energia e fica excitada (FARIA, 1997).

Para o caso da luz emergida ser maior que a incidente significa que a molécula se encontrava num nível vibracional excitado, que ao receber a luz incidente vai para um nível mais alto virtual ou eletrônico e quando a molécula volta, ela volta ao estado fundamental, eletrônico e vibracional (RESNIK, EISBERG, 1979); (ELSEVIER, 1979); (LONG, 1977).

Pode ocorrer quando a luz que emerge é igual a incidente a molécula foi excitada e voltou ao estado fundamental, ou ao estado onde ela se encontrava no início sem haver perda de energia. Esse tipo de radiação sem ganho ou perda de frequência é denominada de espalhamento Rayleigh ou Anti-Stokes. No entanto, a diferença de energia do efeito Raman pode gerar impressão digital dos materiais irradiados, devido a estrutura molecular das amostras absorverem de modo diferente levando a diferentes identificações das amostras.

A espectroscopia pode identificar moléculas em sistemas orgânicos e inorgânicos contribuindo para o estudo de diferentes amostras o que viabiliza o conhecimento das propriedades moleculares. O espectro Raman por espalhamento inelástico é útil porque o espectrômetro identifica o substrato a partir da diferença de energia que ocorre entre o feixe de fótons incidentes e emergentes. Com base na interação ou frequência de vibração é possível identificar e obter informações da geometria molecular do material em estudo.

Para estudar os modos vibracionais moleculares, verificam-se os valores de frequências

que são os pontos chaves para conhecer os diferentes tipos de vibração que a molécula adquire quando interagem com a luz ou com os fótons incidentes. Para valores de altas energias, as simulações realizadas com moléculas de algas, a saber SAX ou derivados, apresentam vibrações moleculares em vibrações de estiramentos e para baixa frequência, rotação, tesoura, torção ou balanço (CHANDRASEKHARA, 1928).

O programa computacional é capaz de identificar as diferentes frequências Raman, mapeando as regiões das moléculas que vibra com determinada frequência. No entanto para visualizar esses grupos de moléculas e identificar os tipos de vibrações, primeiramente, deve-se submeter a molécula a uma simulação de modelagem molecular após levar ela a uma minimização de energia, deixando-a numa estrutura molecular estável. Com base nesse critério, pode-se utilizar o programa Gaussian 09W e obter os espectros para verificar os tipos de vibrações moleculares.

Dessa maneira, pode-se verificar que valores de altas frequências, por exemplo 3.000cm^{-1} , os grupos CH_2 , CH , etc. podem possuir vibrações por estiramento simétrico ou assimétrico. No entanto, para valores de deslocamento Raman de baixa frequência, saber em torno de 1250cm^{-1} , podem haver vibrações de tesoura, balanço, torção e rotação. Assim sendo a espectroscopia Raman pode ser útil para estudar as estruturas moleculares e sua identificação, bem como conhecer os modos vibracionais. A próxima seção irá abordar com maiores detalhes os modos vibracionais de toxinas de algas, bem como estudar os outros espectros, como DOS, UV-Vis e DC.

4.6 INFRAVERMELHO

O IR é a região espectral relacionada com a faixa de comprimento de onda do espectro eletromagnético superior à região do visível que pode ser subdividida em três IR próximo (NIR), médio (MID) e distante (FAR) nessas regiões acontecem alterações nos modos vibracionais das moléculas denominadas deformação axial, estiramento simétrico ou assimétrico e angular que são equivalentes no plano e fora dele, porém apenas as vibrações que causam alterações apresentam absorção no IR, sendo as de estiramento mais intensas do que as angulares (SALA, 2008). Os espectros de IR apresentam informações sobre a organização dos compostos químicos, permitindo uma análise qualitativa de compostos orgânicos que provocam o aparecimento de bandas no espectro IR em frequências específicas devido a presença de grupos funcionais próximos (BARBOSA, 2008).

Verifica-se que a região do espectro eletromagnético em que acontece as vibrações moleculares angulares e de estiramento está no intervalo de energia que vai de 0.01eV a 2eV. Nesse caso, o comprimento de onda previsto pela equação que representa energia do fóton. Nesse caso, verifica-se após o cálculo que o comprimento de onda para esse intervalo de energia é dado pelo intervalo de 1.10^6Å e 7000Å . São nesses intervalos de energia que acontecem as vibrações de compostos moleculares por deformação, pois o IR (próximo) está inserido no intervalo de comprimento de onda 0,8 – 2,0 onde ocorre a deformação; no de comprimento de onda de 2,0 - 15 μm médio, também acontece a deformação de vibração e no IR (distante) que está no intervalo de 16,0 – 300 μm existe ainda a deformação. No entanto, cada deformação acontece de maneira diferentes, pois a energia do fóton incidente no composto, emite intensidade de energia diferente, influenciando na deformação molecular. Para o caso das toxicinas de algas estudadas neste trabalho que podem dar uma visão mais geral do tipo de deformação que cada composto molecular pode ter (Figura 5).

O IR próximo ocorre no intervalo de 400 a 12.800 cm^{-1} , no entanto, das duas moléculas de algas (ANA-A e SAX), não exibe esses valores, pois apenas considerou o intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} . No entanto, ressalta-se que para o IR próximo corresponde as regiões que geram sobreposições de bandas, além das bandas combinatórias de vibrações fundamentais e são bandas que possuem valores de frequência que é múltiplos inteiros das vibrações normais com combinação que correspondem às linearidades das frequências normais ou de múltiplos inteiros (ROHMAN, MAN, 2010).

As bandas de combinação acontecem quando duas frequências vibracionais, acopladas na molécula, origina vibração de nova frequência no interior da mesma (PASQUINI, 2003). No entanto é na região do IR próximo e médio que pode ocorrer as múltiplas transições vibracionais provocando variação do momento de dipolo nas moléculas, sem que aja transições eletrônicas (KELLNER et al., 2004). Pois a radiação eletromagnética (absorção, reflexão e espalhamento), ao interagir com a molécula, constituem-se nas características dos átomos presentes nas moléculas, assim como a região do espectro envolvido constitui-se na identificação dos compostos (ARAUJO, 2007). O espectro de IR apresenta, em geral, mais informação do que valores de posição ou de absorção que atuam como uma impressão digital de uma dada amostra quando utilizada na íntegra (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014).

CAPÍTULO 5

ESPECROS UV-Vis, DOS, DC, RAMAN E IR DAS TOXINAS DE ALGAS

A geometria estável de cada molécula de toxina de algas, possibilitou com o uso do funcional B3lyp com base $6-311++G(d, p)$ possibilitou a simulação computacional de mecânica molecular das moléculas de algas e obtenção dos espectros UV-Vis, DOS, DC, IR e Raman, como será abordado nesse capítulo.

5.1 METODOLOGIA

Neste trabalho, utiliza-se o software Gaussian 09W para obter os modos vibracionais de toxinas de algas para compreender os grupos funcionais excitados com a interação da luz com as moléculas de algas. O uso de modelagem molecular são importantes ferramentas computacionais para obtenção dos espectros de absorção UV-Vis, DOS, DC, IR e Raman cujos espectros foram avaliados no solvente a água como referência. O método computacional utilizado para o cálculo teórico de minimização de energia corresponde a mecânica molecular $MM+$, seguido pelo método semi-empírico $PM3$ (Terceira Parametrização) utilizando o software *HyperChem 7.5*.

A análise conformacional foi realizada a partir do funcionalmente $B3lyp/6-311++G(d, p)$, empregado tanto na otimização da geometria quanto nos cálculos de espectrometria UV, DOS e DC.

Realizados para essa simulação, os pacotes computacionais *Gaussian 09W*, referente ao nível de cálculo $B3lyp/6-311++G(d, p)$ para estudar as moléculas ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX em solventes: água. Para realizar a simulação considerando nível funcional B3lyp com base $6-311++G(d, p)$, buscou, primeiramente, fazer a minimização energética para conseguir obter a estrutura molecular mais estável de cada uma das toxinas e a partir da geometria molecular otimizada, aplicou o método semi empírico $PM3$. A geometria obtida pelo método de $MP3$ foi refinada com um nível funcional B3lyp com base $6-311++G(d, p)$ supracitado e a matriz Z serviu de entrada para simular o espectro de absorção, analisados por ZINDO/S-C e método TD-DFT em um nível funcional B3lyp com a base definida $6-311++G(d, p)$. Assim sendo, caracterizam-se, com técnicas de espectrometria, as moléculas de toxinas de algas (ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX).

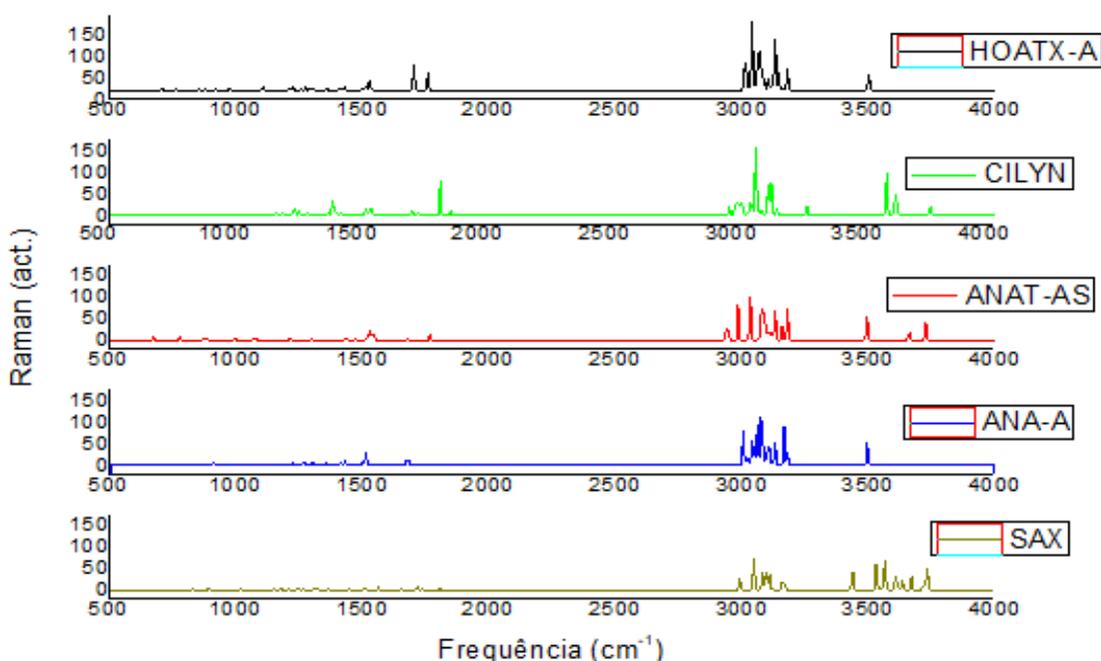
Considerando uma teoria relacionada a modelagem molecular com a utilização de B3lyp que representa a Combinação linear exata do funcional de troca de Hartree-Fock. A base $6-311++G(d,p)$ representa o Funcional híbrido para otimização da geometria e cálculos de espectrometria, em que $311++G(d,p)$ é o Conjunto de bases (Gaussian 09W, 2009) para ter maior probabilidade de verificação teórica em comparação com dados experimentais.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.2.1 Modos vibracionais das toxinas de algas do Raman

Torna-se interessante investigar em que região do espectro eletromagnético as moléculas apresentam os graus de liberdade previstos pela mecânica quântica e em que frequência de radiação elas podem vibrar de diferentes maneiras, apresentando-se nas vibrações de torção, balanço, rotação, tesoura, estiramento simétrico e assimétrico. Torna-se importante avaliar esses modos vibracionais numa determinada faixa de comprimento de onda ou deslocamento Raman a fim de identificar os valores de energia quantizada que a molécula recebe e exibe determinado modo vibracional (Figura 4).

Figura 4: Regiões de deformação e estiramento.



Fonte: Própria do autor.

Na espectroscopia Raman e, as moléculas apresentam vibração por estiramento simétrico e assimétrico e, para frequência acima mais baixa, acontece predominância de vibrações por rotação, tesoura, balanço e torção, como mostra a Tabela 3. Um fato curioso no IR é que nas altas frequências, assim como foi observado no Raman, as vibrações são sempre de estiramento assimétrico ou simétrico e que para as mais baixas frequências, as vibrações moleculares são de deformações. No entanto, vale salientar que há sempre uma discrepância nos valores de energia absorvida no Raman e no IR.

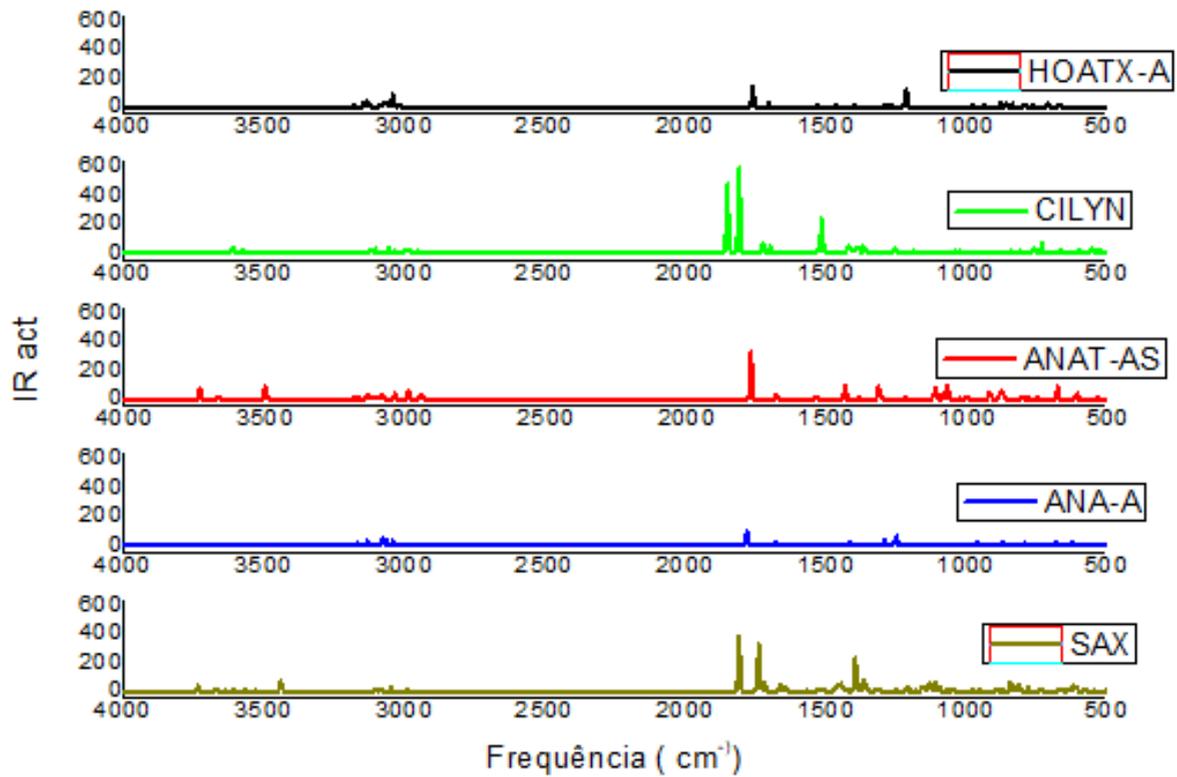
No entanto, a espectroscopia Raman pode ser utilizada para compreender o espectro vibracional, o espectro rotacional e outros modos de baixas frequências em um sistema, tem seu fundamento na espectroscopia por dispersão inelástica, ou dispersão Raman da luz de só frequência (monocromática), proveniente de um laser no visível, IR próximo, ou ainda localizado na faixa espectral do ultravioleta próximo. Nesse caso, como é mostrado na Figura 3 supracitada, as toxinas de algas apresentam diferentes modos vibracionais, com deformações moleculares ou de estiramento em função do comprimento de onda ou da frequência específica.

5.2.2 Modos vibracionais das toxinas de algas na região no IR

De acordo com o Figura 5 verifica-se que entre os valores de 2000 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} as moléculas ANA-A e SAX não tiveram deformações, pois apesar da incidência de fótons, as moléculas receberam energia não quantizadas e, portanto, não exibiram nenhum espectro IR nesses intervalos.

As regiões de 0 a 2000 cm^{-1} houve vibrações por deformações com quantização de energia suficiente para exibição de espectro por IR. Nesse ponto, vale considerar que o IR médio acontece no intervalo de 200 a 4000 cm^{-1} , originando espectros de vibrações fundamentais. A Figura 5 mostra os espectros IR das toxinas de algas (Figura 5).

Figura 5: Espectros IR.



Fonte: Própria do autor.

Cada molécula de toxina exibe modo vibracional que acontece numa determinada frequência, bem como os grupos funcionais em que vibram com frequência específica, saber, vibração do tipo de deformação, de estiramento simétrico ou assimétrico, deformação, de estiramento simétrico ou assimétrico. Na subseção seguinte, mostram-se os valores de frequências, atividades IR e Raman com que cada molécula vibra, considerando os grupos funcionais em que acontecem as vibrações.

5.2.3 Atividades IR e Raman de moléculas de toxinas de algas

Nessas tabelas são verificados os modos vibracionais nas diferentes frequências, bem como as atividades no IR e Raman de cada uma das toxinas de algas (Tabela 3).

Tabela 3: Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de ANA-A.

Frequência	Atividade IR	Atividade RAMAN	Modos Vibracionais Grupo Molecular
3048,7822	3,2361	93,8589	Estiramento simétrico, CH_3
3071,1499	39,0751	64,3637	Estiramento simétrico, CH_2 ; CH_2
3107,3256	7,5596	49,0928	Estiramento assimétrico, CH_2 ; CH_2 ; CH_3
3129,1722	46,9471	76,5411	Estiramento assimétrico, CH_2 ; CH_2
3165,7571	13,6809	99,4407	Estiramento simétrico-assimétrico CH_3
1.541,2700	5,7506	6,9450	Tesoura $CH_2-CH_2 - CH_2$
867,0800	55,2597	1,0184	Rotação, $CH_2-CH_2 - CH_2$
1.265,0900	6,0737	9,9595	Torção, $CH_2-CH_2 - CH_2 - CH_2$

Fonte: Própria do autor.

Tabela 4: Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de ANA-AS.

Frequência	Atividade IR	Atividade RAMAN	Modos Vibracionais Grupo Molecular
3.660,58	79,9408	89,7518	Estiramento simétrico e assimétrico, H_2O , H_2O
3.493,42	182,2397	116,0020	Estiramento simétrico, H_2O
3.180,24	16,1570	99,8242	Estiramento simétrico e assimétrico, CH_3 ; CH_3
3.090,42	22,7147	162,7703	Estiramento simétrico e assimétrico, CH_2 ; CH_3
1.470,32	1,7417	13,0038	Tesoura e balanço, CH_3 ; CH_3
1.528,12	17,0320	12,9262	Tesoura, CH_3
247,34	0,9404	0,3403	Torção, CH_3 ; CH_2 ;
741,33	33,4499	20,9854	Tesoura e balanço, H_2O ; CH_2

Fonte: Própria do autor.

Tabela 5: Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de HOATX-A.

Frequência	Atividade IR	Atividade RAMAN	Modos Vibracionais Grupo Molecular
3.072,18	43,3026	103,3848	Estiramento assimétrico, CH_2
3.083,88	33,7777	120,7566	Estiramento Simétrico, CH_2
3.103,70	3,2025	51,2335	Estiramento assimétrico, CH_2
3.120,94	8,4845	53,7566	Estiramento assimétrico; CH_2
1.405,65	1,2297	6,2237	Balanço, CH_2
1.287,09	7,8934	4,4201	Torção, CH_2
1.506,62	1,2297	6,2237	Tesoura, CH_2
483,99	6,3090	1,2767	Rotação, CH_2

Fonte: Própria do autor.

Tabela 6: Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de CYLIN.

Frequência	Atividade IR	Atividade RAMAN	Modos Vibracionais Grupo Molecular
3.076,99	29,5853	47,1775	Estiramento assimétrico, CH_2
3.055,98	34,4776	125,2117	Estiramento Simétrico, CH_2
3.030,00	36,3912	57,8011	Estiramento Simétrico. CH_2
3.139,98	18,5689	39,8677	Estiramento assimétrico e simétrico, CH_3 ; CH_3
1.509,65	241,7026	4,6050	Tesoura, CH_2
1.021,52	36,9960	2,7426	Torção, CH_3
1.427,47	13,5087	8,3655	Balanço, CH_2
1.526,00	9,7653	17,3907	Tesoura e Torção, CH_3 ; CH_3

Fonte: Própria do autor.

Tabela 7: Vibrações de moléculas de algas na espectroscopia Raman de SAX.

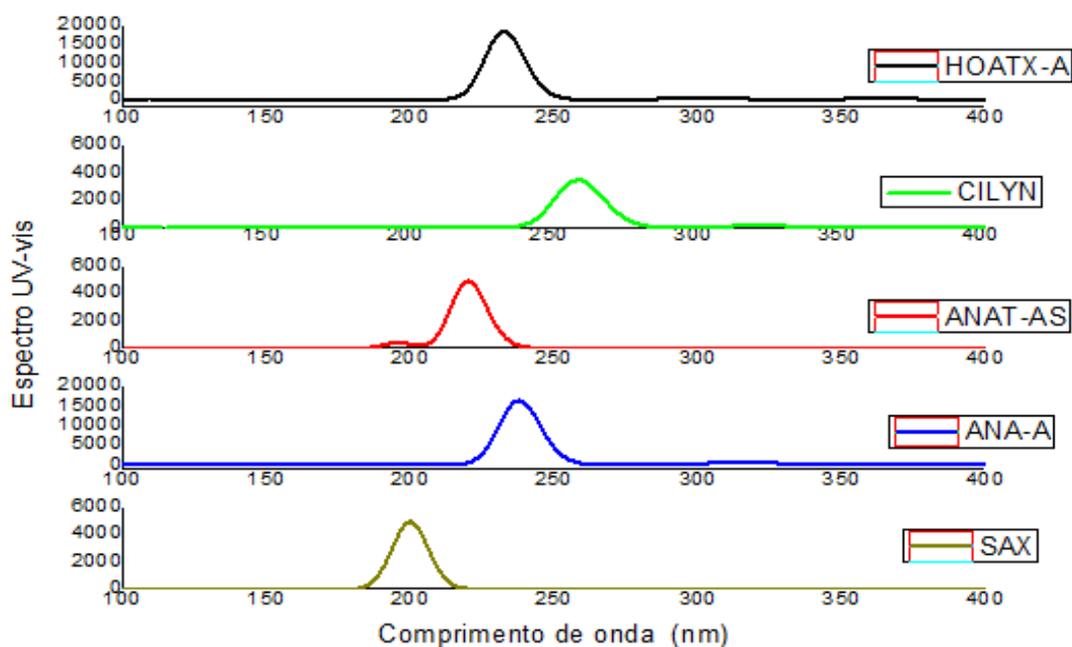
Frequência	Atividade IR	Atividade RAMAN	Modos Vibracionais Grupo Molecular
3.168,34	7,6269	49,4329	Estiramento assimétrico, CH_2
3.161,00	12,5253	79,6766	Estiramento assimétrico, CH_2
3.106,80	16,3503	131,2871	Estiramento simétrico, CH_2
3.096,87	30,1560	85,3030	Estiramento simétrico, CH_2
1.864,25	404,2388	8,1001	Tesoura, CH_2
1.456,31	163,5384	3,1314	Balanço, CH_2
1.353,74	144,5002	7,1857	Torção, CH_2
1.090,99	77,9357	3,3534	Balanço e Torção, CH_2 ; CH_2

Fonte: Própria do autor.

5.2.2 Espectros UV-Vis

A Figura 6 mostra as absorções das moléculas de ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX- A e SAX, verifica-se que esses raios não contribuem para os picos de absorções das toxinas, pois apresentam baixa energia por apresentarem maiores comprimentos de onda e contribuem bem pouco para excitar as toxinas de algas. Os raios UVB que estão na faixa de comprimento de onda de 280nm a 315nm apresentam energia mais intensa em relação as da faixa do UVA, mas contribuem bem pouco para excitação das moléculas das toxinas, pois não absorvem em picos maiores, com exceção apenas da molécula de CYLIN que possui um pico próximo dos 280nm (Figura 6).

Figura 6: Espectros UV-Vis.



Fonte: Própria do autor.

Analisando os espectros de UV das toxinas das algas, verifica-se que apenas os raios UVC são os responsáveis majoritários para excitação das moléculas toxinas de algas, uma vez que estão na faixa de 175nm a 280nm. No entanto, vale considerar que essas toxinas, apesar de receberem energia na faixa do UVC, não condiz com a realidade, tendo em vista que esses raios são detidos pela camada de O₃ e, nesse caso, como podem excitar as moléculas de toxinas nesse intervalo de comprimento de onda.

Para explicar essa indagação, é preciso entender que as análises espectrais para essas moléculas representam resultados teóricos e, nesse caso, o procedimento apenas seria possível se, de alguma forma, a fonte possível acionasse uma fonte de luz que exibisse comprimento de onda nessa faixa. No entanto, a SAX exibe espectro de UV na faixa de 300nm a 350nm e, nesse caso, essa interação seria possível, pois a luz solar propaga os raios nessas faixas de comprimento de onda e os picos de absorções são relativamente pequenos em comparação com aquela que acontece na faixa de 175nm a 280nm.

Tendo em vista o espectro do UV-Vis, pode-se construir a tabela dos estados excitados para cada uma das toxinas de algas (Tabela 8). Conforme a análise verificada nos modos vibracionais das moléculas de toxinas, verificou-se que para altas frequências os modos vibracionais podem ser de estiramento simétrico e assimétrico. Para explicar, a razão desses tipos

de vibrações nessas regiões é devido à absorção energética pela molécula ser considerada alta.

Tabela 8: Estados excitados obtidos do espectro do UV-Vis.

TOXINAS	ENERGIA DOS ESTADOS EXCITADOS (cm⁻¹)	COMPRIMENTOS DE ONDAS (nm)
ANA-A	28.760,31	347,70
	31.954,29	312,95
	42.125,82	237,39
ANAT-AS	43.751,04	228,57
	45.519,02	219,69
	51.206,88	195,29
CYLIN	31150,15	321,03
	38751,17	258,06
	39005,24	256,38
HOATX-A	27.605,32	362,25
	33.220,51	301,02
	43.064,65	232,21
SAX	48.971,90	204,12
	50.313,21	198,75
	52.129,59	191,83

Fonte: Própria do autor.

5.2.3 Análise UV-Vis

A pesquisa de Adilson Alves Moreira (MOREIRA, 2005) e teve como tema métodos analíticos para quantificação de cianotoxinas em reservatórios que utilizam água para abastecimento público. A razão que levou ao desenvolvimento da pesquisa, foi devido à presença de cianobactérias e cianotoxinas em diversos mananciais, e aos seus efeitos deletérios sobre a saúde humana, à vida e ao meio ambiente, buscando-se confirmar a presença das variantes de cianotoxinas mais comumente encontradas, relatadas e elucidadas pela pesquisa científica, como microcistinas, cilindrospermopsina e as saxitoxinas.

A análise do espectro de UV-Vis da molécula cilindrospermopsina na pesquisa do autor exibiu atividade na região de 240 nm a 280 nm, mostrando a presença de rotação da luz

polarizada com predominância levogira, de modo análogo como aconteceu com a mesma molécula realizada com a pesquisa teórica para fazer uma comparação teórica com o experimental, deve-se utilizar a seguinte expressão:

$$D = \frac{|V_{RE}-V_{TE}|}{V_{RE}} \quad . \quad (28)$$

Onde: D mede o erro ou desvio entre o valor real de comprimento de onda (V_{RE}) e valor teórico de comprimento de (V_{TE}). Ou seja, mede o desvio em relação ao valor experimental. O objetivo em utilizar a expressão dada é para avaliar o quanto o resultado teórico deve estar próximo do experimental.

$$V_{TE} = 261,25 \text{ .}$$

Para o valor teórico observado para a CILYN. O valor experimental da pesquisa de Adilson, verifica-se que $V_{RE} = 262,5 \text{ nm}$. Levando esses valores na expressão (28), obtém-se o percentual de desvio (D) em relação ao comprimento de onda.

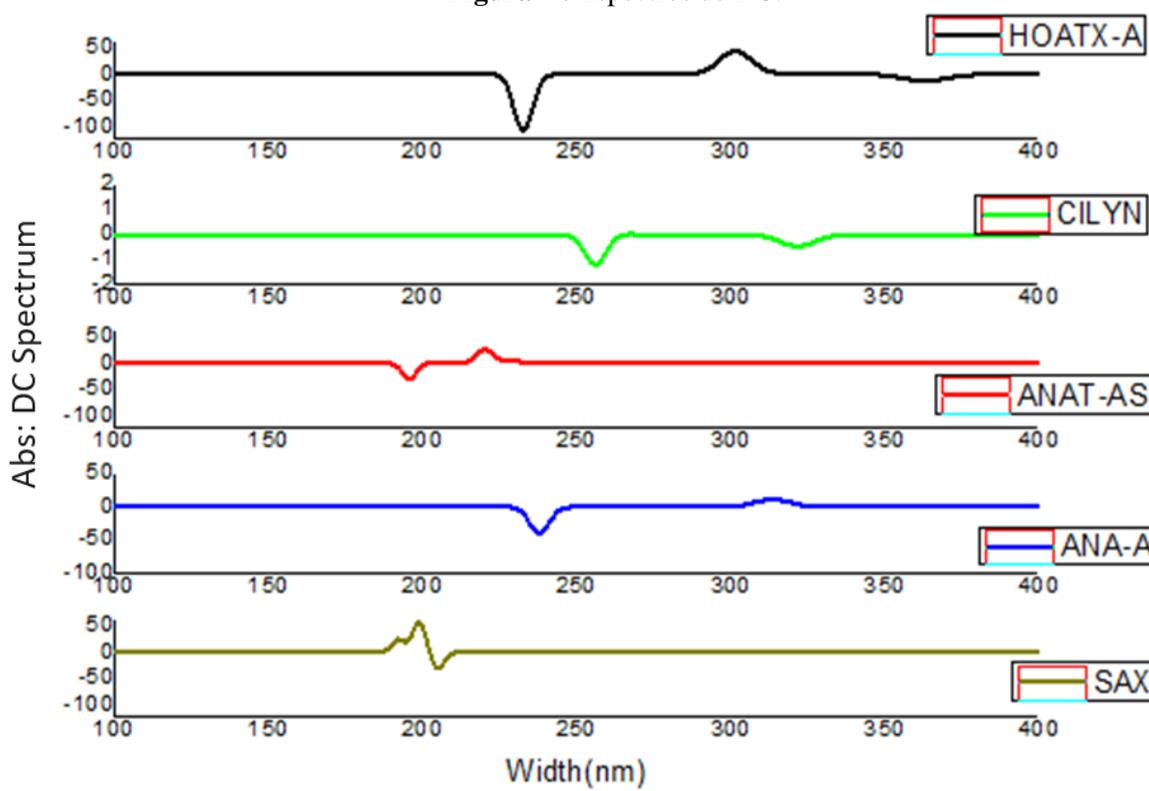
$$D = \frac{|262,5-261,25|}{262,5} = 0,0048.$$

O que mostra que existe um desvio de cerca de 0,5 % para mais ou para menos para que o teórico seja equivalente ao resultado experimental.

5.2.4 Espectros DC

É possível verificar o desvio do plano de polarização da luz em moléculas de toxinas de algas imersas em solventes de água, calculado no software Gaussian 09W para analisar o fenômeno de DC. O desvio do plano de polarização da luz, como será observado, depende do meio em que está imerso a molécula. Observa-se a ocorrência de desvio para cada molécula de toxina (Figura 7).

Figura 7: Espectros de DC.



Fonte: Própria do Autor.

Para a ANA-A, sabe-se que a Figura 7 mostra o DC para as toxinas de algas. Verifica-se que o intervalo de comprimento de onda da ANA-A (na cor azul) possui um intervalo de comprimento de onda que vai de 225nm a 250nm. Nesse intervalo, a molécula gira no sentido dextrogiros com intervalo de energia da ordem de 5,53 eV a 4,97 eV.

Valores de energia para a ANA-A que, nesse caso é suficiente para rotacionar a estrutura molecular e exibir o DC na região de comprimento de onda considerado. Esse mesmo raciocínio pode ser expandido para as outras moléculas e obter a tabela de energia e comprimento de onda conforme as absorções destas toxinas. Porém, para melhor compreender esses resultados, entende-se que o DC está ligado a carbono quiral que apresenta em suas ligações: quatro grupos de peso molecular diferente e que ao receber a luz, a molécula pode rotacionar no sentido levógiro ou dextrógiro. A diferença de absorção resulta na rotação da molécula num ou num outro sentido. Assim sendo, pode-se verificar com base na Tabela 8 na subseção anterior, como cada molécula de alga pode rotacionar ao absorver o intervalo de intensidade de energia.

A ANA-A que para o intervalo de comprimento de onda 225nm a 250nm, possui uma variação de energia de 5,53eV a 4,97eV e quando recebe essa energia, a molécula possui uma rotação no sentido dextrogiro. Para o intervalo de comprimento de onda de 300nm a 325nm, a variação de energia acontece nos valores de 3,83eV a 3,55eV e, nesse caso, verifica-se que a molécula possui uma rotação no sentido levogiro, como pode ser verificado na Figura 7.

De modo análogo, pode-se fazer para outras moléculas como foi feito para a ANA-A. A razão que leva a rotação do plano de polarização da luz para a esquerda ou direita, exibindo o dicroísmo circular no intervalo de comprimento de onda e intervalo de energia como foi descrito na Tabela 8, verifica-se que essas moléculas podem se comportarem de maneira simétrica e assimétrica. Isto é, quando a SAX desvia circularmente o plano de polarização da luz para a direita no intervalo de comprimento de onda de 175nm a 200nm, a ANA-A desvia circularmente, o plano de polarização da luz para a esquerda. Nesse caso, diz-se que a molécula SAX é simétrica em relação à ANA-A ou vice-versa e são consideradas enantiômeros. De modo análogo, pode verificar para as outras moléculas.

O maior ângulo de desvio observado acontece entre os comprimentos de onda de 225 nm a 250 nm para a molécula de HOATX-A que desvia, acentuadamente, o plano de polarização da luz para a esquerda, possuindo uma variação de energia que vai de 5,53 eV a 4,97 eV. O que se pode concluir com esses resultados é que essas moléculas de toxinas de algas são consideradas opticamente ativas, razão que explica o fenômeno de DC para elas. Para os intervalos de comprimento de onda em que não se observa o fenômeno de DC, como para os comprimentos de onda de 150nm a 175nm, 250nm a 275nm e acima dos 375nm. Para esses intervalos, as moléculas não são opticamente ativas, não desviando o plano de polarização da luz para nenhum sentido e, portanto, na solvente água, podem ser consideradas como uma mistura racêmica.

Os espectros DC mostram que as moléculas de toxinas de algas em meio dielétrico, água, exibem variação no plano de polarização da luz quando acontece interação entre a molécula e o meio dielétrico. Todas as estruturas moleculares observadas apresentam carbonos com presença de oxigênio, nitrogênio e hidrogênio e neste caso, dependendo do valor da constante dielétrica, podem ser consideradas apolares ou polares e assim sendo, irão exibir *DC* de maneira diferente, como foi observado e a exibição de DC é proveniente dessas moléculas apresentarem em suas estruturas carbonos quirais, caso contrário, a não haveria rotação do plano de polarização da luz.

Considera-se ainda nessa discussão que quando maior for o desvio do plano de polarização da luz, dependendo da estrutura molecular, quanto maior será a energia absorvida para rotacionar a molécula, pois o fenômeno de *DC* acontece no intervalo de comprimento de onda do espectro do UV onde a energia incidente é mais intensa para causar a rotação do carbono quiral presente na estrutura das moléculas de toxinas de algas, desviando o plano de polarização da luz. Assim sendo, observando a Tabela 3, verifica-se que os comprimentos de onda próximos do visível apresentam baixa energia incidente, o que implica na possibilidade de não rotacionar os carbonos quirais na molécula.

5.3 DOS

Uma propriedade de grande importância física é a *DOS* de um sistema. Ele descreve o número dos estados em cada nível de energia que estão disponíveis para ser ocupado. Um valor elevado de *DOS* em um nível de energia específico significa que há muitos estados disponíveis para a ocupação. O *DOS* é combinado, frequentemente, com a distribuição da probabilidade da ocupação de um estado particular de energia. O produto do *DOS* e da função de distribuição da probabilidade é o número de estados ocupados pelo volume de unidade em uma energia dada para um sistema no equilíbrio térmico.

A Tabela 9 representa os valores dos comprimentos de ondas, da força do oscilador e das maiores contribuições relativas aos solventes em meio às moléculas. Os valores dos comprimentos de ondas são correspondentes aos picos de absorção. A tabela (tabela 9) a seguir representa os valores percentuais de maior e menor contribuição relativas a cada molécula de algas. As probabilidades de ocorrência de transições eletrônicas do *HOMO* para o *LUMO* são, também, dadas entre parênteses. Nessa Tabela 9, verifica-se que as moléculas ANAT-AS têm a maior contribuição (94%) em relação a outras moléculas.

Tabela 9: Contribuições do HOMO E LUMO.

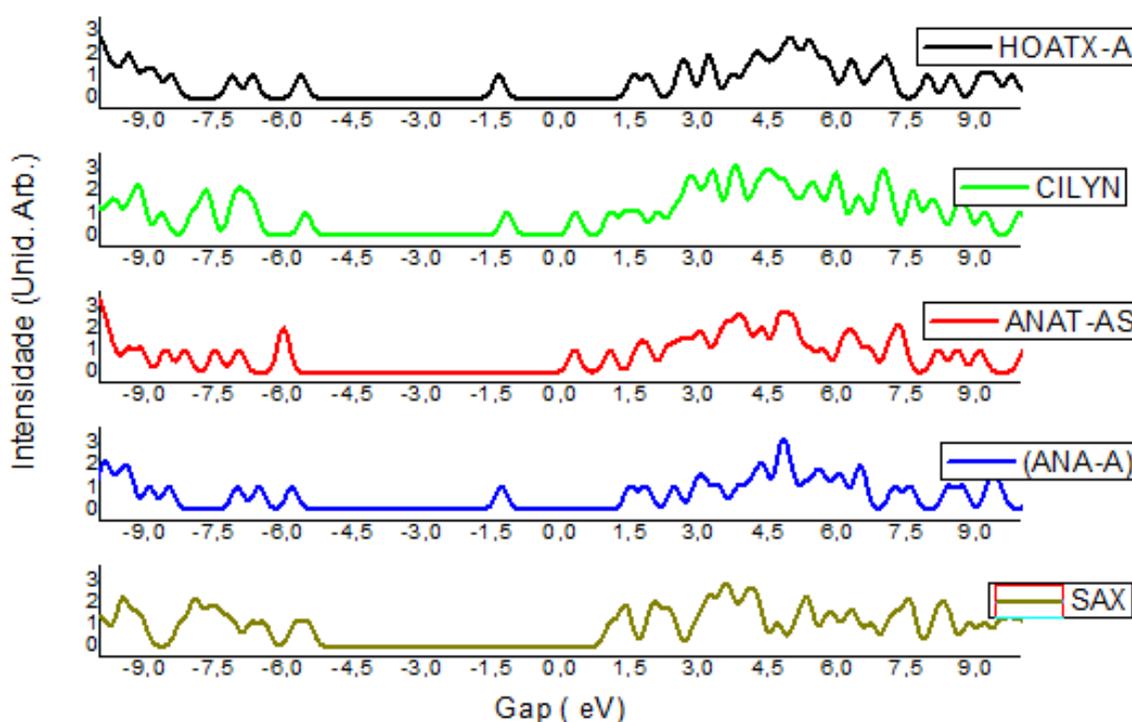
Moléculas de Algas	Maior Contribuição	Menor Contribuição
ANA-A	HOMO->LUMO (77%)	H-1->LUMO (24%), H-2->LUMO (18%) e HOMO->LUMO (74%)
	H-2->LUMO (18%); HOMO->LUMO (23%)	H-1->LUMO (57%), H-1->LUMO (24%)
	H-2->LUMO (77%)	H-1->LUMO (17%), HOMO->LUMO (2%)
ANAT-AS	HOMO->LUMO (94%)	H-1->LUMO (4%)
	H-1->LUMO (83%)	H-1->L+2 (3%), HOMO->LUMO (5%)
	H-2->LUMO (80%)	H-1->L+2 (9%)
CYLIN	HOMO->LUMO (100%)	-----
	H-1->LUMO (91%)	H-2->LUMO (7%)
	H-4->LUMO (93%)	-7->LUMO (2%), H-4->L+1 (3%)
HOATX-A	H-1->LUMO (14%)	HOMO->LUMO (85%)
	H-2->LUMO (21%)	H-1->LUMO (63%), HOMO->LUMO (13%)
	H-2->LUMO (72%)	H-1->LUMO (21%)
SAX	HOMO->LUMO (26%), HOMO->L+1 (40%), HOMO->L+2 (11%)	H-1->LUMO (4%), H-1->L+1 (7%), H-1->L+2 (3%)
	HOMO->LUMO (56%), HOMO->L+1 (33%)	H-1->L+1 (3%), HOMO->L+2 (2%)
	HOMO->L+1 (21%), HOMO->L+2 (65%)	H-1->LUMO (9%), HOMO->LUMO (3%)

Fonte: Própria do autor.

Verifica-se que, segundo a Tabela 6, cada toxina de alga apresenta uma maior ou menor contribuição para ser possível haver a transição eletrônica e, nesse caso, o percentual possível para acontecer essa transição depende da energia de transição ou energia de gap.

No caso da transição da maior contribuição do HOMO->LUMO a possibilidade é de 74% e para a menor contribuição de 24% H-1->LUMO. Isto significa que a energia de gap para acontecer uma transição de H-1->LUMO é maior em relação àquela do HOMO->LUMO. Assim sendo, a banda de transição, como mostra a Tabela 9, possui probabilidade, probabilidade de ocorrência. No entanto, os estados mais acessíveis para acontecer as transições são sempre aqueles de maior probabilidade. No caso da ANAT-AS, tem-se do HOMO->LUMO (94%) e para a Cilindrospermopsina, tem-se HOMO->LUMO (100%) e de modo análogo, pode-se analisar para as outras toxinas. A Figura 8 mostra que a energia do gap é tanto maior quanto maior for a distância entre os orbitais.

Figura 8: Espectros DOS.



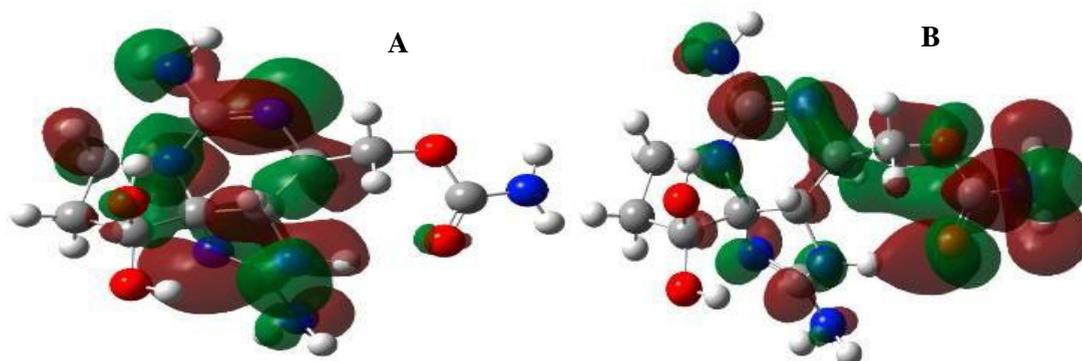
Fonte: Própria do autor.

5.4 DOS DAS TOXINAS E TRANSIÇÃO ELETRÔNICA

O DOS de um sistema busca visualizar o número de estados quânticos disponíveis inseridos numa faixa de energia e com base na espectroscopia entre a interação da luz com a molécula de toxina, procurando do ponto de vista geométrico e com o auxílio da modelagem molecular analisar os elétrons de radiação ultravioleta cuja energia provoca em cada molécula um arranjo de elétrons das camadas mais externas e com isso, descrever como acontece a nuvem de elétrons na região do HOMO e LUMO como se pode verificar nas Figuras 8, 9, 10, 11e 12.

5.4.1 Transição do HOMO para o LUMO da ANA-A

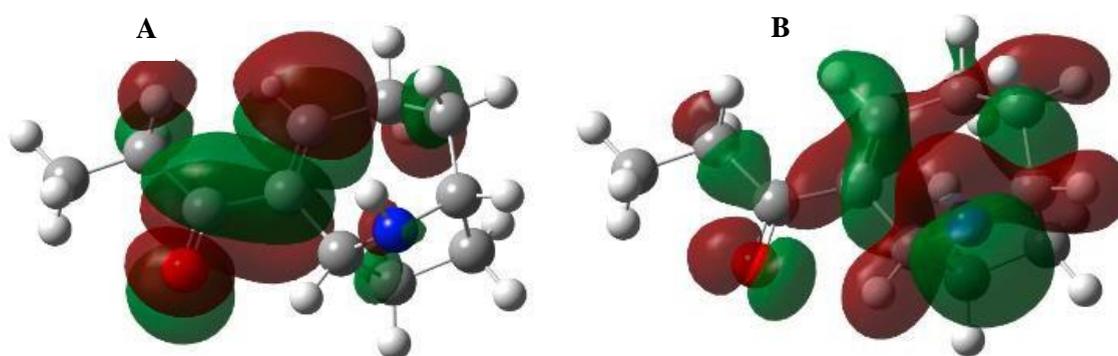
Figura 9: Transição do A) HOMO para o B) LUMO da ANA-A de $\text{gap} \cong 5\text{eV}$.



Fonte: Própria do autor.

5.4.2 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da ANAT-AS

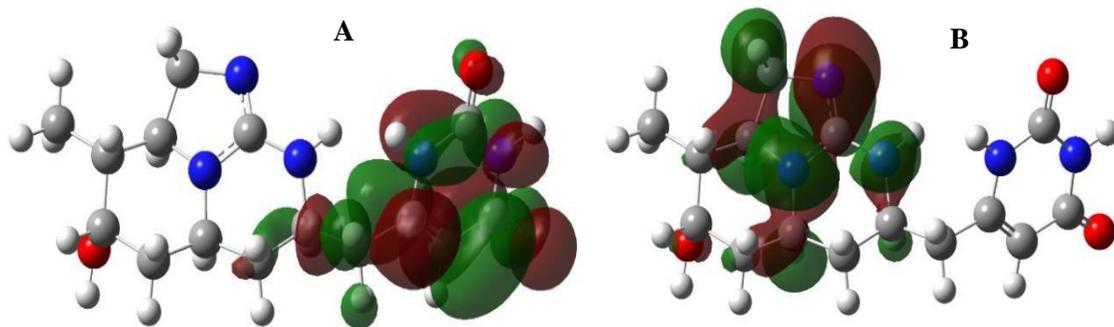
Figura 10: Transição do A) HOMO para o B) LUMO de ANAT-AS de $\text{gap} \cong 5\text{eV}$.



Fonte: Própria do autor.

5.4.3 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da CYLIN

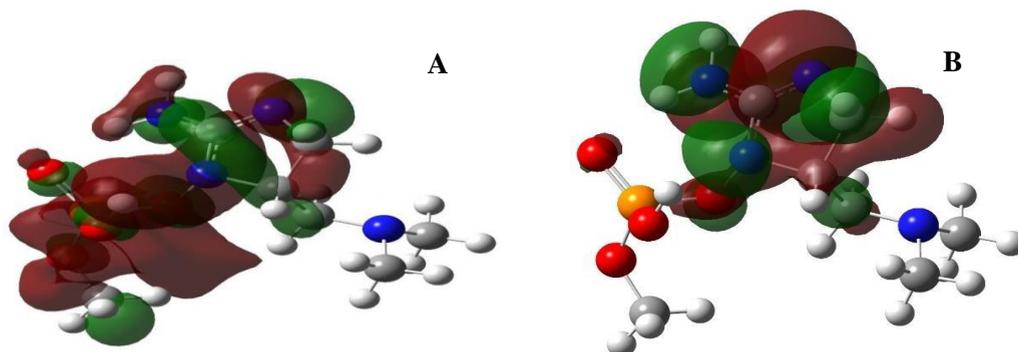
Figura 11: Transição do A) HOMO para o B) LUMO do CYLIN de $\text{gap} \cong 5eV$.



Fonte: Própria do autor.

5.4.4 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da HOATX-A

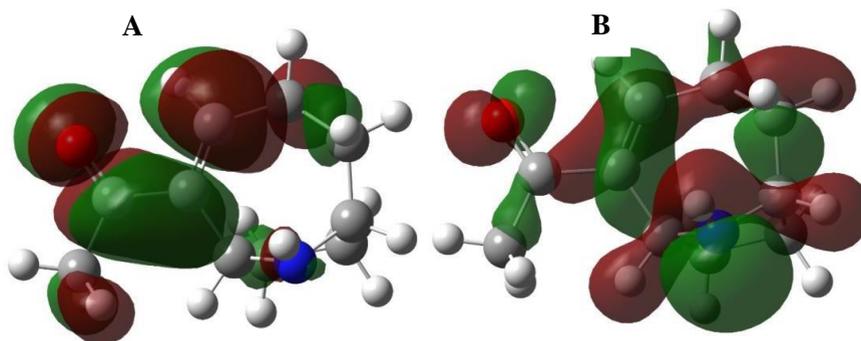
Figura 12: Transição do A) HOMO para o B) LUMO da HOATX-A de $\text{gap} \cong 5eV$.



Fonte: Próprio do autor.

5.4.5 Transição eletrônica do HOMO para o LUMO da SAX

Figura 13: Transição do (A) HOMO para o (B) LUMO para SAX de $\text{gap} \cong 5eV$.



Fonte: Próprio do autor.

A transição eletrônica do HOMO para o LUMO tem um gap de valor próximo de 5,0eV como mostra a Figura 7. Observa-se que existe uma concentração da nuvem eletrônica com predominância para a parte central da molécula e que, após a transição, existe um deslocamento da nuvem eletrônica para a extremidade direita da molécula. No orbital HOMO, verifica-se que a molécula está polarizada, tendo uma predominância de carga negativa. Isso mostra que, no meio da água, essa molécula pode se ligar a outros radicais por ser reagente. Verifica-se que a molécula, ao receber energia de valor 5,0eV, sofre rotação, mudando sua geometria molecular e conseqüentemente, tornando-se polarizável.

Nesse sentido, os gaps assumem valores bem próximos quando as moléculas estão na solvente água. Pode-se compreender os gaps conforme a estabilidade e reatividade, o que depende do valor do gap. Quanto maior for a estabilidade molecular, tanto maior será o valor do gap. Moléculas reativas, pelo contrário, podem sofrer transição eletrônica muito mais fácil, pois precisam de gaps baixos para doar seus elétrons.

5.5 ANÁLISE DE MEP

O MEP aplicado com uso dos métodos computacionais utilizados para os cálculos teóricos de minimização de energia corresponde o método da mecânica molecular *MM+*, tendo em vista a análise conformacional que foram otimizados funcionalmente *B3lyp/6-311++G(d,p)*, levou a importantes resultados que mapeou o comportamento das densidades eletrônicas, pois o MEP desempenha um papel fundamental na etapa inicial da conformação bioativa ou bioatividade, que corresponde a propriedade que certos materiais possuem na participação de processos de reações biológicas o que explicam as interações entre receptor-ligante.

Diferentes valores do MEP na superfície são representados por cores diferentes, onde a cor em vermelho apresenta as regiões de MEP mais negativo, enquanto o azul representa as regiões de potencial eletrostático mais positivo, o verde corresponde às regiões de potencial moderado.

Em termos dessas cores, essas toxinas próximas de enzimas que apresentam regiões predominante positiva e, portanto, na cor azul, podem interagir com as toxinas de algas por meio de forças de natureza eletrostáticas, pois as forças são atrativas e variam com o inverso do quadrado da distância e por essa razão, quanto mais próxima uma da outra, tanto maior será a intensidade das forças eletrostáticas entre elas. Pois se houver regiões de mesmas cores, as forças eletrostáticas serão repulsivas, impedindo de haver uma aproximação entre a enzima e

a toxina de algas.

Nesse caso, o aumento de potenciais eletrostáticos na ordem de vermelho, laranja, amarelo, verde e azul com decréscimo de carga negativa, pois devido à incidência da luz as moléculas de toxinas sofrem rotações devido à presença de carbonos secundários, terciários, ou quaternários, onde esses últimos denominados quirais, podem rotacionar havendo rearranjo de densidade eletrônica, razão que explica predominância de cargas elétricas positivas e negativas em cada estrutura molecular de algas, como na ANA-A, ANAT-AS, CYLIN, HOATX-A e SAX.

Entende-se ainda que em regiões de cargas eletrizadas, embora outra molécula esteja neutra, nas proximidades da ordem do angstrom, pode haver na molécula neutra um reagrupamento de carga elétrica, o que possibilita um rearranjo nas densidades eletrônicas em duas outras regiões positivas (cor azul) e negativas (cor vermelha), possibilitando uma interação de forças elétricas entre as duas cargas. Assim sendo, é possível realizar uma DOC entre enzimas e toxina, pois como mostra a Figura 12, as toxinas de algas apresentam condições de haver interações por DOC, tendo em vista que cada uma possui regiões de cargas positivas, negativas e moderadas.

Em relação ao MEP plotado para as toxinas citadas, apresentou a região de potencial mais eletronegativo (cor vermelha) no átomo de oxigênio nas possíveis interações químicas presentes. No entanto, para os outros átomos com outra natureza de cargas, os potenciais não são tão relevantes porque são regiões pobres em elétrons, como, por exemplo, as regiões que se apresentam nas cores verde e azul.

Em todo caso, entende-se que a análise realizada para esse grupo de toxinas de algas, a realização da análise conformacional com a minimização de energia molecular, garante o avanço no decorrer do tempo da simulação no sentido de compreender como acontece o rearranjo das densidades eletrônicas em regiões onde existem átomos de oxigênio, nitrogênio, cadeias carbônicas ligadas aos átomos de hidrogênio e as disposições espaciais desses átomos para cada toxina, apresentam-se diferentes, tendo em vista que cada toxina de alga simulada, tem grupos moleculares diferentes, razão que explica as regiões eletrizadas negativa, positivamente e moderadas onde cada cor que identifica a distribuição eletrônicas de cada composto molecular.

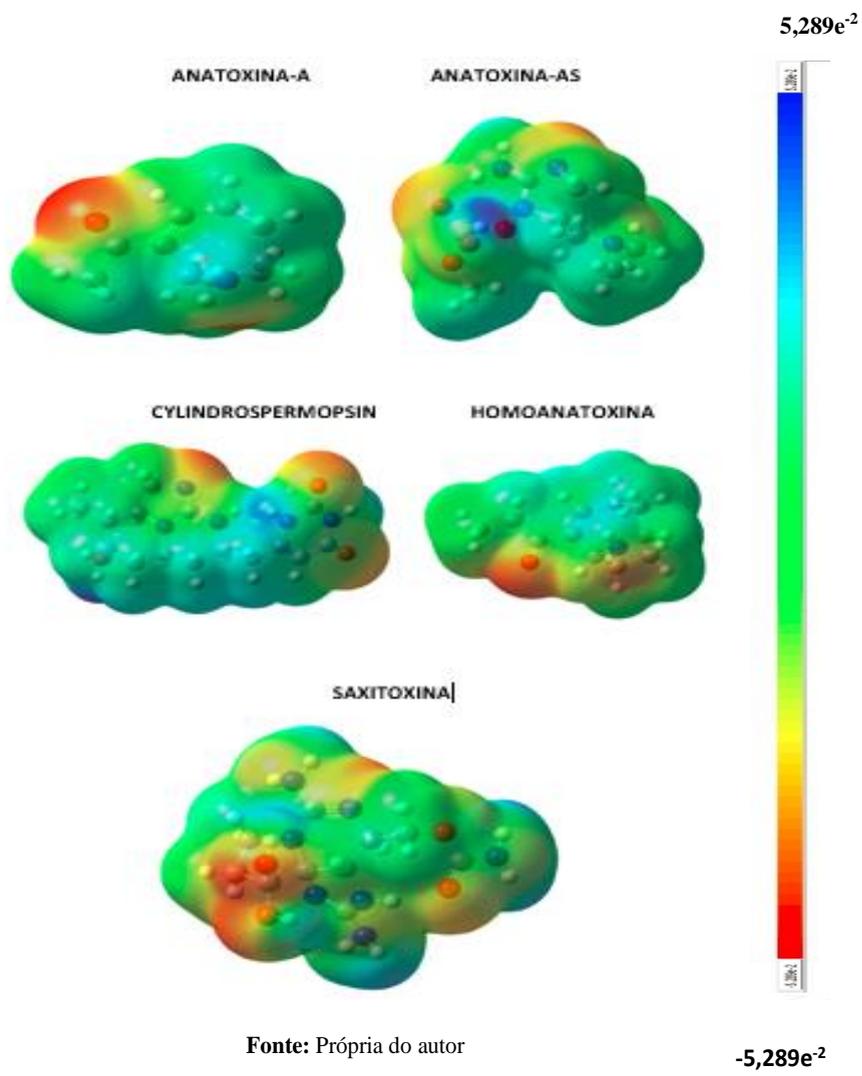
Com base nesse contexto, o MEP possui um enorme papel, desempenhando as classificações das nuvens eletrônicas para prever a possibilidade dessas toxinas se ligarem a grupos de enzimas para realização de DOC além de realizar uma classificação das regiões, caracterizando-as nas cores vermelho, verde e azul, indicando o acúmulo de carga negativa, região neutra e região carregada positivamente, como mostra a Figura 16.

Portanto, o MEP colabora para uma melhor compreensão de região de carga negativa e a possibilidade de haver interação entre grupos circundantes com macroestruturas e, conseqüentemente, influenciam o efeito de inibição e é um descritor muito útil no entendimento de sítios para ataque eletrofílico, reações nucleofílicas e no estudo do processo de reconhecimento biológico.

Tratando-se do estudo do potencial, tem sido bastante útil como um indicador dos sítios ou regiões do receptor inicialmente atraídos pela abordagem eletrófilo/nucleófilo, e aplicado com sucesso para determinar a orientação relativa. Portanto, o potencial eletrostático negativo mostra que a atração acontece com próton, cuja densidade é agregada de Elétrons no receptor (cor vermelha), enquanto o potencial eletrostático positivo mostra que existe a presença de força colombiana repulsiva do próton pelos núcleos atômicos (cor de azul).

As regiões negativas (vermelho e amarelo) do MEP foram relacionadas à reatividade eletrolítica e as regiões positivas (azul) à reatividade nucleofílica. O valor do potencial eletrostático é o grande responsável pela atração de um substrato ao receptor, uma vez que o receptor e o ligante correspondente são reconhecidos em sua superfície molecular.

Figura 14. MEP das toxinas de algas com representações das maiores regiões de presença de elétrons.



Fonte: Própria do autor

$-5,289e^{-2}$

Fonte: Própria do autor.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÃO

Os recursos hídricos da Terra foram abordados, destacando a importância da conservação da vida dos seres *in vitro*, desempenhando um papel fundamental em vários setores da economia, distribuídos em duas partes: salgada e doce, correspondendo a 97,5% e 2,5%, respectivamente. Assim sendo, nesses habitats aquáticos, as algas se proliferam, reproduzindo-se quando na presença de fósforo e nitrogênio que serviram de alimento pelo processo fotossintético.

O contexto desenvolvido sobre o meio aquático, tornou-se necessário para fomentar possível um melhor aprofundamento das propriedades físicas e químicas de toxinas de algas que atrelado ao estudo de simulações de mecânica molecular, abriu um horizonte de possibilidade de estudar os programas computacionais citados para obtenções dos espectros DOS, UV-Vis, DC, Raman e IR que levaram a uma análise minuciosa dos grupos funcionais e seus modos vibracionais nas regiões do Raman e IR, considerando o intervalo de frequência de 0 a 4000 cm^{-1}

Para o espectro de absorção UV-Vis, foi verificado que as toxinas absorvem energia quantizada nos comprimentos de ondas especificados: A HOATX exibe um pico de absorção próximo de 235nm, a CYLIN assume um pico na proximidade do 275nm, a ANNAS próximo do valor 225nm, a ANA-A possui um pico próximo de 225nm e a SAX no valor 200nm. Nesse caso, tornou-se importante examinar que para esses comprimentos de ondas com predominância na região do UVC, o processo fotossintético não ocorre na forma natural, pois os raios UVC por serem opacos pelo O_3 (ozônio) não penetram na superfície terrestre. Nesse sentido, como explicar o processo fotossintético que no habitat aquático, tendo em vista que apenas os raios UVA e UVB penetram na superfície terrestre.

Na região do visível, não houve nenhuma exibição de espectros, pois para a faixa do espectro eletromagnético no intervalo do visível, a energia por ser muito baixa, as toxinas de algas não sofreram nenhuma absorção ou qualquer vibração molecular com a interação da luz monocromática. No entanto, para explicar a possibilidade de absorção de luz pelas toxinas de algas na região UVC com menores comprimentos de ondas, seria preciso entender que as análises com o procedimento num laboratório em que acionasse fonte de luz com energia compreendida naquela região. DC que investigou os espectros de toxinas de algas em que pode ser esclarecido tendo a relevância, em rotação, dos carbonos quirais no sentido dextrogiro ou levogiro, mostrou que a toxina CYLIN apresentou ser menos agravante ao organismo humano, pois os valores apresentados dos espectros da Figura 6 teve variação de -2 a 2, enquanto para outras toxinas esse intervalo foi de -100 a 50 o que mostrou que as outras toxinas são mais nocivas ao organismo humano.

Os espectros de DOS para as toxinas de algas estudos tem também significantes interpretações, pois para cada toxina analisada a partir dos espectros obtidos, como mostrou a figura 7 esclarece sobre a toxina possui uma maior estabilidade ou ser reativa e para ser possível verificar a estabilidade e reatividade de cada toxina, analisaram-se os espectros da figura 7 considerando os valores dos gaps. Dessa maneira, a toxina que apresentou uma maior estabilidade foi a SAX e a ANA-AS, pois seus valores de gaps forma maior e, portanto, com probabilidade de transições eletrônicas. As outras toxinas foram consideradas reativas pelo fato de ter havido intervalos de valores subsequentes gaps compreendidos entre os valores de 0 a -5eV, possibilitando transições eletrônicas.

Portanto, o estudo com espectroscopia por simulação computacional, tornou-se tanto melhor quanto for a base escolhida e o meio em que cada toxina pode ser posta para exibição dos espectros, o que pode trazer melhor resultados com uma maior aproximação de resultados experimentais por comparação corresponde o funcional híbrido B3LYP/6-311++G (d, p) e como foi verificado o uso da base utilizada levou a um importante resultados para a toxina CYLIN quando comparado com o valor experimental levando uma margem de erro de 0,5% quando comparado com o resultado teórico. Assim sendo, a escolha de base para estudos de espectros para toxinas de algas é de essencial importância.

Para continuidade dessa pesquisa, espera-se um aprofundamento coma realização de DOC para investigar qual das toxinas estudadas nessa dissertação pode interagir com proteínas do organismo humano e, além disso, verificar a possibilidade de nanosensores para futuras aplicações tecnológicas.

Esses sítios puderam ser melhor compreendidos quando se faz uma comparação dos valores dos gaps, pois a toxina que apresentou menor valor de gap possui uma maior reatividade, possibilitando transições eletrônicas do HOMO para o LUMO com as maiores contribuições. Pelo contrário, como foi observado, toxina com valor de gap grande apresenta maior estabilidade molecular.

Portanto, os valores dos gaps levam a compreender o MEP identificando as toxinas com maior ou menor reatividade e assim, localizar os sítios de maior e menor regiões de concentração de cargas presentes nas toxinas de algas com promissores resultados futuros, como por exemplo, a realização de DOC para investigar a interação das toxinas estudadas nessa dissertação com as proteínas do organismo humano e possível aquisição de nanosensores para aplicações tecnológicas.

REFERÊNCIAS

ADEKOYA, O.; ADEKOYA, G.; SADIKU, R.; HAMAN, Y.; RAY, S.S.. (2022). **Application of DFT Calculations in Designing Polymer-Based Drug Delivery Systems: An Overview.** *Pharmaceutics*, 14, 1972. 10.3390/pharmaceutics14091972.

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL; **Panorama Nanotecnologia**, ABDI: Brasília, 2010.

ANA-AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Panorama da qualidade das águas superficiais no Brasil.** Brasília: ANA, 2009. (Cadernos de Recursos Hídricos, 1). Disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/planejamento/estudos/sprteaw/1/1-ANA.swf>. Acesso em: 19 jul. 2023.

AKERMAN, K. J.; VENTER, C.; HUNTER, L. A.; AKERMAN, M. P. **Palladium (II) complexes of 2-pyridylmethylamine and 8-aminoquinoline: A crystallographic and DFT study.** *J. Mol. Struct.*, v. 1091, p. 74-80, 2015. **Allelopathy among marine algae.** *Ecological Modelling*, v. 183, p. 373-384, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2004.08.02>. Acesso em: 29 jun. 2023

ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J. **Computer simulation of liquids.** Nova York: Oxford University Press, 1987.

ANDERSON, D. M.; BURKHOLDER, J. M.; COCHLAN, W. P.; GLIBERT, P. M.; GOBLER, C. J.; HEIL, C. A.; KUDELA, R. M.; PARSONS, M. L.; RENSEL, J. E. J.; TOWNSEND, D. W.; TRAINER, V. L.; VARGO, G. A. **Harmful algal blooms and eutrophication: examining linkages from selected coastal regions of the United States.** *Harmful Algae*, v. 8, p. 39-53, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02804901>. Acesso em: 12 Ago. 2023.

ANTONIOU, M. G.; CRUZ, A. A.; DIONYSIOU, D. D. **Cyanotoxins: new generation of water contaminants.** *Journal of Environmental Engineering*, v. 131, n. 9, p. 1239-1243, 2005.

ARÁOZ, R.; NGHIÊM, H.; RIPPKA, R.; PALIBRODA, N.; TANDEAU, N. M.; HERDMAN, M. **Microbiology**, v. 151, p. 1263, 2005.

ARAÚJO, A. M. **Monitoramento de processos em tempo real via espectrofotometria no IR próximo.** 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2007.

AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. **Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brasil.** *Toxicology*, v. 181-182, p. 441-446, 2002.

BAKKER, G. J. I. **Toxins of cyanobacteria.** *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 51, p. 7-60, 2007.

BARBOSA, L. C. de A. **Espectroscopia no IR na caracterização de compostos orgânicos.** Viçosa: Editora UFV, 189 p., 2008.

BICUDO, C. E. M.; SANT'ANNA, C. L.; BICUDO, D. C.; PUPO, D.; CASTRO-PINTO, L. S.; AZEVEDO, M. T. P.; XAVIER, M. B.; FUJII, M. T.; YOKOYA, N. S.; GUIMARÃES, S. M. P. B. **O estudo das algas no Estado de São Paulo**. In: BICUDO, C. E. M.; SHEPHERD, G. J. (Eds.). **Biodiversidade do Estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX**, 2: fungos macroscópicos e plantas. São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, p. 1-7, 1998.

CARMICHAEL, W. W. **Cyanobacteria secondary metabolites: the cyanotoxins**. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 72, n. 6, p. 445-459, 1992.

CARMICHAEL, W. W.; BIGGS, D. F.; GORHAM, P. R. *Science*, v. 187, p. 542, 1975.

CARMICHAEL, W. W.; OWNBY, C. L.; ODELL, G. V. **Toxinas de cianobactérias de água doce (algas verde-azuladas), toxinas naturais, Farmacologia e Terapêutica**. Oxford: Pergamon Press, p. 3, 1998.

CAVALIER-SMITH, T.; ALLSOPP, M. T. E. P.; CHAO, E. E. **Chimeric Conundra: are Nucleomorphs and Chromists Monophyletic or Polyphyletic?** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 91, p. 11368-11372, 1994.

CETESB. **Águas superficiais – Variáveis de qualidade das águas**. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/Águas-Superficiais/34-Variáveis-de-Qualidade-das-Águas>. Acesso em: 22 set. 2023.

CETESB. **Fundamentos de controle da poluição da água**. São Paulo: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, 2018.

CHAPMAN, D. **Water Quality Assessments – A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring**. 2. ed. London: E&FN Spon – Chapman & Hall, 1996.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. 3. ed. Geneva: WHO - World Health Organization, 1998.

COLE, K. M.; SHEATH, R. G. **Biology of red algae**. New York: Cambridge University Press, p. 147-170, 1990.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. **Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy**. 3. ed. San Diego: Academic Press, p. 491, 1990.

DEBERDT, G. L. B.; CANTUSIO NETO, R.; AGUJARO, L. F. **Florações de cianobactérias e sua inserção na legislação brasileira**. SANASA - Campinas / Educação Ambiental, 25 out. 2006. Disponível em: http://www.sanasa.com.br/noticias/not_con1.asp?flag=PC-3. Acesso em: 15 jan.. 2024.

DEVLIN, J. P.; EDWARDS, O. E.; GORHAM, P. R.; CAÇADOR, P. R.; PIQUE, R. K.; STAVI, B.; PODE. *Química*, v. 55, p. 1367, 1977.

DITTMANN, E.; WIEGAND, C. **Cyanobacterial toxins--occurrence, biosynthesis and impact on human affairs**. *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 50, n. 1, p. 7-17, jan. 2006.

FALCONER, I. R.; HUMPAGE, A. R. **Preliminary evidence for in vivo tumour Initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindropermopsin.** *Environmental Toxicology*, v. 16, p. 192-195, 2001.

FARIA, D. L. A. de; SANTOS, L. G. C. e GONÇALVES, N. S. **Uma Demonstração Sobre o Espalhamento Inelástico de Luz: Repetindo o Experimento de Raman.** *Química Nova* [online], v. 20, n. 3, p. 319-323, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000300014>. Acesso em: 20 fev. 2024.

FUREY, A.; CROWLEY, L.; SHUILLEABHAIN, A. N.; SKULBERG, O. M.; JAMES, K. J. **Toxicon**, v. 41, p. 297, 2003.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY JR, J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS, Ö.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSŁOWSKI, J.; FOX, D. J. **GAUSSIAN 09W, REVISION A.1.** Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2009.

HAMMOND, P. M. **Species Inventory.** In: GROOMBRIDGE, B. (Ed.). **Global Biodiversity, Status of the Earth's Living Resources.** London: Chapman & Hall, p. 17-39, 1992.

HAN, Y. P.; WANG, J. J.; LI, Y. X.; HANG, Y.; YIN, X. S.; LI, Q. **Circular dichroism and infrared spectroscopic characterization of secondary structure components of protein Z during mashing and boiling processes.** *Food Chemistry*, v. 188, p. 201-209, 2015.

HARADA, K. -I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANABE, M. F.; WATANABE, M.; TERAOKA, K. **Isolation of CYLIN from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method.** *Toxicon*, v. 32, p. 73-84, 1994.

HESSE, K.; DITTMANN, E.; BORNER, T. **Cyanobacterial toxins--occurrence, biosynthesis and impact on human affairs.** *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 50, n. 1, p. 7-17, 2006.

HMAID, A. L.; MAT YASIN, N. H.; DEREK, C. J. C.; LIM, J. K. **Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier Ltd., 2011.

HUMPAGE, A. R.; FENECH, M.; THOMAS, P.; FALCONER, I. R. **Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindropermopsin.** *Mutation Research*, v. 472, p. 155-161, 2000.

JAMES, K.; FUREY, A.; SHERLOCK, I. R.; STACK, M. A.; TWOHIG, M.; CAUDWELL, B. F.; SKULBERG, O. M. **J. Chromatogr, A**, v. 798, p. 147, 1998.

JAMES, K. J.; SHERLOCK, I. R.; STACK, M. A. **Toxicon**, v. 35, p. 811, 1997.

KELLNER, R.; MERMET, J. M.; OTTO, M.; VALCÁRCEL, M.; WIDMER, H. M. **Analytical Chemistry - A Modern Approach to Analytical Science**. 2. ed. Weinheim: Wiley, 1209 p., 2004.

KIM, J.-T.; BOO, S. M.; ZAKRYS, B. **Floristic and Taxonomic Accounts of the Genus Euglena (Euglenophyceae)**. *Algae*, v. 13, n. 2, p. 173-197, 1998.

KODAMA, M.; DOUCETTE, G. J.; GREEN, D. H. **Relationships Between Bacteria and Harmful Algae**. In: GRANÉLI, E.; TURNER, J. T. (Eds.). *Ecology of Harmful Algae*. Berlin: Springer Verlag, p. 243-255, 2006. (Ecological Studies).

KOHN, W. **Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals**. *Reviews Of Modern Physics*, v. 71, n. 5, p. 1253-1266, 1 out. 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1103/revmodphys.71.1253>. Acesso em: 24 mar. 2024.

KOMÁREK, J. **Modern Taxonomic Revision of Planktic Nostocacean Cyanobacteria: a Short Review of Genera**. *Hydrobiologia*, v. 639, p. 231-243, 2010.

KOSKINEN, A. M. P.; RAPOPORT, H. J. **Med. Chem**, v. 28, p. 1301, 1995.

LEE, R. E. **Phycology**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.

LI, R.; CARMICHAEL, W. W.; BRITAIN, S.; EAGLESHAM, G. K.; SHAW, G. R.; LIU, Y.; WATANABE, M. M. **First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxy cylindrospermopsin from Raphidiopsis curvata (cyanobacteria)**. *Journal of Phycology*, v. 37, n. 6, 2001, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01075.x>. Acesso em: 19 jul. 2024.

MAHMOOD, N. A.; CARMICHAEL, W. W. **Toxicon**, v. 25, p. 1221, 1987.

MANAHAN, S. E. **Environmental chemistry**. 2. ed. Florida: Boca Raton, 2001.

MATSUNAGA, S.; MOORE, R. E.; NIEMCZURA, W. P.; CARMICHAEL, W. W. **Geléia. Chem. Sociedade**, v. 111, p. 8021, 1998.

MENEZES, M.; BICUDO, C. E. M. **Algas – Diagnóstico preliminar da biodiversidade no Brasil**. In: Simpósio: Metas da Convenção da Biodiversidade para 2010: construindo a Lista de Espécies do Brasil. In: 60º Congresso Nacional de Botânica. Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana: Sociedade Botânica do Brasil, p. 59-64, 2009.

MORAES, L. A. F. **A visão integrada da ecologia para o manejo sustentável dos ecossistemas aquáticos**. *Oecologia Brasiliensis*, v. 13, n. 4, p. 676-687, 2009.

MOREIRA, A. A. **Métodos analíticos para quantificação de cianotoxinas em reservatórios que utilizam água para abastecimento público**. Data da defesa 14 set. 2005.

NAMIKOSHI, M.; MURAKAMI, T.; WATANABE, M. F.; ODA, T.; YAMADA, J.; TSUJIMURA, S.; NAGAI, H.; OISHI, S. **Toxicon**, v. 42, p. 533, 2003.

OHTANI, I.; MOORE, R. E.; RUNNEGAR, M. T. C. **Cylindrospermopsis: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii***. *Journal of American Chemical Society*, v. 114, p. 7941-7942.

OYANEDER-TERRAZAS, J.; CONTRERAS, R. H.; GARCÍA, C. **Prevalência, Variabilidade e Bioconcentração do Grupo SAX em Diferentes Espécies Marinhas Presentes na Cadeia Alimentar**. *Toxinas*, v. 9, p. 190, 2017.

PASQUINI, C. **Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications**. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, p. 198–219, 2003.

RAPALA, J.; IAHLI, K.; SIVONEN, K.; NIEMELÄ, S. I. **Appl. Microbiol**, v. 19, p. 423, 1994.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 906 p., 2001.

RESNIK, R.; EISBERG, R. **Física Quântica**. s. l: Elsevier, 1979.

LONG, D. A. **Raman Spectroscopy**. London: McGraw-Hill, 1977.

RESSOM, R. et al. **Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae)**. Canberra: Australia Government Public Service, 1994.

RESSOM, R.; SOONG, F. S.; FITZGERALD, J.; TURCZYNOWICZ, L.; EL SAADI, O.; RODER, D.; MAYNARD, T.; FALCONER, I. **Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae)**. National Health and Medical Research Council. Canberra: Australia Government Publishing Service, 1994.

RIBEIRO, H. **Saúde Pública e Meio Ambiente: evolução do conhecimento e da prática, alguns aspectos éticos**. *Saúde e Sociedade*, v. 13, n. 1, p. 70-80, 2004.

RODRIGUES, L. N.; CRUVINEL, P. E. **Recurso água**. In: VILELA, E. F.; CALLEGARO, G. M.; FERNANDES, G. W. (Org.). **Biomass e Agricultura Oportunidades e Desafios**. Rio de Janeiro: Editora Vertente Edições, p. 197-203, 2019. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1146633>. Acesso em: 23 abril. 2024.

ROHMAN, A.; MAN, Y. B. C. **Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil**. *Food Research International*, v. 43, p. 886–892, 2010.

RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. **Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems**. *Physical Review Letters*, v. 52, n. 12, p. 997–1000, 1984.

SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no IR**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2008.

SANTILLI, J. A. **Política de Nacional de Recursos Hídricos (Lei 9.433/97) e sua implementação No Distrito Federal.** *Revista de Direito Ambiental*, n. 24, p. 145-169, 2001.

SCHEMBRI, M. A.; NEILAN, B. A.; SAINT, C. P. **Identification of genes implicated in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*.** *Environmental Toxicology*, v. 16, p. 413–421, 2001.

SCHIRRMESTER, B. E.; DE VOS, J. M.; ANTONELLI, A.; BAGHERI, H. C. **Evolution of multicellularity coincided with increased diversification of cyanobacteria and the Great Oxidation Event.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, n. 5, p. 1791–1796, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.110.1791S>. Acesso em: 19 jul. 2024.

SELWOOD, A. I.; WAUGH, C.; HARWOOD, D. T.; RODES, L. L.; REEVE, J.; SIM, J.; MUNDAY, R. **Toxicidades agudas dos congêneres de SAX Gonyautoxina 5, Gonyautoxina 6, Decarbamoil Gonyautoxina 2 e 3, Decarbamoil NeoSAX, C-1 e 2 e C-3 e 4 para camundongos por várias vias de administração.** *Toxinas*, v. 9, p. 73, 2017.

SHAW, G. R.; SUKENIK, A.; LIVNE, A.; CHISWELL, R. K.; SMITH, M. J.; SEAWRIGHT, A. A.; NORRIS, R. L.; EAGLESHAM, G. K.; MOORE, M. R. **Blooms of the CYLIN containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti), in newly constructed lakes, Queensland, Australia.** *Environmental Toxicology*, v. 14, p. 167-177, 1999.

SHEN, Y. **Towards fast coherent anti-Stokes Raman scattering microspectroscopy.** Texas A & M University, 2018.

SHIKLOMANOV, I. **World fresh water resources.** In: GLEICK, P. H. (Ed.). *Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources*. New York: Oxford University Press, 1993.

SHIPP, D.; SINJAB, F.; NOTINGHER, I. **Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences.** *Advances in Optics and Photonics*, v. 9, n. 2, p. 315-428, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1364/AOP.9.000315>. Acesso em: 19 jul. 2024.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds.** 8. ed. New York: John Wiley & Sons, 464 p., 2014

SIVONEN, K.; NIEMELA, S. I.; NIEMI, R. M.; LEPISTO, L.; LUOMA, T. H.; RASAMEN, L. A. **Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters.** *Hydrobiologia*, v. 190, p. 267-27, 1990.

SKULBERG, O. M.; CARMICHAEL, W. W.; ANDERSEN, R. A.; MATSUNAGA, S.; MOORE, R. E.; SKULBERG, R. **Ambiente. Toxicon**, v. 11, p. 321, 1992.

SLADE, D.; FERREIRA, D.; MARAIS, J. P. J. **Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids.** *Phytochemistry*, v. 66, p. 2177–2215, 2005.

SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. **Eutrophication science: where do we go from here?** *Trends in Ecology and Evolution*, v. 24, n. 4, p. 201-207, 2009.

SMITH, V. H.; JOYE, S. B.; HOWARTH, R. W. **Eutrophication of freshwater and marine ecosystems.** *Limnology and Oceanography*, v. 51, p. 351-355, 2006.

SOLÉ, J.; GARCIA-LADONA, E.; RUARDIJ, P.; ESTRADA, M. **Modelling allelopathy among marine algae.** *Ecological Modelling*, v. 183, n. 4, p. 373-384, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2004.08.021>. Acesso em: 19 jul. 2024.

SOUZA, M. A. F.; LONGO, R. L. **Dinâmica molecular de Born-Oppenheimer: metodologia e aplicações em mecanismos e seletividades de reações químicas.** In: FREITAS, L. C. G.; OLIVEIRA, G. S. (Orgs.). *Aplicações de química teórica no estudo de materiais: métodos in silico para nanomateriais* [online]. São Carlos: EdUFSCar, pp. 14-61, 2018. ISBN 978-65-80216-12-3. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/nvnjd/epub/freitas-9786580216123.epub>. Acesso em: 19 maio. 2024.

STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHABALOWSKI, C. F.; FRISCH, M. J. **Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields.** *J. Phys. Chem.*, v. 98, p. 11620, 1994.

STERNER, R. W.; ELSER, J. J. **Ecological stoichiometry: Overview.** In: JØRGENSEN, S. E.; FATH, B. D. (Eds.). *Encyclopedia of ecology*. Amsterdam: Elsevier, p. 1101–1116, 2008.

VAN APELDOORN, M. E.; VAN EGMOND, H. P.; SPEIJERS, G. J.; BAKKER, G. J. **Toxins of cyanobacteria.** *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 51, n. 1, p. 7-60, 2007.

VAN-DEN-HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae: an Introduction to Phycology.** Cambridge: Cambridge University Press, 627 p., 1995.

WILSON, E. O. **The Diversity of Life.** Cambridge: Belknap Press, 1992.

YUNES, J. S. et al. **Effect of nutrient balance and physical factors on blooms of toxic cyanobacteria in the Patos Lagoon, southern Brazil.** *Verh. International Verein. Limnology*, v. 26, p. 1796-1800, 1998.

ZIMBA, P. V.; MOELLER, P. D.; BEAUCHESNE, K.; LANE, H. E.; TRIEMER, R. F. **Identification of euglenophycin—A toxin found in certain euglenoids.** *Toxicon*, v. 55, p. 100-104, 2010.