



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA
ORGÂNICA PARTICULADA DO RIO NEGRO SOB DIFERENTES
CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS

CICERO RAMON NASCIMENTO DA SILVA

MESTRADO

Manaus/AM

2025

CICERO RAMON NASCIMENTO DA SILVA

AVALIAR AS ALTERAÇÕES DA COMPOSIÇÃO DA MATÉRIA
ORGÂNICA PARTICULADA DO RIO NEGRO SOB DIFERENTES
CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS

Dissertação apresentada ao curso
de Pós-graduação em Química da
Universidade Federal do Amazonas como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Química. Área de
concentração: Métodos Analíticos e
Estudos Ambientais.

DRA. GIOVANA ANCESKI BATAGLION

ORIENTADORA

Manaus/AM

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586a Silva, Cícero Ramon Nascimento da
Avaliação das alterações da composição da matéria orgânica
particulada do rio negro sob diferentes cenários de mudanças
climáticas / Cícero Ramon Nascimento da Silva. - 2025.
92 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Giovana Anceski Bataglioni.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Manaus, 2025.

1. Amazônia. 2. Biogeoquímica. 3. Biomarcadores. 4. Ésteres. 5.
n-alcanos. I. Bataglioni, Giovana Anceski. II. Universidade Federal
do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão às instituições, grupos de pesquisa e pessoas que tornaram possível a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Amazonas, pela oportunidade de ingressar no programa e contribuir para o meu crescimento pessoal, acadêmico e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa de estudo;

Aos coordenadores do Laboratório de Pesquisa e Ensaaios de Combustíveis (LAPEC), pela disponibilidade de laboratórios;

Ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular – LEEM e ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), representados pelo Dr. Adalberto L. Val, pelo suporte essencial e pela oportunidade de utilizar as salas climáticas do projeto Adapta.;

Ao Grupo de Pesquisas em Metabolômica e Espectrometria de Massas (MMSRG), sob a coordenação do Professor Dr. Hector Koolen, e à Universidade Estadual do Amazonas (UEA), por disponibilizarem o GCMS, contribuindo significativamente para as análises realizadas neste estudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) e aos professores do curso do programa, pela contribuição para minha formação acadêmica;

À profa. Dra. Giovana Anceski Bataglion, pela confiança e pelos ensinamentos transmitidos. Agradeço imensamente pelas orientações, compreensão e pela colaboração essencial na minha formação profissional;

Aos amigos de laboratório orientandos da profa. Giovana pelo apoio principalmente durante as coletas de amostras e preparo dos extratos, pelas trocas de experiências e pelo ambiente colaborativo que tornaram essa jornada ainda mais enriquecedora.;

À toda a minha família, em especial ao meu pai Rui e à minha Mãe Francisca que sempre me apoiam e que deram um grande suporte nesses dois anos de curso, a minhas irmãs e meu sobrinho pelo suporte emocional e apoio.

À minha esposa, Helene, que foi mais do que uma companheira: foi parceira de bancada. Percorremos juntos esta caminhada e compartilhar este percurso com alguém que trilha o mesmo caminho científico, sob a mesma

orientação, foi uma experiência única que tornou tudo mais significativo. A você, meu amor, minha gratidão eterna por sua “paciência”, dedicação, cumplicidade e por acreditar neste sonho.

À minha filha, Anna Beatriz, por ser a minha maior fonte de inspiração. Mesmo tão pequena, sua presença iluminou meus dias e me lembra constantemente do porquê de seguir em frente.

Minha mais profunda gratidão a todos os mencionados por sua contribuição e apoio inestimáveis ao longo deste trabalho.

RESUMO

As mudanças climáticas afetam significativamente os ecossistemas aquáticos, influenciando a dinâmica da matéria orgânica particulada (MOP) e seu papel no ciclo do carbono. Este estudo investigou as alterações na composição molecular da MOP da água do Rio Negro sob diferentes cenários climáticos simulados, por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Amostras foram incubadas por um mês em quatro condições (controle, brando, intermediário e drástico), com aumento progressivo de temperatura e CO₂ em relação a valores de referência florestal. A MOP foi obtida por filtração (0,7 µm), extraída com diclorometano:metanol (2:1, v/v), concentrada e analisada por GC-MS. As classes de *n*-alcanos e ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) foram predominantes nas amostras, indicando provável origem a partir da degradação microbiana de compostos lipídicos mais complexos. A predominância de *n*-alcanos de cadeia par longa (C₂₄–C₂₉) — um perfil atípico para ambientes com aporte terrestre — sugerem processos de reciclagem interna da MOP mediados por microrganismos. Os três experimentos indicaram que o tempo de incubação foi o principal fator determinante nas transformações moleculares da MOP, superando os efeitos diretos das variáveis climáticas simuladas. Observou-se um padrão consistente de acúmulo intermediário e declínio nos tempos finais, indicando ciclos sucessivos de liberação, consumo e possível parcial mineralização dos compostos lipídicos. Análises multivariadas (PCA e HCA) confirmaram a separação química entre os tempos e revelaram agrupamentos coerentes entre compostos. Do ponto de vista ambiental, os resultados de matéria orgânica (MO) mostram que, mesmo sob cenários críticos (RCP 8.5), não ocorreram alterações estruturais relevantes atribuídas exclusivamente ao aquecimento ou à elevação do CO₂. Isso evidencia a resiliência de frações recalcitrantes da MOP e destaca a importância dos processos temporais de incubação para a compreensão da dinâmica molecular da MO em ambientes amazônicos.

Palavras-Chave: Amazônia, biogeoquímica, biomarcadores, ésteres, *n*-alcanos.

ABSTRACT

Climate change significantly affects aquatic ecosystems by influencing the dynamics of particulate organic matter (POM) and its role in the carbon cycle. This study investigated changes in the molecular composition of POM from Rio Negro water under different simulated climate scenarios, using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). Water samples were incubated for one month under four conditions (control, mild, intermediate, and severe), with progressive increases in temperature and CO₂ compared to forest reference values. POM was isolated by filtration (0.7 µm), extracted with dichloromethane:methanol (2:1, v/v), concentrated, and analyzed by GC-MS. The predominant compound classes were *n*-alkanes and fatty acid methyl esters (FAMEs), suggesting a likely origin from microbial degradation of more complex lipid compounds. The dominance of long even-numbered *n*-alkanes (C₂₄–C₂₉) — an atypical profile for systems with terrestrial inputs — suggests internal recycling processes of POM mediated by microorganisms. Across all three experimental scenarios, incubation time emerged as the main factor driving molecular transformations in POM, surpassing the direct effects of the simulated climate variables. A consistent pattern of intermediate accumulation followed by decline at later stages was observed, indicating successive cycles of lipid compound release, consumption, and possible partial mineralization. Multivariate analyses (PCA and HCA) confirmed chemical separation by incubation time and revealed coherent clustering of compound classes. From an environmental perspective, the organic matter (OM) results show that even under critical conditions (RCP 8.5), no significant structural alterations could be attributed exclusively to warming or elevated CO₂ levels. These findings highlight the resilience of recalcitrant POM fractions and underscore the importance of temporal incubation processes for understanding the molecular dynamics of OM in Amazonian environments.

Keywords: Amazônia, biogeochemistry, biomarkers, esters, *n*-alkanes.

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLOS

CO₂ – Dióxido de carbono;

DCM – Diclorometano;

DCM:MeOH – Solução de diclorometano:metanol;

EI – Ionização por elétrons (do inglês *electron ionization*);

FAME – Éster Metílico de Ácido Graxo (do inglês *Fatty Acid Methyl Ester*);

GC – Cromatografia gasosa (do inglês *gas chromatography*);

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês *gas chromatography coupled to mass spectrometry*);

IPCC – Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (do inglês *Intergovernmental Panel on Climate Change*);

LAPEC – Laboratório de Pesquisa e Ensaio de Combustíveis;

LEEM – Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular;

m/z – Razão massa/carga;

MeOH – Metanol;

MO – Matéria orgânica;

MOD – Matéria orgânica dissolvida;

MON – Matéria orgânica natural;

MOP – Matéria orgânica particulada;

MS – Espectrometria de massas (do inglês *mass spectrometry*);

RCP – Caminhos de Concentração Representativa (do inglês *Representative Concentration Pathway*);

t_r – Tempos de retenção;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rios de águas pretas na Bacia Amazônica.	4
Figura 2. Praia de areia no médio rio Negro, destacando as águas rasas de coloração escura, típicas dos sistemas de águas pretas. Ambiente característico de bacias com solos arenosos e elevada concentração de substâncias húmicas provenientes da decomposição vegetal.	5
Figura 3. Gráficos com as médias mensal e anual de CO ₂ medido no Observatório Mauna Loa, Havaí.	7
Figura 4. Dinâmica da MO na coluna d'água em sistemas de água doce. MOD: Matéria Orgânica Dissolvida, MOP: Matéria Orgânica Particulada.	11
Figura 5. Elementos básicos de um sistema GC-MS.	19
Figura 6. Câmara de ionização de elétrons.	21
Figura 7. Esquema de funcionamento de um analisador do tipo quadrupolo evidenciando as quatro barras.	22
Figura 8. Esquema do modo de varredura (A) e do modo SIM (B) no MS Quadrupolo.....	23
Figura 9. Localização geográfica do Rio Negro (AM) ilustrando o ponto de coleta.	26
Figura 10. Representações gráficas das precipitações pluviométricas na região no dia da coleta: (a) Distribuição horária de chuva acumulada ao longo do dia 13 de fevereiro de 2023 , (b) Ausência de precipitação registrada durante as 24 horas do dia 18 de outubro de 2024.	27
Figura 11. Local de exposição aos cenários climáticos. a) Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular – LEEM, b) Interior das salas climáticas.	28
Figura 12. Local na sala climática reservado para o experimento, as amostras foram alocadas na bancada da sala climática durante o período de incubação. Cada béquer contendo uma alíquota da amostra original submetida às condições controladas de temperatura e concentração de CO ₂ , conforme os cenários experimentais simulados.	31
Figura 13. Esquema de organização das amostras nos experimentos. A amostra original foi considerada o tempo zero (T0). As amostras foram incubadas em	

períodos de T3, T7, T14, T21 e T31 dias, sendo cada uma codificada conforme a sala (S1 a S4) e o tempo de incubação.	32
Figura 14. Metodologia utilizada para investigar a composição química na fração de MOP em amostras de águas superficiais.	34
Figura 15. Equipamento GC-MS do Laboratório da Central Analítica da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESA), localizado na Universidade Estadual do Amazonas – UEA.	35
Figura 16. Variação da massa de material particulado retida nos filtros de fibra de vidro ao longo do tempo de exposição nas quatro salas climáticas do Experimento 1 (LEEM).	38
Figura 17. Variação da massa de MOP retida nos filtros de fibra de vidro ao longo do tempo de exposição nas quatro salas climáticas do Experimento 2 (LEEM). .	40
Figura 18. Cromatograma dos compostos orgânicos presentes na amostra T31S1A, representando as classes de compostos identificadas como FAMES e <i>n</i> -alcanos. Os picos correspondem aos seguintes compostos: 1 – Hexadecanoato de metila (C _{16:0}), 2 – Octadecanoato de metila (C _{18:0}), 3 – Nonadecanoato de metila (C _{19:0} , padrão interno), 4 – <i>n</i> -Tetracosano (<i>n</i> -C ₂₄), 5 – <i>n</i> -Pentacosano (<i>n</i> -C ₂₅), 6 – <i>n</i> -Hexacosano (<i>n</i> -C ₂₆), 7 – <i>n</i> -Heptacosano (<i>n</i> -C ₂₇), 8 – <i>n</i> -Octacosano (<i>n</i> -C ₂₈), 9 – <i>n</i> -Nonacosano (<i>n</i> -C ₂₉), 10 – <i>n</i> -Triacontano deuterado (<i>n</i> -C ₃₀ d ₆₂ , padrão de recuperação).	42
Figura 19. Comparação dos espectros de massas dos FAMES a) estrutura química do Hexadecanoato de metila b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	43
Figura 20. Comparação dos espectros de massas FAMES a) estrutura química do Octadecanoato de metila b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	44
Figura 21. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₄ b) espectro de massas do composto alvo c) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	46
Figura 22. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₅ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	47

Figura 23. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₆ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	47
Figura 24. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₇ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	48
Figura 25. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₈ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	48
Figura 26. Comparação dos espectros de massas dos <i>n</i> -alcanos a) estrutura química do <i>n</i> -C ₂₉ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).	49
Figura 27. Variação da abundância de <i>n</i> -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 2 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 28 dias.	53
Figura 28. Variação da abundância de <i>n</i> -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.....	56
Figura 29. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 2 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 28 dias.	61
Figura 30. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.....	63
Figura 31. Variação da abundância de <i>n</i> -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 3 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 31 dias.	68
Figura 32. Variação da abundância de <i>n</i> -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.....	71

Figura 33. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 3 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 31 dias.	74
Figura 34. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.	76
Figura 35. Variação da abundância de <i>n</i> -alcanos na MOP de amostras incubadas em condições ambientais ao longo do tempo de 31 dias.	78
Figura 36. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas em condições ambientais ao longo do tempo de 31 dias.	79
Figura 37. Gráfico de PCA com os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2), baseado nas abundâncias relativas dos <i>n</i> -alcanos e FAMES identificados nas amostras do Experimento 2 (LEEM).	80
Figura 38. Dendrograma gerado pela HCA utilizando o índice de similaridade de Bray-Curtis. Três grupos distintos de amostras são observados, evidenciando variação temporal da composição da MOP no Experimento 2.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Massa (mg) do material particulado retido nos filtros para amostras submetidas à incubação no microcosmo que simula os cenários climáticos previstos pelo IPCC para 2100 – Experimento 1	38
Tabela 2. Massa (mg) do material particulado retido nos filtros para amostras submetidas à incubação no microcosmo que simula os cenários climáticos previstos pelo IPCC para 2100 – Experimento 2.....	41
Tabela 3. Compostos identificados por GC-MS na MOP proveniente de amostras de água do Rio Negro incubadas em microcosmo simulando cenários climáticos para 2100	42

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Referencial teórico.....	3
2.1. Bacia Amazônica e seus principais rios	3
2.2. Mudanças climáticas: Aumento da temperatura e concentrações de CO ₂ em ecossistemas aquáticos na Amazônia	6
2.3. Matéria orgânica	9
2.3.1. Matéria orgânica natural em ecossistemas aquáticos	9
2.3.2. Fonte e classificação da matéria orgânica natural em ecossistemas aquáticos	10
2.3.3. Matéria orgânica particulada em ecossistemas aquáticos	13
2.3.4. Matéria orgânica particulada no rio Negro	15
2.3.5. Degradação da matéria orgânica particulada	17
2.4. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)	19
2.4.1. Princípios básicos	19
2.4.2. Fonte de ionização.....	21
2.4.3. Analisador de massas do tipo quadrupolo	22
3. Objetivos.....	25
3.1. Geral	25
3.2. Específicos.....	25
4. Materiais e métodos.....	26
4.1. Área de estudo.....	26
4.2. Procedimento experimental	28
4.2.1. Limpeza de vidrarias.....	28
4.2.2. Solventes e padrões	29
4.2.3. Experimento de exposição de água do rio Negro aos cenários climáticos em microcosmo.....	30
4.2.4. Extração de compostos orgânicos	34
4.2.5. Análise por GC-MS	35
4.2.6. Tratamento estatístico	36
5. Resultados e discussão	38
5.1. Evolução temporal da massa de material particulado.....	38

5.2. Composição química da matéria orgânica particulada.....	42
5.3. Avaliação da alteração da composição da MOP ao longo do tempo de incubação em microcosmo simulando as condições climáticas para 2100 – experimento 1	50
5.3.1. Variação da composição de <i>n</i> -alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	50
5.3.2. Variação dos <i>n</i> -alcanos entre os tempos de incubação por sala climática.....	55
5.3.3. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	58
5.3.4 Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	62
5.4. Avaliação da alteração da composição da MOP ao longo do tempo de incubação em microcosmo simulando as condições climáticas para 2100 – experimento 2	65
5.4.1. Variação da composição de <i>n</i> -alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	65
5.4.2. Variação da composição de <i>n</i> -alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas – experimento 2	70
5.4.3. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	72
5.4.4. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas	75
5.4.5 Análise temporal da abundância de <i>n</i> -alcanos e FAMES sob condições ambientais naturais (experimento 3 – UFAM).....	77
5.5 Análise multivariada (PCA e HCA).....	79
5.5.1 Análise de componentes principais (PCA)	79
5.5.2. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)	81
6. Conclusão.....	83
7. Referências.....	84

1. Introdução

As atividades humanas têm modificado intensamente o meio ambiente, gerando condições extremas que afetam profundamente tanto os ecossistemas terrestres quanto os aquáticos. Desde a Revolução Industrial, a intensificação do uso de combustíveis fósseis e o desmatamento têm elevado significativamente as emissões de gases de efeito estufa, contribuindo diretamente para o aquecimento global (IPCC, 2021). Os ecossistemas aquáticos, em particular, desempenham um papel crucial na regulação dos ciclos biogeoquímicos, atuando como importantes sumidouros e fontes de carbono (Richey *et al.* 2002; Raymond *et al.*, 2013; Scofield *et al.* 2016; Ward *et al.*, 2017). No entanto, enquanto a maioria dos estudos se concentra em ambientes terrestres, os ecossistemas aquáticos permanecem relativamente pouco explorados, especialmente no contexto da Amazônia. A escolha do Rio Negro como objeto de estudo se justifica pela sua representatividade como um dos principais afluentes da bacia Amazônica e pela sua importância ecológica e biogeoquímica (Richey *et al.*, 2002; Scofield *et al.*, 2016). O interesse em investigar a matéria orgânica particulada (MOP) do Rio Negro surge da necessidade de entender como os diferentes cenários de mudanças climáticas podem afetar a composição e a dinâmica da matéria orgânica MO nesses ecossistemas (Canuel *et al.*, 2012).

A MOP nos ecossistemas aquáticos é composta por uma complexa mistura de detritos vegetais, algas, fitoplâncton, zooplâncton e biomassa microbiana. Esses componentes são essenciais para a manutenção da biodiversidade aquática, servindo como fonte de nutrientes e energia para diversos organismos (Dzierzbicka-Głowacka *et al.* 2010; Sciessere, 2011; Liu *et al.*, 2023). Além disso, a MOP está envolvida na exportação de carbono orgânico dos sistemas terrestres para os aquáticos, onde pode ser mineralizada ou depositada nos sedimentos, contribuindo para os fluxos globais de carbono (Richey *et al.*, 2002; Scofield *et al.*, 2016). Compreender os processos de degradação da MOP e os fatores que influenciam esses processos é crucial para prever os impactos das mudanças climáticas nos ecossistemas aquáticos.

Apesar da importância da MOP, há uma lacuna significativa no conhecimento sobre como a composição e a dinâmica dessa MO podem ser

afetadas por diferentes cenários de mudanças climáticas. As interações entre temperatura, concentração de CO₂ atividade microbiana e disponibilidade de oxigênio são complexas e ainda pouco compreendidas. A variação desses fatores pode alterar a taxa de decomposição da MOP, influenciando a liberação de nutrientes e gases de efeito estufa, como CO₂ e CH₄ (Hu *et al.*, 2022). Este estudo pretende preencher essa lacuna ao avaliar as alterações na composição da MOP do Rio Negro sob diferentes cenários climáticos projetados pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, do inglês *Intergovernmental Panel on Climate Change*), utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography–Mass Spectrometry*).

A caracterização molecular da MOP é essencial na compressão dos mecanismos de transporte, transformação e sequestro de carbono nos sistemas aquáticos. Nos ciclos biogeoquímicos, a composição molecular da MOP influencia diretamente sua biodisponibilidade, sua degradação microbiana e a eficiência da bomba biológica de carbono (Richey *et al.*, 2002; Canuel *et al.*, 2012). Técnicas modernas, como a GC-MS, permitem avaliar compostos bioindicadores, como ácidos graxos (Hu *et al.*, 2022), pigmentos, lipídios e derivados de fitol (Sciessere, 2011; Liu *et al.*, 2023), os quais estão associados à fonte, idade e grau de processamento da MOP. A identificação dessas moléculas fornece insights importantes sobre o destino do carbono orgânico, permitindo avaliar sua estabilidade, reatividade e papel nos fluxos de carbono entre os compartimentos aquáticos e atmosféricos (Raymond *et al.*, 2013; Scofield *et al.*, 2016).

A escolha de investigar a MO do Rio Negro sob diferentes cenários climáticos é motivada pela necessidade de compreender os impactos das mudanças climáticas em um dos principais ecossistemas aquáticos do mundo. Este estudo objetiva avaliar as alterações na composição da MO em resposta às variações de temperatura e concentração de CO₂, além de investigar a influência do tempo de exposição no processo de degradação. A realização deste estudo é importante para fornecer dados científicos que possam subsidiar políticas de conservação e manejo sustentável dos recursos aquáticos na Amazônia, além de

contribuir para o entendimento global dos impactos das mudanças climáticas nos ciclos biogeoquímicos (Canuel *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2022).

2. Referencial teórico

2.1. Bacia Amazônica e seus principais rios

O Brasil se destaca por sua riqueza em recursos hídricos superficiais, representando um dos principais reservatórios de água doce do planeta (Morais; Jordão, 2002). Este privilégio não apenas evidencia a abundância e diversidade de corpos d'água espalhados no território nacional, mas também ressalta sua importância para os ecossistemas, a biodiversidade, e o sustento da população. Em meio a essa riqueza hídrica, a bacia Amazônica se destaca contribuindo com aproximadamente 71,1% da vazão nacional e cerca de 17 % da vazão de água doce que deságua nos oceanos (Filizola, 2003; Filizola; Guyot, 2009; ANA, 2010; ANA, 2024). De acordo com o *Relatório Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil* da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA, 2024), do total de 255.000 m³/s de vazão média nacional, quase 80 % está concentrada na Bacia Amazônica (Tucci, 1997; Porto; Porto, 2008).

Com cerca de 3.869.953 Km² de extensão em território brasileiro, a bacia Amazônica ainda compreende uma área de 2,2 milhões de km² em território estrangeiro, abrangendo áreas de sete países sul-americanos: Brasil, Colômbia, Bolívia, Equador, Guiana, Peru e Venezuela, sendo que aproximadamente 63% da bacia se encontra no território brasileiro (Carvalho, 2001; Filizola *et al.*, 2002; ANA, 2010; Moreira, 2019; ANA, 2024). Este gigante natural é lar da maior floresta tropical do mundo, sustentando uma biodiversidade incomparável e agindo como um pilar para o ciclo hidrológico global (Bicudo; Tundisi; Scheuenstuhl, 2017). Sua importância ultrapassa as fronteiras naturais, influenciando o clima, a ecologia, e a economia de toda a região.

A bacia Amazônica abriga uma vasta rede fluvial, tendo o rio Amazonas como o principal deste complexo sistema de drenagem, formado por vários afluentes com grande abundância de água, sendo os principais: Xingu, Solimões, Madeira e Negro (Santos; Ferreira, 1999). Cada um desses sistemas hídricos

possui características hidrológicas distintas: enquanto o rio Madeira transporta grandes quantidades de sedimentos, o rio Negro é rico em matéria orgânica dissolvida (MOD) (Scofield *et al.*, 2016).

A classificação das águas amazônicas, foi inicialmente proposta por Sioli (1950, 1975, 1976), que estudou propriedades físico-químicas das águas dos rios e igarapés da Amazônia classificando-as em três tipos: águas brancas, claras e pretas, relacionando suas características com solos e as formações geológicas das zonas de captação (Junk; Furch, 1980; Moreira, 2019) (Figura 1). Os rios de águas pretas, como o rio Negro, são caracterizados por sua coloração escura, resultante da alta concentração de ácidos húmicos e fúlvicos derivados da decomposição da MO vegetal e essa coloração é típica de rios que drenam solos arenosos (podzóis), comuns na região amazônica (Sioli, 1984; Moreira, 2019) (Figura 2).



Figura 1. Rios de águas pretas na Bacia Amazônica.
Fonte: pt.aguasamazonicas.org



Figura 2. Praia de areia no médio rio Negro, destacando as águas rasas de coloração escura, típicas dos sistemas de águas pretas. Ambiente característico de bacias com solos arenosos e elevada concentração de substâncias húmicas provenientes da decomposição vegetal.

Fonte: pt.aguasamazonicas.org Foto: Michael Goulding

O rio Negro, principal afluente da margem esquerda do rio Amazonas, é o segundo maior tributário em volume de água da bacia, contribuindo com cerca de 14% da vazão total (Sioli, 1984; Marinho, 2019b). Além disso, responde por aproximadamente 36% do fluxo de carbono orgânico dissolvido (DOC) transportado da Amazônia para o oceano (Richey *et al.*, 1990; Scofield *et al.*, 2016). Tem sua origem na região pré-andina da Colômbia, e drena uma área total de aproximadamente 712.000 km², percorrendo uma vasta extensão até sua confluência com o rio Solimões, onde forma o rio Amazonas (Filizola; Guyot, 2009; Scofield *et al.*, 2016; Marinho, 2019a).

Além de suas propriedades químicas, o rio Negro desempenha um papel crucial na dinâmica ecológica da Amazônia. Suas águas são altamente ácidas com o pH variando de 3,8 a 5,4 o que influencia diretamente na biodiversidade aquática, favorecendo a presença de espécies endêmicas adaptadas a esse sistema (Marinho, 2019b; Cordeiro *et al.*, 2022; Ribas *et al.*, 2025).

Os ecossistemas aquáticos amazônicos desempenham um papel fundamental no ciclo global do carbono. A decomposição da MO em suas águas resulta na liberação de dióxido de carbono (CO_2), fazendo dele tanto um sumidouro de carbono quanto uma fonte significativa de emissões de CO_2 (Richey *et al.* 1990; Scofield *et al.*, 2016; Ward *et al.*, 2017). O trabalho de Moreira-Turcq *et al.* (2003), evidenciou a capacidade do rio de sequestrar carbono através da absorção de MO e, subsequentemente, sua liberação na forma de CO_2 . Estes processos são fundamentais para entender como os rios amazônicos interagem com a atmosfera e contribuem para os fluxos globais de carbono.

Diante da complexidade hidrológica da bacia Amazônica e da importância do rio Negro na dinâmica do carbono, é fundamental compreender como as mudanças climáticas podem impactar esse sistema. A elevação da temperatura e as variações na concentração de CO_2 afetam não apenas a química das águas, mas também os processos biogeoquímicos responsáveis pela degradação da MO (Canuel *et al.*, 2012; Bendtsen *et al.*, 2015; Hu *et al.*, 2022). Assim, no próximo tópico, discutiremos como essas mudanças influenciam os ecossistemas aquáticos da Amazônia e seus impactos na ciclagem do carbono.

2.2. Mudanças climáticas: Aumento da temperatura e concentrações de CO_2 em ecossistemas aquáticos na Amazônia

As mudanças climáticas representam um dos principais desafios ambientais do século XXI, impactando diretamente nos ecossistemas aquáticos da Amazônia. O aumento da temperatura global e a elevação da concentração de CO_2 atmosférico afetam diversos processos biogeoquímicos, podendo alterar a dinâmica do ciclo do carbono nos rios da região (IPCC, 2021). Na Amazônia, onde os corpos d'água desempenham um papel crucial na regulação do ciclo do carbono, essas alterações podem ter efeitos significativos na biodiversidade aquática e na produtividade primária dos ecossistemas fluviais (Marengo & Souza, 2018). De acordo com o IPCC (2021), as atividades antropogênicas, impulsionadas pela queima de combustíveis fósseis e pelo desmatamento, são os principais causadores das alterações climáticas. Essas atividades liberam grandes quantidades de gases de efeito estufa (GEE), como CO_2 e metano (CH_4), na

atmosfera, resultando no aumento das temperaturas globais (Canuel *et al.*, 2012; IPCC, 2021), podemos ver o aumento da concentração de CO₂ ao longo dos anos (Figura 3).

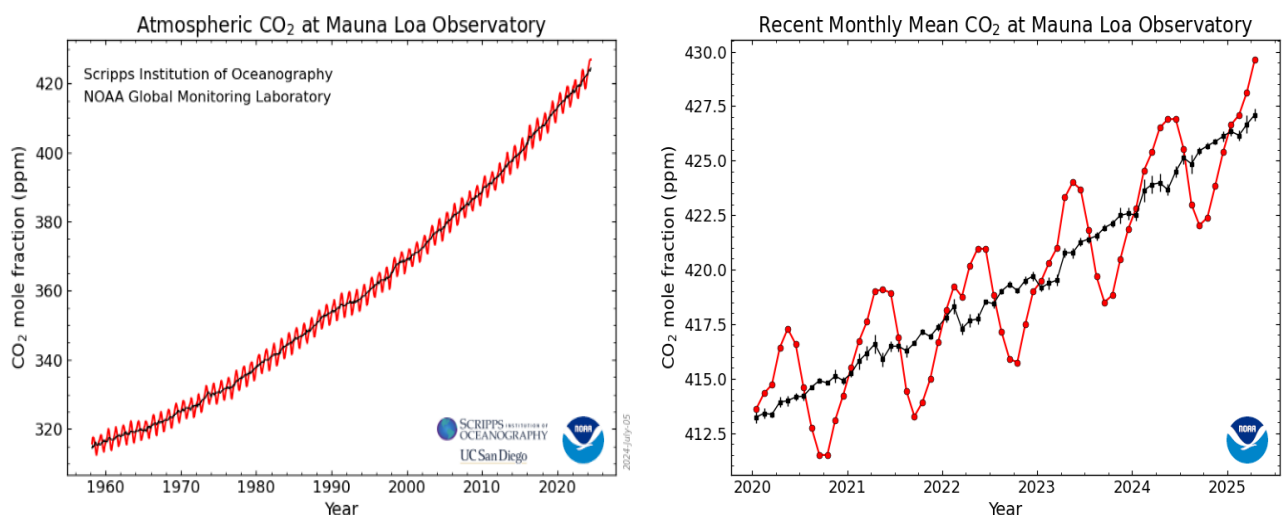


Figura 3. Gráficos com as médias mensal e anual de CO₂ medido no Observatório Mauna Loa, Havaí.

Fonte: gml.noaa.gov.

Desde a década de 1980, há um crescente interesse em estudos científicos sobre a possibilidade de mudança do clima em nível mundial. Com isso, em 1988, a Organização Meteorológica Mundial (OMM) e o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (Pnuma) criaram o IPCC. O órgão ficou responsável por reunir, avaliar e sumarizar as informações técnico-científicas e socioeconômicas relevantes relacionadas às mudanças climáticas (Marengo, 2008). Seus relatórios são cruciais para entender as causas, impactos e potenciais soluções para as mudanças climáticas. O Relatório Especial de Avaliação (AR-6), divulgado em 2021, destaca que as mudanças climáticas influenciam o ciclo de carbono e a biogeoquímica dos ecossistemas, especialmente aqueles de água doce (IPCC, 2021).

De acordo com o IPCC (2021), foram propostos cenários de mudanças climáticas ou Caminhos de Concentração Representativa (RCP's, do inglês *Representative Concentration Pathway*), projetando essas mudanças até o ano 2100. Os RCP's são conjuntos de cenários de emissões de GEE e outros poluentes que servem como entradas para modelos climáticos. Eles descrevem diferentes

trajetórias possíveis para as concentrações atmosféricas de GEE ao longo do tempo com diferentes níveis de aquecimento global.

Os cenários propostos são: cenário de baixas emissões/brando – RCP 4,5, representando um futuro com baixas emissões de gases de efeito estufa (200 ppm), levando a um aquecimento global estimado de 1,5°C. Cenário de emissões intermediárias/moderado – RCP 6,0. Nesse cenário, as emissões de gases de efeito estufa são de nível intermediário (400 ppm), resultando em um aquecimento global estimado de 2,5°C. Por fim, o cenário de altas emissões/drástico – RCP 8.5, que representa um futuro com altas emissões de gases de efeito estufa (850 ppm), levando a um aquecimento global estimado de 4,5°C (IPCC, 2021).

A elevação da temperatura global, com um aumento médio de aproximadamente 1,1°C desde a era pré-industrial tem provocado mudanças nos padrões de precipitação, intensificação de eventos climáticos extremos e alterações significativas nas dinâmicas de ecossistemas terrestre e aquáticos (Kirschbaum, 2006; IPCC, 2021). Em ambientes aquáticos, o aumento da temperatura influencia diretamente a solubilidade do O₂, a taxa metabólica dos organismos e a estratificação da água. O que pode acarretar um aumento da produção de algas e plantas aquáticas podendo intensificar o processo de eutrofização, aumentando assim, a produção primária e a concentração de MO (Canuel *et al.*, 2012; Bendtsen *et al.*, 2015; Porcal *et al.*, 2015). Mudanças na temperatura e nas concentrações de CO₂ podem alterar a composição química influenciando a degradação da MO, e a capacidade dos ecossistemas de sequestrar carbono (Bendtsen *et al.*, 2015; Ward *et al.* 2017).

Na Amazônia, as mudanças climáticas têm manifestações específicas que incluem não apenas o aumento da temperatura, mas também a alteração do regime de chuvas, que afeta diretamente os ecossistemas aquáticos da região. Estudos indicam que a temperatura na Amazônia poderia aumentar até 4°C até o final do século, alterando profundamente o ciclo hidrológico da região (Marengo; Hastenrath, 1993; Melo *et al.*, 2018). Tais mudanças podem levar à intensificação dos períodos de seca e a uma diminuição nos níveis dos rios, afetando a biodiversidade aquática e a disponibilidade de recursos hídricos para as populações locais.

Os ecossistemas aquáticos amazônicos, particularmente os de várzeas e igapós, são altamente sensíveis às flutuações no regime de chuvas e aos aumentos de temperatura. Essas alterações afetam a dinâmica da MO, a qual é crucial para a manutenção da produtividade e da biodiversidade desses ecossistemas. A MO influencia a química da água, a disponibilidade de nutrientes e serve como substrato para numerosos microrganismos (Ward *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2017).

2.3. Matéria orgânica

2.3.1. Matéria orgânica natural em ecossistemas aquáticos

A matéria orgânica natural (MON) em ecossistemas aquáticos é um complexo conjunto de substâncias orgânicas formadas principalmente por processos biogeoquímicos como fotossíntese, excreção de organismos, decomposição da biomassa, incluindo restos de plantas, animais e microrganismos (Bianchi, 2007). A MON é composta por uma ampla variedade de classes de compostos, que surgem de uma fonte biológica inicial, tais como substâncias húmicas, polissacarídeos, aminoácidos, proteínas, peptídeos, lipídios, ligninas, taninos e compostos aromáticos condensados (Karanfil *et al.*, 1999; Beckett; Ranville, 2006; Sillanpää, 2015; Bataglion, 2015). A formação e a dinâmica da MON são influenciadas por fatores bióticos e abióticos, incluindo a atividade microbiana, a fotodegradação e as interações com minerais do solo (Canuel *et al.*, 2012). Esta diversidade de fontes e processos de formação confere à MON uma complexidade estrutural significativa, refletida em sua composição química e comportamento ambiental.

Nos sistemas aquáticos, a MON pode ser dividida em frações hidrofóbicas e hidrofílicas. Enquanto a fração hidrofóbica é principalmente representada por compostos aromáticos, possuindo grupos fenólicos e ramificações com ligações duplas conjugadas, a fração hidrofílica é rica em compostos alifáticos e compostos nitrogenados, como carboidratos, proteínas, açúcares e aminoácidos (Killops; Killops, 2005; Thurman, 2012). Essa distinção é

crucial para entender o comportamento da MON nos diferentes compartimentos aquáticos e sua biodisponibilidade para os organismos aquáticos.

Sua importância para os ecossistemas aquáticos é variada, abrangendo desde sua função como base da cadeia alimentar até seu papel na regulação dos ciclos biogeoquímicos. A MON é uma fonte de carbono e nutrientes essenciais para a produção primária, sustentando a biomassa de fitoplâncton e outros produtores primários, que por sua vez suportam as teias alimentares aquáticas (Fisher, 1978; Ward *et al.*, 2013; Resende, 2015). Dessa forma, compreender a composição e a dinâmica da MON é essencial para avaliar sua influência na qualidade da água, na produtividade primária e nos processos biogeoquímicos dos ecossistemas aquáticos.

2.3.2. Fonte e classificação da matéria orgânica natural em ecossistemas aquáticos

Em ecossistemas aquáticos, a MON pode ser classificada de acordo com sua origem e composição química. Podendo ser originária de fontes autóctones ou alóctones. A primeira é produzida dentro do próprio sistema aquático, derivada de processos biológicos internos, como a fotossíntese realizada por fitoplâncton, algas e macrófitas aquáticas, e pelo metabolismo dos organismos aquáticos (Baker *et al.*, 2008; Artifon; Zanardi-lamardo; Fillmann, 2019). Por outro lado, a MON alóctone tem origem fora do ambiente aquático, proveniente da lixiviação do solo, da decomposição de vegetação terrestre e do escoamento superficial de MO (Derrien; Brogi; Gonçalves-Araujo, 2019; Artifon; Zanardi-lamardo; Fillmann, 2019). No rio Negro, ambas as fontes desempenham papéis significativos, influenciando a composição química da água e os processos biogeoquímicos da região (Minor *et al.*, 2014). Essa distinção é essencial para compreender os processos biogeoquímicos e a dinâmica dos ecossistemas aquáticos da região. A Figura 4 mostra um esquema das fontes e dinâmica da MON em ambientes aquáticos.

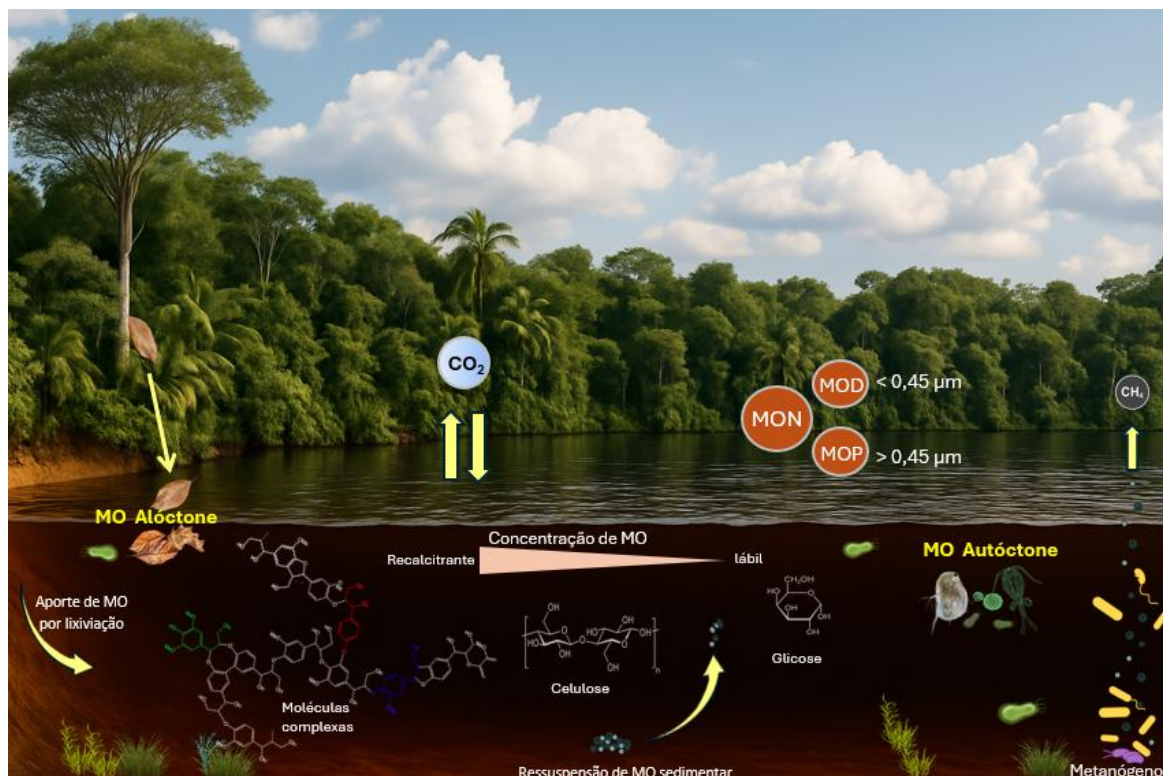


Figura 4. Dinâmica da MO na coluna d'água em sistemas de água doce. MOD: Matéria Orgânica Dissolvida, MOP: Matéria Orgânica Particulada.
Fonte: Adaptado de Le Moigne (2022)

A MON também pode ser subdividida em duas frações com base no tamanho e na solubilidade: MOD e MOP. Na prática, essa distinção é feita de forma operacional por meio de filtração. Tradicionalmente, utiliza-se filtros com porosidade de 0,45 µm para separar as duas frações: a MOD é definida como a fração que passa através do filtro, representando os compostos solúveis na água; enquanto a MOP é a fração retida no filtro, correspondendo ao material em suspensão ou insolúvel. No entanto, diversos autores adotam faixas de corte variadas, com porosidades entre ~0,1 e ~0,7 µm, dependendo da natureza do estudo e das características do sistema aquático investigado (Verdugo *et al.*, 2004; Roulet; Moore, 2006; Azam; Malfatti, 2007; Bataglion, 2012; He *et al.*, 2016).

Em rios de águas pretas, como o Rio Negro, é comum a utilização de filtros com porosidade de 0,7 μm . Isso se deve à alta concentração de MO alóctone com material ainda em decomposição, que pode facilmente entupir filtros com poros menores dificultando o processo de filtração (Melo *et al.*, 2023).

A MON também pode ser classificada com base em sua reatividade e biodisponibilidade. A MO lábil é facilmente degradável por microrganismos, possuindo uma alta taxa de decomposição, enquanto a MO refratária é mais resistente à decomposição e persiste por longos períodos no ambiente (Thurman, 2012; Bataglion, 2015). Essas classificações são cruciais para entender os fluxos de carbono e a disponibilidade de nutrientes nos ecossistemas aquáticos.

Além das fontes primárias de MO, como a produção primária por fitoplâncton (autóctone) e o aporte fluvial e terrestre (alóctone), destacam-se também as fontes secundárias, associadas aos processos de degradação, ressuspensão de sedimentos e infiltração de compostos orgânicos dissolvidos e particulados no leito e margens dos rios. A ressuspensão pode ocorrer por ação hidrodinâmica (como variações de vazão e eventos de cheia), promovendo a reintrodução de material previamente sedimentado na coluna d'água (Thorp; Thoms; Delong, 2010). Já os processos de infiltração envolvem a troca entre água subterrânea e água superficial, podendo liberar MO de zonas ripárias e sedimentos para o ambiente aquático (Battin *et al.*, 2008). Esses processos contribuem para a complexidade e diversidade molecular da MO presente nos ecossistemas aquáticos tropicais.

A distinção entre MOD e MOP em ecossistemas aquáticos, embora operacionalmente definida por filtração, não reflete a natureza dinâmica dessas frações. Na realidade, essas frações estão em constante intercâmbio, influenciadas por mecanismos físicos, químicos e biológicos. Podendo ocorrer a conversão de MOD em MOP por processos de agregação, floculação, coagulação e adsorção em partículas minerais, muitas vezes induzida por interações com íons multivalentes, variações de pH ou mesmo atividade microbiana. Inversamente, a solubilização enzimática da MOP, fragmentação detrital e fotooxidação promovem a liberação de compostos dissolvidos, enriquecendo o pool de MOD com substâncias reativas ou refratárias (Azam; Malfatti, 2007; Verdugo; Santschi, 2010; He *et al.*, 2016). Em ambientes amazônicos, onde há intensa entrada de MO alóctone e elevada atividade microbiana, essas trocas são particularmente relevantes para o fluxo e a reatividade do carbono. Estudos demonstram que, em águas de rios como o Negro,

a MOP pode ser parcialmente formada por agregação espontânea ou induzida da MOD, especialmente sob condições de baixa força hidrodinâmica e alta carga orgânica, como ocorre em águas pretas (Kerner *et al.*, 2003; Mayorga *et al.*, 2005; He *et al.*, 2016)

2.3.3. Matéria orgânica particulada em ecossistemas aquáticos

A MOP é uma mistura complexa constituída, principalmente, por compostos estruturais como celulose, hemicelulose e lignina. Esses compostos são mais estáveis e de baixa solubilidade (Wetzel, 2001; Sciessere, 2011). A MOP inclui uma variedade de materiais orgânicos em suspensão, tais como detritos de plantas, algas, fitoplâncton, zooplâncton, detritos, bactérias entre outros, que são essenciais para a manutenção da biodiversidade aquática (Dzierzbicka-Głowacka *et al.* 2010; Liu *et al.*, 2023).. Além disso, ela contribui para processos fundamentais, como a produção primária e a reciclagem de nutrientes, influenciando a estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Fisher, 2016; Ward *et al.*, 2013).

A variabilidade sazonal também desempenha um papel crucial na concentração e composição da MOP nos ecossistemas aquáticos. Durante os períodos de cheia, por exemplo, há um aumento significativo na entrada de MO terrestre, que pode aumentar a concentração de MOP de fonte alóctone nas águas (Moreira-Turcq *et al.*, 2003). Por outro lado, durante a estação seca, a concentração de MOP tende a diminuir, refletindo a menor entrada de material alóctone e a maior degradação *in situ* (Ward *et al.*, 2013).

A MOP não só fornece uma fonte de carbono e nutrientes para os organismos aquáticos, mas também influencia diretamente os ciclos biogeoquímicos. A decomposição da MOP libera nutrientes essenciais como nitrogênio e fósforo, que são reciclados dentro do ecossistema aquático, promovendo a produtividade primária (Scofield *et al.*, 2016; Minor *et al.*, 2014; Richey *et al.*, 2002). Além disso, por ter uma natureza mais refratária, a MOP pode atuar como uma reserva temporária de carbono, retardando a liberação de CO₂ para a atmosfera (Ward *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2017).

Nos ciclos biogeoquímicos, a MOP está envolvida na exportação de carbono orgânico dos sistemas terrestres para os aquáticos, onde pode ser

mineralizada ou depositada nos sedimentos (Minor *et al.*, 2014). A decomposição microbiana da MOP resulta na liberação de CO₂ e CH₄, gases de efeito estufa que têm implicações significativas para o clima global (Richey *et al.*, 2002; Scofield *et al.*, 2016).

Para entender melhor a reatividade do MO, sua composição e dinâmica nos ecossistemas aquáticos, como e por que a composição do MOP muda com sua origem na coluna de água é importante destacamos brevemente alguns dos principais componentes do MOP.

A fração lipídica da MOP compreende uma variedade de compostos apolares ou fracamente polares, incluindo ácidos graxos, hidrocarbonetos alifáticos (como *n*-alcanos), esteróis e derivados de pigmentos, como o fitol. Esses compostos estão associados principalmente à biomassa de organismos fotossintetizantes, detritos vegetais e micro-organismos aquáticos, sendo menos suscetíveis à degradação do que carboidratos e proteínas (Wakeham *et al.*, 1997; Killips; Killips, 2005; Kharbush *et al.*, 2020). Enquanto os lipídios autóctones são principalmente derivados de fitoplâncton e bactérias, os lipídios alóctones provêm de plantas superiores, que liberam ceras epicuticulares e compostos estruturais para o ambiente aquático, sendo comumente empregados como biomarcadores porque muitos deles são sintetizados por organismos específicos, permitindo uma avaliação quanto a origem e o destino da MO em ecossistemas aquáticos (Kharbush *et al.*, 2020). Em ambientes tropicais como o Rio Negro, marcados por alta carga de MO alóctone, os lipídios tendem a se acumular em maior proporção. Os processos de degradação dos lipídios envolvem a ação de enzimas microbianas e oxidação fotoquímica, podendo levar à formação de compostos mais estáveis, como os hidrocarbonetos de cadeia longa (Hedges, 1986).

Os ésteres desempenham um papel significativo na transformação da MO nos ecossistemas aquáticos, principalmente por meio da atividade microbiana e processos bioquímicos. Bactérias marinhas, como as espécies *Acinetobacter* e *Pseudomonas*, produzem ésteres de cera (ésteres de ácidos graxos) durante a degradação aeróbica de compostos isoprenoides, como o fitol (Rontani *et al.*, 1998).

Os ésteres também podem ser sintetizados por rotas bioquímicas envolvendo a condensação de acil-CoA e álcoois, bem como por meio de processos de oxidação envolvendo aldeídos. Essas vias não apenas contribuem para a formação de ésteres, mas também facilitam a degradação de compostos orgânicos, reciclando nutrientes em ecossistemas aquáticos (Park *et al.*, 2009).

Os *n*-alcanos são hidrocarbonetos lineares saturados, comumente encontrados em sistemas aquáticos associados a fontes vegetais superiores, como ceras epicuticulares de folhas. Compostos ímpares de cadeia longa (como *n*-C₂₇, *n*-C₂₉ e *n*-C₃₁) são amplamente utilizados como biomarcadores de MO alóctone terrestre, devido à sua origem em plantas do tipo C₃ e à sua alta resistência à degradação microbiana e fotoquímica (Rullkötter, 2001; Killips; Killips, 2005). Em contrapartida, *n*-alcanos pares ou de cadeia curta (como *n*-C₁₅ a *n*-C₂₁) são frequentemente relacionados a fontes autóctones, especialmente microbianas ou fitoplanctônicas, podendo também refletir transformações pós-deposicionais da MOP (Saliot, 1981; Medeiros *et al.*, 2005; Guimarães *et al.*, 2019;). A análise da distribuição e abundância relativa desses compostos tem sido amplamente aplicada em estudos geoquímicos voltados à identificação de fontes, rastreamento de transporte e avaliação do destino da MOP em ambientes aquáticos.

Alterações na composição de homólogos de cadeia curta ou em padrões de predominância ímpar/par podem indicar atividade microbiana, oxidação ou mesmo fotodegradação, o que destaca a relevância de compreender como esses processos modificam a MOP ao longo do tempo e sob diferentes condições ambientais. Além disso, a MOP é constituída por uma ampla diversidade de compostos, que apresentam reatividade e estabilidade variáveis frente a fatores como temperatura, pH, disponibilidade de oxigênio, e intensidade da radiação solar (Rullkötter, 2001; Killips; Killips, 2005).

2.3.4. Matéria orgânica particulada no rio Negro

A MOP no Rio Negro trata-se de uma fração majoritariamente alóctone, com origem predominante na lixiviação de solos podzólicos altamente intemperados, responsáveis por liberar compostos húmicos refratários e fenóis substituídos com alto grau de aromaticidade (Gadel *et al.*, 2000; Bardy *et al.*, 2011).

A MOP do rio Negro é composta por elevadas proporções de carbono orgânico total (TOC), podendo atingir até 27% na fração particulada, o que evidencia uma alta carga orgânica mesmo com baixa concentração de sólidos suspensos (Brinkmann, 1986; Gadel *et al.*, 2000; Marinho *et al.*, 2024). Sua composição química inclui ácidos graxos saturados de cadeia longa, fenóis hidroxilados, diácidos carboxílicos e resíduos de lignina, demonstrando baixa contribuição da produção primária aquática e alta preservação de materiais vegetais degradados (Moreira-Turcq *et al.*, 2003a; Mortillaro *et al.*, 2012). Os baixos valores de pH variando de 3,8 a 5,4 e condutividade elétrica ($<15 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), característicos das águas pretas, limitam a atividade biológica aquática, reduzindo a produção primária autóctone e favorecendo a persistência da fração húmica particulada (Brinkmann, 1986; Benedetti *et al.*, 2002).

A dinâmica da MOP no Rio Negro também é fortemente influenciada por aspectos hidrológicos. Durante o percurso fluvial, observa-se uma tendência de diminuição do carbono dissolvido e aumento relativo da MOP, sugerindo mecanismos de floculação, adsorção em partículas minerais e transformação coloidal (Mounier *et al.*, 1999; Moreira-Turcq *et al.*, 2003a). A confluência com rios de águas brancas, como o Solimões, promove uma zona ativa de transformação, da MOP do Negro influenciando nos processos de degradação, sedimentação e redistribuição parcial, mas ainda preserva sua assinatura geoquímica refratária mesmo a jusante da confluência (Gadel *et al.*, 2000; Moreira-Turcq *et al.*, 2003a). Além disso, análises espectroscópicas e por pirólise apontam que a MOP exportada pelo Negro é rica em compostos de origem pedogênica como trimetoxibenzenos e ácidos fenólicos, indicando que os solos da bacia atuam como fontes ativas de MOP, especialmente durante a cheia (Gadel *et al.*, 2000; Bardy *et al.*, 2011). Embora sua contribuição em massa seja modesta frente a outros tributários, como o Solimões, a MOP do rio Negro representa uma importante fração do carbono refratário exportado para o rio Amazonas, com papel relevante na regulação do ciclo biogeoquímico do carbono na bacia Amazônica (Moreira-Turcq *et al.*, 2003b; Mortillaro *et al.*, 2012).

2.3.5. Degradação da matéria orgânica particulada

A degradação da MOP é um processo complexo influenciado por diversos fatores ambientais, como temperatura, concentração de CO₂, radiação solar, atividade microbiana e disponibilidade de oxigênio (Bianchini, 2003; Kirschbaum, 2006; Scofield *et al.*, 2016). A temperatura é um fator determinante na degradação da MOP. A elevação da temperatura geralmente acelera as taxas de decomposição devido ao aumento da atividade enzimática microbiana e das reações químicas (Bendtsen *et al.*, 2015). Estudos indicam que temperaturas mais altas favorecem a decomposição de compostos orgânicos lábeis, resultando em uma rápida mineralização da MOP (Smith *et al.*, 1992). Além disso, variações sazonais de temperatura podem influenciar a composição da MOP, alterando a proporção de componentes lábeis e refratários (Mayer *et al.*, 2006). O aumento da temperatura e dos níveis de CO₂ podem impactar negativamente as funções dos ecossistemas aquáticos por meio da perturbação da produtividade e, especialmente, da degradação da MO (Kirschbaum, 2006; Canuel *et al.*, 2012; Bendtsen *et al.*, 2015)

O aumento dos níveis de CO₂ na atmosfera também pode intensificar a acidificação em sistemas de água doce. Quando o CO₂ atmosférico se dissolve na água, forma ácido carbônico (H₂CO₃), que se dissocia em íons hidrogênio (H⁺) e bicarbonato (HCO₃⁻), promovendo a redução do pH (Thomas; Ramkumar; Shanmugam, 2022). Esse processo é particularmente acentuado em ambientes dulcícolas com baixa alcalinidade, onde a capacidade tamponante é limitada, o sistema carbonato-bicarbonato é rapidamente superado, tornando os ecossistemas mais vulneráveis à acidificação (Ninokawa; Ries, 2022). Além disso, evidências experimentais demonstram que a intensificação do aporte de CO₂ atmosférico pode reduzir significativamente o pH em corpos d'água continentais, especialmente quando associados à baixa capacidade de renovação hídrica e ausência de tamponantes minerais (Tangri *et al.*, 2022; Thomas; Ramkumar; Shanmugam, 2022). Influenciando na solubilidade dos compostos orgânicos e a atividade

microbiana. Isso pode resultar em mudanças na estrutura da MOP, tornando-a mais suscetível à decomposição (Porcal *et al.*, 2015). A acidificação pode também impactar a fotodegradação, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio que aceleram a degradação de compostos orgânicos complexos (Porcal *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2022).

A MOP pode absorver luz ultravioleta e visível, permitindo a ocorrência de reações fotoinduzidas (Kieber *et al.*, 2006; Mayer *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2022). A exposição à luz solar pode alterar a composição química da MOP, resultando na formação de MOD e produtos inorgânicos (Estapa *et al.*, 2012; Pisani *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2022).

A atividade microbiana é fundamental para a degradação da MOP. Microrganismos heterotróficos, como bactérias e fungos, utilizam enzimas extracelulares para hidrolisar compostos orgânicos complexos em formas mais simples, que podem ser assimiladas ou mineralizadas (Smith *et al.*, 1992; Azam; Malfatti, 2007). Como já dito anteriormente, a eficiência dessa degradação depende de fatores ambientais como temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes (Bendtsen *et al.*, 2015). A interação entre microrganismos e a MOP é dinâmica, influenciando diretamente os ciclos biogeoquímicos em ecossistemas aquáticos (Simon *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2022).

Os impactos ecológicos da degradação da MOP são muitos. O processo de decomposição regula a disponibilidade de nutrientes, afetando a produtividade primária e a estrutura das comunidades aquáticas (Wetz *et al.*, 2008; Estapa *et al.*, 2012). Além disso, a degradação da MOP influencia a qualidade da água, contribuindo para processos de eutrofização e a formação de zonas mortas (Estapa *et al.*, 2012). Entender os fatores que controlam a degradação da MOP é crucial para a gestão sustentável dos recursos aquáticos e para prever as respostas dos ecossistemas às mudanças climáticas (Hu *et al.*, 2022).

Diante da complexidade estrutural da MOP e da influência de múltiplos fatores ambientais em sua transformação, a caracterização molecular dessa fração torna-se essencial para compreender os mecanismos de degradação e estabilidade

da MO em ecossistemas tropicais. Nesse contexto, a aplicação de técnicas analíticas de GC-MS se mostra uma ferramenta poderosa para elucidar a composição da MOP e acompanhar suas alterações ao longo do tempo de incubação e sob diferentes cenários climáticos.

2.4. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)

2.4.1. Princípios básicos

A GC-MS é uma técnica analítica que combina a capacidade de separação da cromatografia gasosa (GC) com a capacidade de identificação estrutural da espectrometria de massas (MS). Essa combinação aumentou exponencialmente a capacidade analítica do sistema acoplado, tornando-o indispensável em diversas áreas da química analítica (Lanças, 2019). Na técnica de GC-MS, a amostra é vaporizada e transportada por um gás inerte através de uma coluna capilar, onde os componentes são separados com base em suas interações com a fase estacionária e suas propriedades voláteis. Os componentes separados são então ionizados no espectrômetro de massas e identificados com base na razão massa/carga (m/z) dos íons formados (Hoffmann; Stroobant, 2007; Holler; Skoog; Crouch, 2009; Lanças, 2019). Os componentes principais de um sistema GC-MS são indicados na Figura 5.

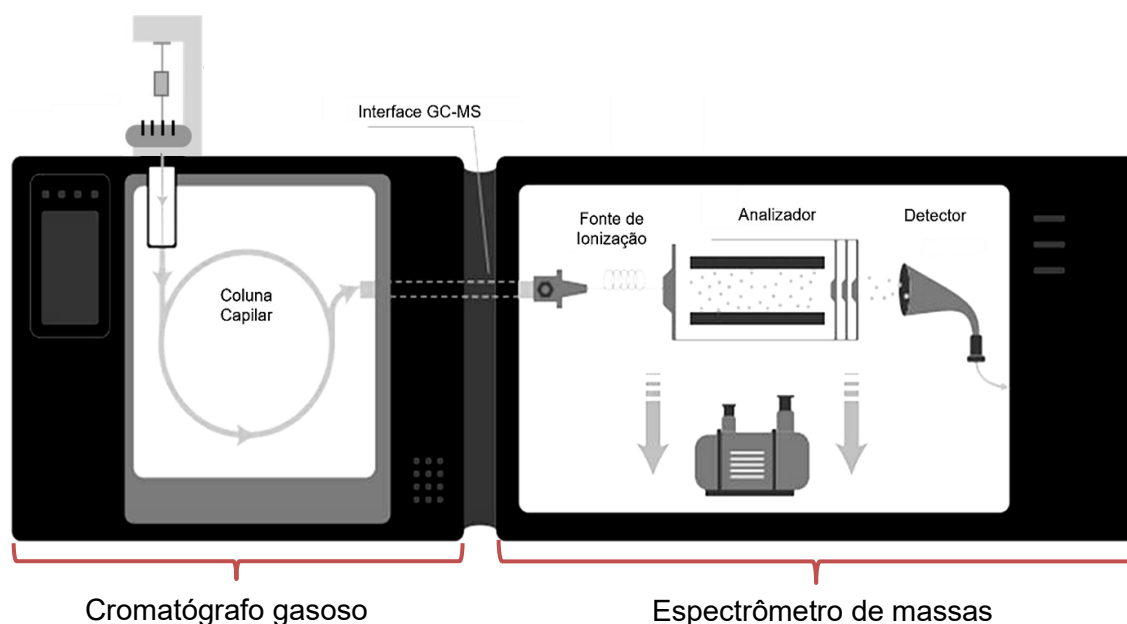


Figura 5. Elementos básicos de um sistema GC-MS.
Fonte: Adaptado de shimadzu.com.

A técnica de GC-MS é particularmente importante devido à sua capacidade de realizar análises em matrizes complexas com alta seletividade e sensibilidade. O acoplamento das duas técnicas permite a separação e a identificação simultânea de compostos em uma única análise. Essa sinergia entre GC e MS permite a identificação desses compostos em matrizes que poderiam ser difíceis de analisar usando apenas uma delas (Hoffmann; Stroobant, 2007; Bataglioni, 2015; Lanças, 2019).

O sistema de GC é composto por quatro componentes principais: o sistema de introdução de amostras (injetor), a coluna cromatográfica, o forno e a interface de acoplamento com a MS. Inicialmente, a amostra é injetada no injetor, onde os compostos são rapidamente aquecidos e vaporizados. Um gás inerte — comumente o hélio (He) — atua como fase móvel, conduzindo os analitos através de uma coluna capilar. A fase estacionária, revestindo a superfície interna da coluna, interage de forma diferencial com os componentes da amostra, promovendo sua separação com base em propriedades físico-químicas, como volatilidade e polaridade (Holler; Skoog; Crouch, 2009; Kolomnikov *et al.*, 2018).

Esse processo de separação é fundamental para análises de misturas complexas, pois permite a identificação e quantificação precisa dos compostos. Cada analito elui da coluna em um tempo característico, resultando em picos distintos no cromatograma (Skoog *et al.*, 2006; Holler; Skoog; Crouch, 2009). O gás de arraste, além de transportar os compostos do injetor até o detector, não deve interagir quimicamente com os analitos, garantindo a neutralidade do processo (Skoog *et al.*, 2006).

O injetor é responsável pela introdução da amostra na coluna cromatográfica, onde ocorre sua vaporização instantânea, assegurando que todos os componentes entrem na fase gasosa. A escolha das condições de injeção depende diretamente do estado físico da amostra (Lanças, 2019). A coluna, geralmente confeccionada em sílica fundida e revestida com uma fase estacionária apropriada, é considerada o elemento central do sistema GC. A eficiência da separação depende de fatores como o tipo de fase estacionária, a programação de temperatura e o fluxo do gás de arraste.

Após a separação cromatográfica, os compostos eluídos são direcionados ao MS, onde são ionizados e analisados. A interface GC-MS desempenha um papel essencial nesse processo, pois deve permitir a transferência eficiente dos analitos da coluna cromatográfica para o espectrômetro de massas, ao mesmo tempo em que mantém as condições de vácuo necessárias para o funcionamento adequado do sistema (Holler; Skoog; Crouch, 2009; Lanças, 2019).

2.4.2. Fonte de ionização

A fonte de ionização é uma parte crucial do MS em sistemas de GC-MS, a fonte de ionização por elétrons (EI, do inglês Electron Ionization) é amplamente utilizada devido à sua capacidade de produzir íons moleculares e fragmentos característicos, que são essenciais para a identificação dos compostos (Lanças, 2019). No método EI, a amostra eluída da coluna cromatográfica é atingida por um feixe de elétrons de alta energia, 70 eV (eletronvolts), a partir de um filamento aquecido. Essa energia é suficiente para retirar um elétron da molécula, formando um cátion (íon molecular). Sendo um processo que envolve muita energia, ele resulta frequentemente em uma série de íons fragmentos devido à quebra das ligações químicas. Uma placa repelente, carregada positivamente, direciona os íons produzidos para uma série de placas aceleradoras (Figura 6). Os íons produzidos são então direcionados para o analisador de massas, onde são separados com base na sua m/z (Hoffmann; Stroobant, 2007; Pavia *et al.*, 2012).

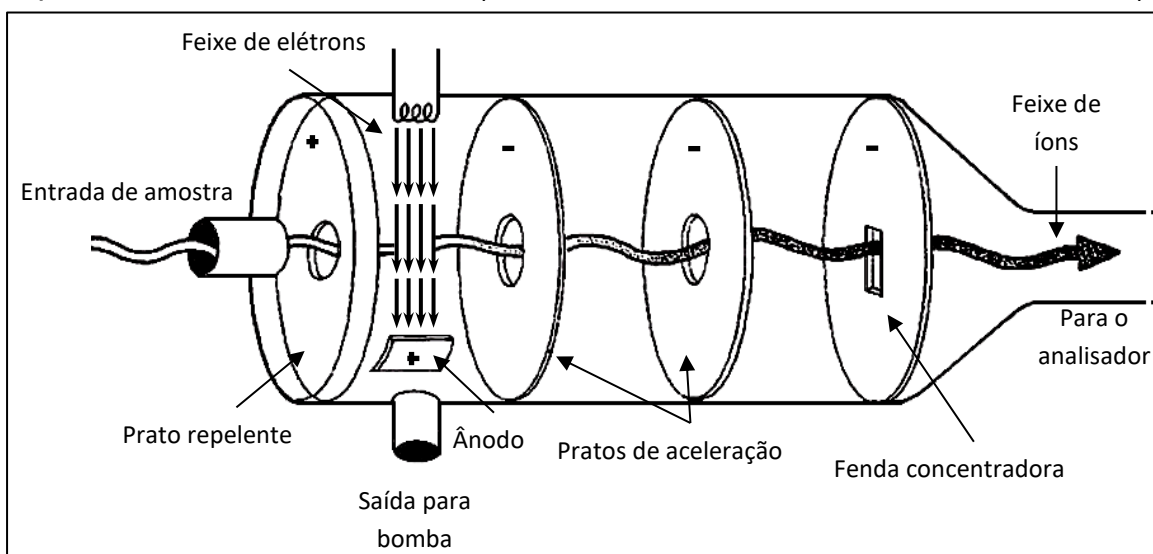


Figura 6. Câmara de ionização de elétrons.
Fonte: Adaptado de Pavia *et al.*, 2012

Segundo Lanças (2019), a fragmentação dos íons na fonte EI é um processo bem compreendido e reproduzível, o que torna essa técnica extremamente útil para a construção de bibliotecas de espectros de massas. Cada composto químico gera um padrão de fragmentação único que pode ser comparado com espectros conhecidos, permitindo a identificação dos compostos presentes na amostra. A robustez e a confiabilidade da EI são outras razões pelas quais essa técnica é preferida em análises de GC-MS. Além disso, a alta energia dos elétrons permite a ionização de uma ampla gama de compostos, incluindo aqueles com estruturas complexas, o que amplia as aplicações da GC-MS em diversos campos (Hoffmann; Stroobant, 2007; Holler; Skoog; Crouch, 2009).

2.4.3. Analisador de massas do tipo quadrupolo

O analisador de massas do tipo quadrupolo opera como um filtro de massa que permite a passagem apenas dos íons com uma m/z específica, rejeitando todos os outros. O quadrupolo consiste em quatro hastes metálicas cilíndricas dispostas paralelamente, com aplicação de voltagens contínuas (DC) e potencial de radiofrequência (RF) aplicadas alternadamente aos pares de hastes. Este campo elétrico oscilante cria uma trajetória estável para os íons de interesse, permitindo sua detecção precisa enquanto os íons com trajetórias instáveis são neutralizados, conforme a Figura 7 (Holler; Skoog; Crouch, 2009; Pires, 2016; Lanças, 2019).

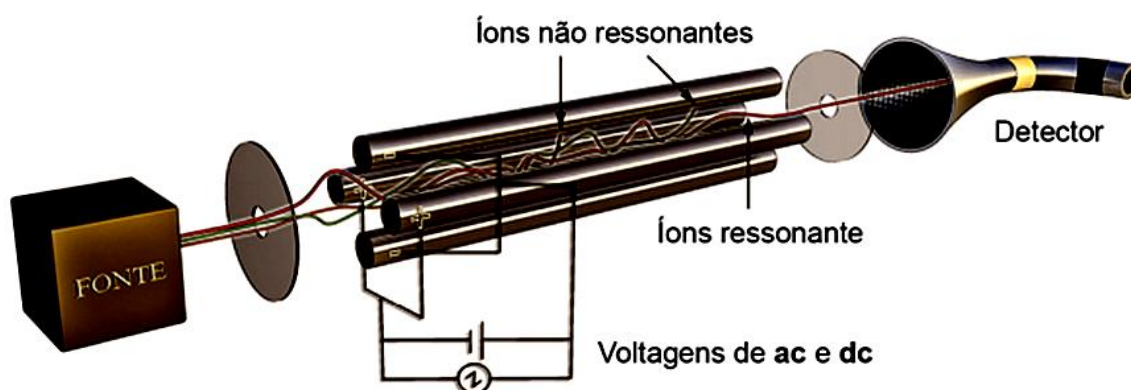


Figura 7. Esquema de funcionamento de um analisador do tipo quadrupolo evidenciando as quatro barras.

Fonte: Lanças, 2013.

Os quadrupolos operam com uma resolução constante, mantendo a razão RF/DC constante (Lanças, 2019). As hastes cilíndricas são configuradas de maneira a criar um campo elétrico que oscila rapidamente, permitindo que apenas íons com uma determinada m/z atravessem o quadrupolo e cheguem ao detector. Este mecanismo é regulado pela Equação de Mathieu, que descreve o movimento dos íons dentro do quadrupolo e determina a estabilidade das trajetórias dos íons em função das voltagens aplicadas (Hoffmann; Stroobant, 2007; Holler; Skoog; Crouch, 2009, Pires, 2016) .

Para um sistema com apenas um quadrupolo, a aquisição dos dados pode ser feita de duas formas principais: através da varredura de uma faixa de massa (modo SCAN), normalmente variando de 50 a 400 u, ou pelo monitoramento de íons selecionados (modo SIM) (Lanças, 2019). Na figura 8 podemos observar os dois modos de aquisição de dados.

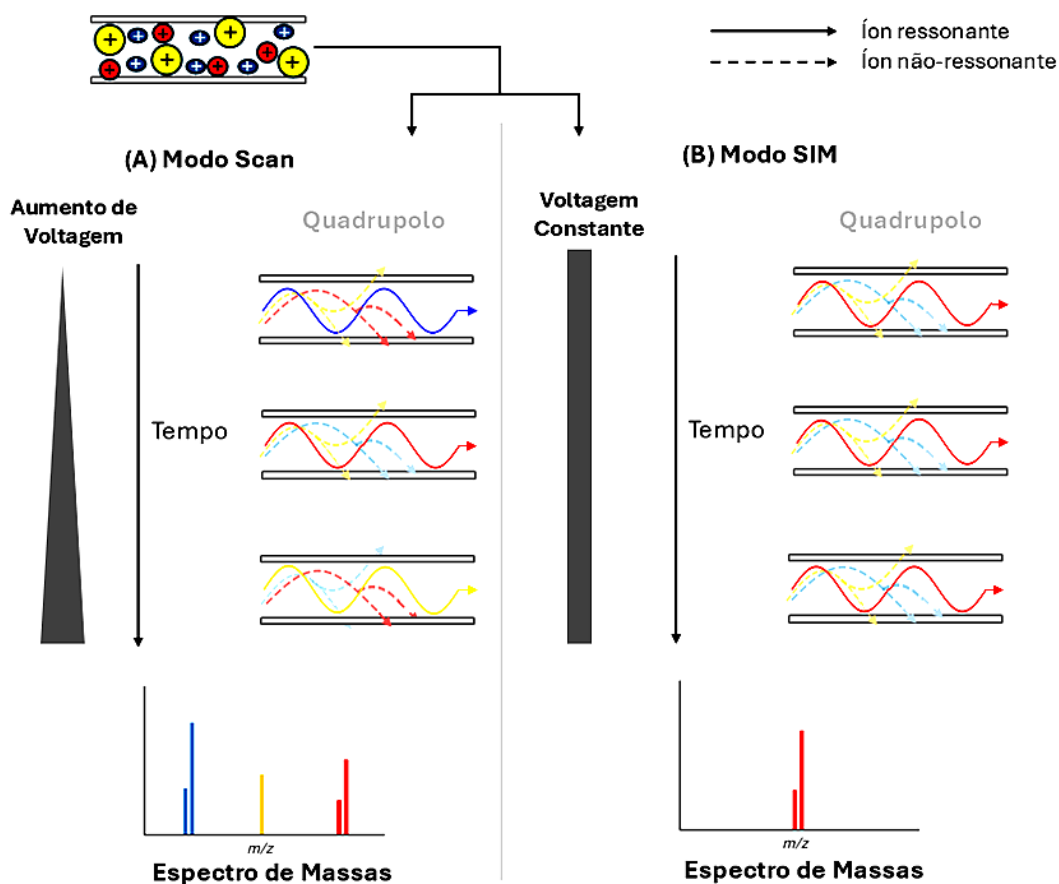


Figura 8. Esquema do modo de varredura (A) e do modo SIM (B) no MS Quadrupolo.
Fonte: Adaptado de shimadzu.com.

No modo de varredura, o quadrupolo opera varrendo uma faixa de m/z , permitindo a detecção sequencial de íons em uma ampla gama de massas. Esse modo é particularmente útil para a análise qualitativa, onde é necessário identificar e caracterizar todos os compostos presentes em uma amostra. A varredura rápida do quadrupolo (até 15.000 u/segundo) possibilita a aquisição de dados em alta velocidade, tornando-o ideal para análises onde a velocidade é crítica (Gross, 2006; Hoffmann; Stroobant, 2007; Lanças, 2019).

No modo SIM, apenas os íons com uma m/z específica são monitorados, o que melhora significativamente a sensibilidade e a seletividade da análise. O modo SIM é amplamente utilizado em análises quantitativas, onde é necessário detectar compostos em baixas concentrações e com alta precisão (Gross, 2006; Hoffmann; Stroobant, 2007; Lanças, 2019).

3. Objetivos

3.1. Geral

Avaliar as alterações da composição da matéria orgânica particulada do Rio Negro sob diferentes cenários de mudanças climáticas.

3.2. Específicos

- Caracterizar a fração de matéria orgânica particulada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, associada a ferramentas de quimiometria, quanto à composição em nível molecular.
- Avaliar o efeito do aumento progressivo da temperatura e da concentração de CO₂ na composição matéria orgânica particulada.
- Avaliar o efeito do tempo de exposição na degradação da matéria orgânica particulada sob diferentes temperaturas e níveis de CO₂.

4. Materiais e métodos

4.1. Área de estudo

As experimentos de incubação deste estudo foram realizados com amostras de água coletadas no rio Negro, afluente a margem esquerda do rio Amazonas, pertencente à bacia amazônica, localizada no território brasileiro. O ponto de coleta está situado a montante da cidade de Manaus, a 1 km antes da confluência do Rio Negro com o Igarapé Tarumã-Açu, apresentando as coordenadas geográficas (S03°07'02.63" e W 60°18'41.92") (Figura 9).

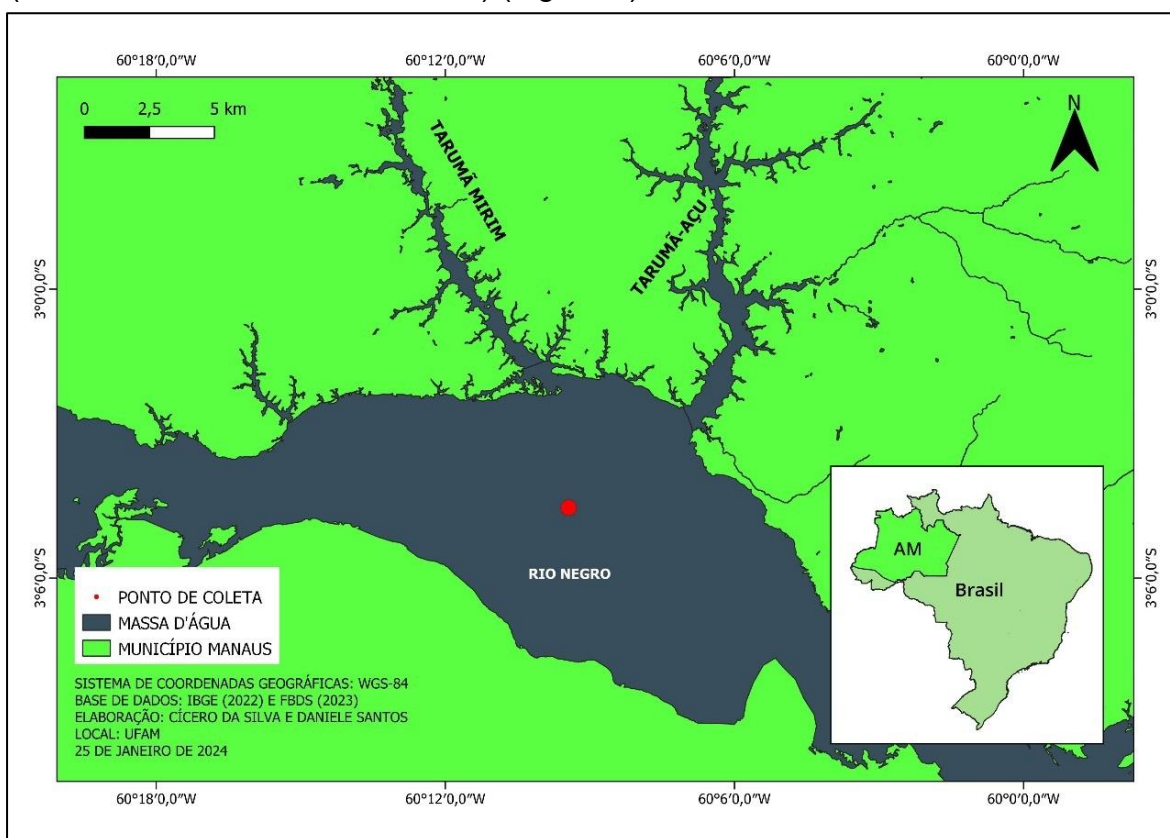


Figura 9. Localização geográfica do Rio Negro (AM) ilustrando o ponto de coleta.

Fonte: O autor (2025).

O ponto de coleta foi escolhido para favorecer a amostragem de MON em detrimento da antropogênica proveniente da área urbana de Manaus. Conforme evidenciado por Almeida (2017), Melo (2019) e Costa (2020), há um aumento significativo de entrada de esgoto doméstico no igarapé Tarumã-Açu, e este deságua no rio Negro, causando certa contaminação por MO antropogênica. Por esse motivo, optou-se por coletar a amostra de água do rio Negro antes da confluência com igarapé Tarumã-Açu.

Foram realizadas duas coletas em períodos distintos:

- Primeira coleta (período de cheia): realizado em 13 de fevereiro de 2023, no período da manhã (Experimento 1).
- Segunda coleta (período de seca): realizado em 18 de outubro de 2024, também no período da manhã (Experimento 2 e 3).

A segunda coleta gerou dois Experimentos (Exp. 2 e 3), foram simuladas duas condições distintas: (i) um ambiente controlado no Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM) (mesmo ambiente do Exp. 1), no qual temperatura e concentração de CO₂ foram controladas simulando os cenários climáticos proposto pelo IPCC; e (ii) um ambiente não controlado na UFAM, que funcionou como um cenário natural simulado, sujeito à luz solar indireta e variações térmicas e de umidade típicas do clima amazônico. Essa distinção permitiu comparar os efeitos de condições ambientais realistas versus condições experimentalmente elevadas sobre a dinâmica da MOP.

A primeira coleta foi feita, em um período de intensa precipitação pluviométrica na região, durante a temporada de cheias do inverno amazônico. Neste dia, o rio apresentou uma cota de 22,90 metros (no porto de Manaus). É importante destacar que não houve chuva no local da coleta durante o período da amostragem. De acordo com dados do site do INMET (Figura 10a), a estação de Manaus (A101) documentou um volume cumulativo de chuva de 21 mm em um período de 24 horas, começando após a conclusão da primeira coleta, enquanto na segunda coleta a estação A101 não registrou precipitação durante as 24 horas (Figura 10b).

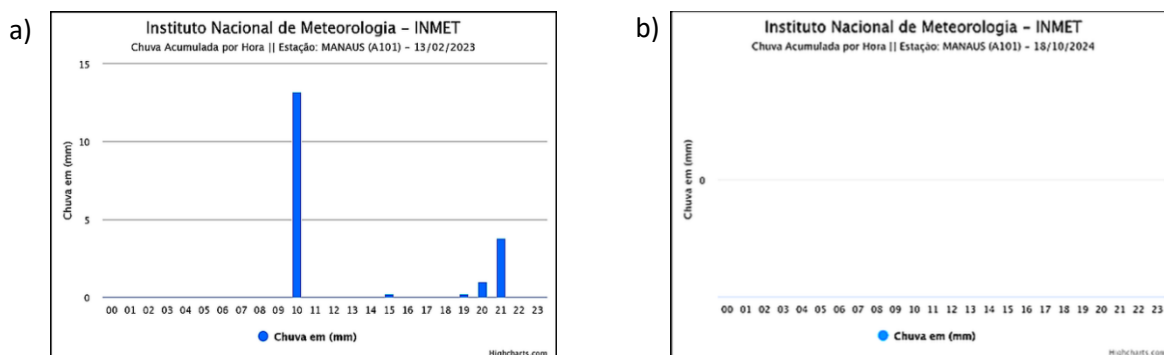


Figura 10. Representações gráficas das precipitações pluviométricas na região no dia da coleta: (a) Distribuição horária de chuva acumulada ao longo do dia 13 de fevereiro de 2023, (b) Ausência de precipitação registrada durante as 24 horas do dia 18 de outubro de 2024.

Fonte: INMET.

A amostragem foi feita utilizando uma garrafa do tipo Van Dorn. Foi coletado um volume total de cerca de 30 L, sendo transferido rapidamente para frascos de vidro âmbar previamente lavados. Esses frascos foram mantidos em isopor com gelo até chegar ao LEEM (Figura 11), onde foram submetidos à exposição nas quatro salas climáticas. Como referência, três alíquotas de 1 L foram reservadas para representar a composição inicial. Essas amostras foram mantidas em frascos âmbar, resfriadas em isopor com gelo, até serem levadas ao Laboratório de Pesquisa e Ensaio de Combustíveis (LAPEC), situado no setor Sul do campus da UFAM/Manaus, para extração das frações de MOP e MOD. As demais amostras foram distribuídas em béqueres de 1 litro para serem submetidas aos experimentos de incubação no LEEM.



Figura 11. Local de exposição aos cenários climáticos. a) Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular – LEEM, b) Interior das salas climáticas.

Fonte: leem.net.br

4.2. Procedimento experimental

4.2.1. Limpeza de vidrarias

Antes da realização da coleta, com o objetivo de prevenir contaminações das amostras, toda a vidraria utilizada no experimento foi devidamente higienizada. O processo de limpeza incluiu a lavagem prévia com solução Extran 5% (v/v), enxágue com água corrente, subsequente enxágue com água destilada e, por fim, enxágue adicional com água ultrapura (18,2 MΩ, sistema Milli-Q®). As vidrarias, com exceção das volumétricas, foram submetidas à calcinação em forno mufla a 400 °C por 4 horas, visando a eliminação de possíveis resíduos de MO. Como

alternativa, as vidrarias volumétricas e/ou de maior tamanho foram rinsadas com etanol.

4.2.2. Solventes e padrões

Para que não houvesse qualquer interferência nas análises foram utilizados reagentes de alta pureza e solventes de grau HPLC como diclorometano (DCM), metanol (MeOH), ambos adquiridos da Tedia (Cidade do México, CMX, México).

No experimentos 2 , a avaliação da recuperação analítica foi realizada por meio da adição de padrões de recuperação antes do processo de extração, escolhidos com base na representatividade estrutural e na estabilidade sob as condições cromatográficas empregadas. Para os *n*-alcanos, foi adicionado 25 µL de *n*-triacontano deuterado (*n*-C₃₀*d*₆₂) a 200 µg/mL, um hidrocarboneto linear com elevada pureza isotópica e comportamento cromatográfico análogo aos alcanos naturais de cadeia longa. Esse padrão permite corrigir perdas durante as etapas de extração, concentração e injeção, conferindo maior confiabilidade aos resultados quantitativos.

Para os ésters metílicos de ácidos graxo (FAME, do inglês Fatty Acid Methyl Ester), foi adicionado 20 µL da solução de nonadecanoato de metila (C_{19:0}) a 50 µg/mL. Esse composto, por não estar naturalmente presente nas amostras ambientais e possuir estrutura compatível com os FAMES-alvo (como C_{16:0} e C_{18:0}), é ideal para estimar a eficiência do processo analítico. A razão entre a área dos compostos detectados e a do padrão de recuperação foi utilizada como métrica de recuperação relativa em cada amostra, permitindo comparações entre diferentes tempos de incubação e cenários experimentais. O uso de padrões de recuperação adequados é uma etapa crítica para a normalização dos dados e interpretação robusta das variações observadas nos estudos de composição molecular da MOP.

Para a identificação dos *n*-alcanos, foi empregada uma solução padrão na concentração de 5 µg/mL de uma série homóloga de *n*-alcanos (*n*-C₇ a *n*-C₄₀) (Supelco®, Bellefonte, EUA).

No experimento 1, não foi possível adicionar padrões de recuperação no início da etapa de extração devido às limitações operacionais enfrentadas durante

a preparação das amostras. Por esse motivo, os extratos desse experimento foram analisados os padrões de recuperação, o que representa uma limitação importante no tratamento dos dados. Como consequência, não é possível afirmar com segurança se a diminuição observada na área de determinados compostos ao longo do tempo reflete de fato uma degradação real da MOP ou se pode ser parcialmente atribuída a perdas durante a extração. Em alguns casos, os dados apresentam um padrão de aumento inicial, seguido de uma queda e, posteriormente, novo aumento, comportamento que poderia estar relacionado a variações na eficiência de recuperação dos compostos ao longo da série experimental. Sem os padrões, não é possível confirmar se as diferenças observadas refletem alterações reais na abundância dos compostos ou se decorrem de inconsistências analíticas. Já no experimento 2, os padrões de recuperação foram devidamente adicionados e os resultados analisados a partir da razão entre a área do composto encontrado pela área do padrão de recuperação utilizados.

4.2.3. Experimento de exposição de água do rio Negro aos cenários climáticos em microcosmo.

No LEEM, há quatro salas climatizadas que simulam diferentes cenários climáticos, nomeadamente sala controle (sala 1), cenário brando (sala 2), cenário moderado (sala 3) e cenário drástico (sala 4). Cada sala reproduz condições específicas, como aumento de temperatura e concentração de CO₂, de acordo com os cenários projetados pelo IPCC. Para projetar os diferentes cenários de aumento de temperatura e concentração de CO₂, o IPCC (2021) baseou-se no histórico de emissões e concentrações de gases de efeito estufa a partir dos Modelos Globais Acoplados Oceano-Atmosfera (AOGCM) para fazer projeções para os RCPs. Os RCPs variam desde baixo (RCP 2,6) até muito alto (RCP 8,5), com dois cenários intermediários (RCP 4,5 e RCP 6,0).

A sala 1 representando o ambiente controle, reproduziu as condições ambientais atuais de temperatura e concentração de CO₂, as quais eram continuamente medidas em uma área de floresta. A sala 2 simulou um cenário brando (RCP 4,5), com aumento de 1,5°C e 200 ppm de CO₂. A sala 3

representando um cenário moderado (RCP 6,0) com aumento de 2,5°C e 400 ppm de CO₂. Por fim, a sala 4 simulando um cenário drástico (RCP 8,5) com aumento de 4,5°C e 850 ppm de CO₂.

As amostras ficaram em exposição nas salas climáticas por diferentes períodos. A primeira coleta resultou no experimento 1: T0 (referência), T2, T7, T14, T21 e T28 (sendo o T28 em triplicata). Enquanto a segunda coleta resultou no experimento 2: T0 (referência), T3, T7, T14, T21 e T31 (sendo o T3 e o T31 em triplicata). Simultaneamente ao experimento 2 nas salas climáticas, foi realizado um experimento extra em condições ambientais naturais em uma sala do nosso laboratório na UFAM (Exp. 3), seguindo a mesma configuração temporal do experimento 2. Em ambos os experimentos, 1 e 2, não foi realizada triplicata de todas as amostra devido à limitação de espaço nas salas climáticas, uma vez que havia outros experimentos em andamento (Figura 12).



Figura 12. Local na sala climática reservado para o experimento, as amostras foram alocadas na bancada da sala climática durante o período de incubação. Cada béquer contendo uma alíquota da amostra original submetida às condições controladas de temperatura e concentração de CO₂, conforme os cenários experimentais simulados.

Fonte: O autor (2025).

Os dois experimentos foram conduzidos com diferentes tempos de incubação, adaptados às condições logísticas e a disponibilidade do laboratório. O Experimento 1, realizado no período de cheia, utilizou os tempos de incubação T2,

T7, T14, T21 e T28, sendo este último feito em triplicata, chegando assim, há um total de 28 amostras (28 béqueres). Já o Experimento 2, feito no período de seca, utilizou os tempos T3, T7, T14, T21 e T31, com triplicata em T3 e T31 nas salas 1 e 4, chegando assim, há um total de 28 amostras (28 béqueres). Essa diferença de design experimental foi mantida para respeitar as condições operacionais e o volume disponível de amostras em cada coleta, sendo considerada nas análises estatísticas e interpretações dos resultados. O experimento 3 foi feito no mesmo desenho experimental do exp. 2.

O esquema apresentado na Figura 13 ilustra os experimentos de incubação, e a nomenclatura utilizada para cada amostra resultante.

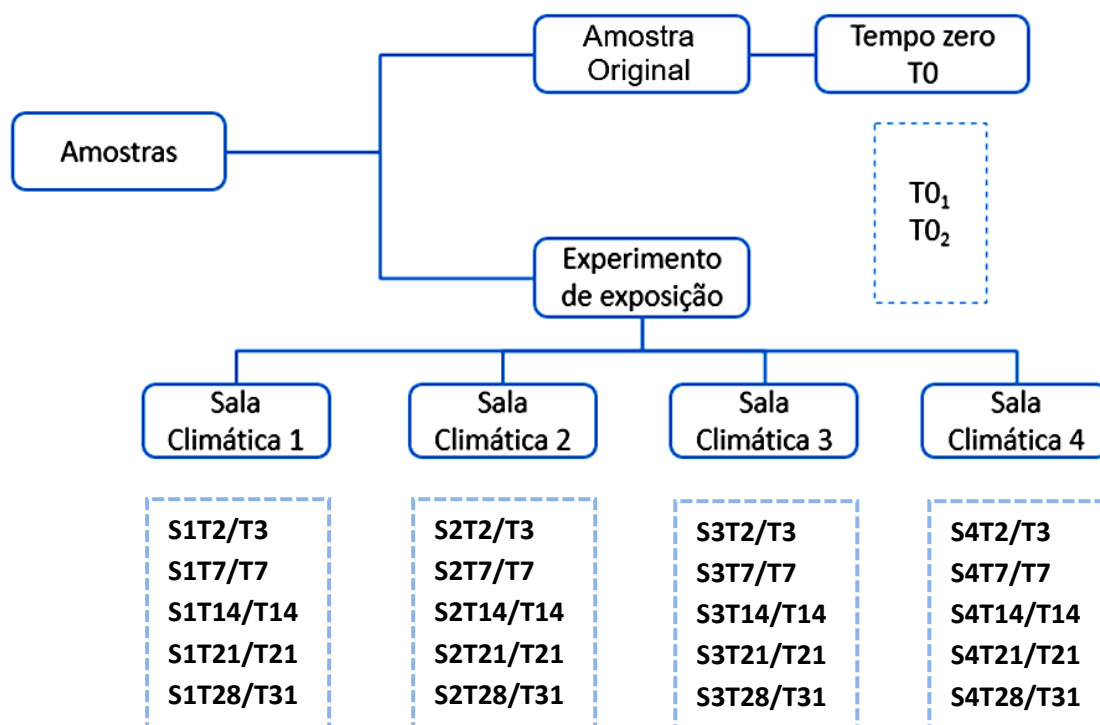


Figura 13. Esquema de organização das amostras nos experimentos. A amostra original foi considerada o tempo zero (T0). As amostras foram incubadas em períodos de T3, T7, T14, T21 e T31 dias, sendo cada uma codificada conforme a sala (S1 a S4) e o tempo de incubação.

Fonte: O autor (2025).

As amostras referência ou amostras originais, foram denominadas tempo zero (T0_A, T0_B e T0_C).

Nos experimentos 1 e 2, as amostras foram identificadas de acordo com a sala de incubação e o tempo de incubação, no formato SxTy, onde Sx representa

a sala de incubação e Ty é o tempo de exposição dias. Nas condições em triplicata foram adicionadas as letras a, b e c para distingui-las. Dessa forma, uma amostra identificada como S3T2 refere-se a um experimento conduzido por 2 dias na sala 3, correspondente ao cenário climático moderado (RCP 6.0). As amostras incubadas na sala controle, que representa o controle experimental, foram nomeadas como S1T2, S1T7, S1T14, S1T21, S1a T28, S1b T28 e S1c T28. Para o experimento 3, as amostras foram identificadas como UTy (U de UFAM), mantendo Ty como tempo de exposição dias e as letras a, b e c para as triplicatas.

As condições nas salas são controladas de forma independente, incluindo temperatura, concentração de CO₂ e umidade relativa do ar. O monitoramento em tempo real dessas variáveis é realizado por sensores instalados em uma torre próxima ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, na qual os dados são enviados a cada dois minutos para os computadores do laboratório. Esses dados são essenciais para ajustar as condições nas salas climáticas, garantindo que reflitam as projeções do IPCC para o ano de 2100. Elas são equipadas com um sistema de temporização que regula automaticamente a iluminação, estabelecendo um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, alinhado com as condições ambientais da região. Esse sistema contribui para manter as condições controladas, assegurando um ambiente estável para a realização do experimento.

Durante o período de incubação, foi observada variação no volume final de algumas amostras, atribuída à evaporação parcial da água nos béqueres, especialmente nas salas com temperatura mais elevada. Ao final de cada tempo de incubação, o volume residual de cada béquer foi medido com proveta graduada e registrado. Os valores de volume final foram utilizados para registro de controle experimental.

4.2.4. Extração de compostos orgânicos

Após o término do período de exposição programado para cada amostra nas salas climáticas, estas foram levadas ao LAPEC para extração da fração da MOP e subsequente caracterização por GC-MS. A Figura 14 ilustra a metodologia empregada neste estudo.

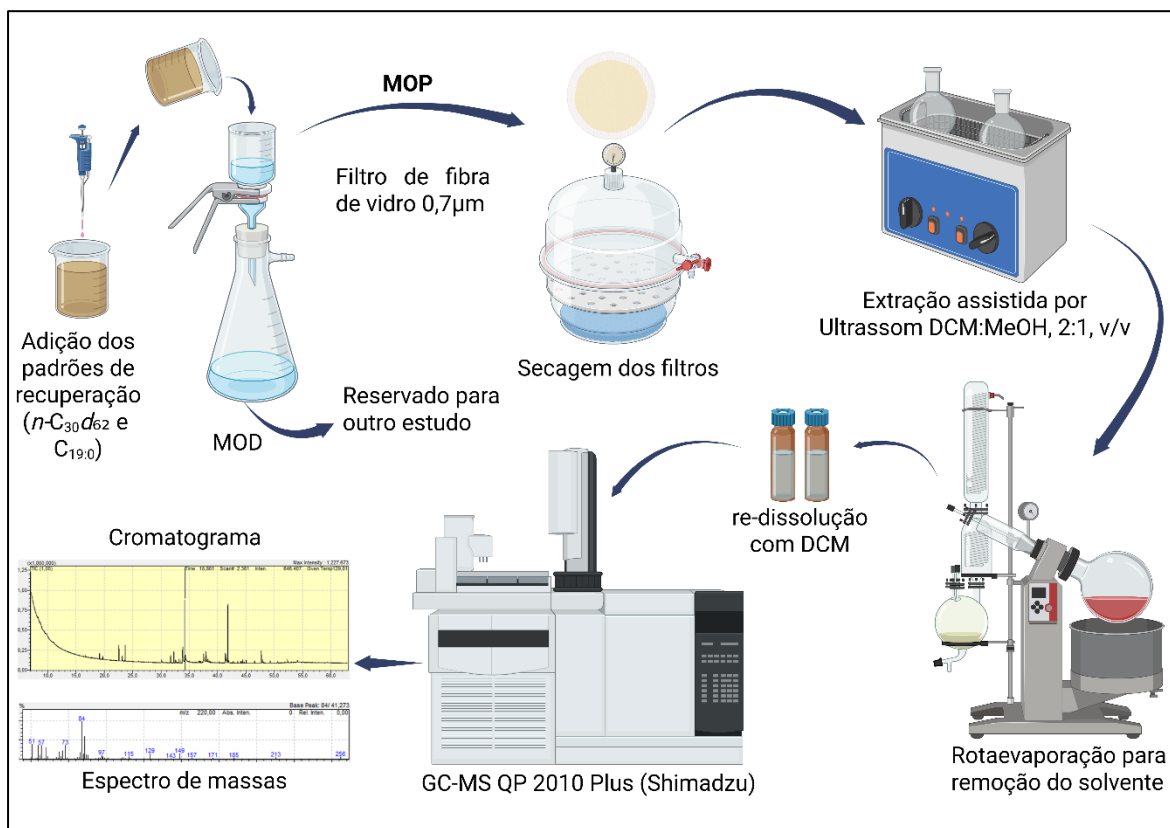


Figura 14. Metodologia utilizada para investigar a composição química na fração de MOP em amostras de águas superficiais.

Fonte: O autor (2025), criado em <https://BioRender.com>.

Assim que chegaram ao LAPEC, as amostras de água foram filtradas utilizando um sistema filtrante de vidro acoplado a uma bomba a vácuo para extração dos compostos orgânicos.

Foram utilizados filtros de microfibras de vidro da Whatman® (Whatman, GE Healthcare, EUA) com 47 mm de diâmetro e porosidade de 2,7 e 0,7 μm , previamente calcinados em forno mufla a 400 °C por 4 horas, e pesados.

Seguindo a proposta do estudo, foi utilizada a fração retida no filtro, que representa a MOP contida na amostra de água. Já o filtrado da amostra constitui a

fração de MOD, a qual foi reservada para outra pesquisa. Após a filtragem das amostras, os filtros foram secados e pesados e, em seguida, submetidos à extração.

A extração dos compostos orgânicos retidos nos filtros foi adaptada de Melo *et al.* (2023), sendo utilizados 15 mL de uma solução de DCM:MeOH (2:1) em banho ultrassônico por 30 min, repetindo esse processo 3 vezes.

Seguindo o processo, com a transferência do sobrenadante para um balão. Repetiu-se o processo por mais duas vezes. Após o término desse processo, o extrato combinado foi rotaevaporado para a retirada do solvente. O preparo das amostras para a análise no GC-MS deu-se pela adição de 500 µL de DCM na amostra seca contida no balão volumétrico, por duas vezes para fazer a redissolução dos compostos orgânicos. Em seguida a amostra foi transferida para o vials para serem analisadas.

4.2.5. Análise por GC-MS

A composição química da MOP foi avaliada por GC-MS utilizando um equipamento da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP2010, com amostrador automático, disponível na Central Analítica da Escola Superior de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do Amazonas (ESA/UEA) (Figura 15).



Figura 15. Equipamento GC-MS do Laboratório da Central Analítica da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESA), localizado na Universidade Estadual do Amazonas – UEA.
Fonte: O autor (2025).

No cromatógrafo, foi utilizada uma coluna capilar VF-5MS, com as seguintes especificações: 30,0 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de fase estacionária de 0,25 μm . Foi utilizado o gás hélio como fase móvel, com uma vazão de 1,00 mL min⁻¹. O processo de aquecimento começou a 60 °C por 5 minutos, seguido de um aumento gradual até 300 °C a uma taxa de 5 °C mn⁻¹, finalizando em isoterma por 10 minutos. A injeção das amostras foi feita por um injetor automático, modelo AOC-20i, no modo sem divisão de fluxo (splitless), utilizando um volume de amostra de 1,00 μL . As temperaturas do injetor, da linha de transferência e da fonte de íons foram ajustadas para 280, 300 e 200 °C, respectivamente.

As análises foram feitas no modo de varredura de íons totais (full scan) de 50 a 500 u, com uma fonte de ionização EI em 70 eV, utilizando o software GCsolution para aquisição e análise dos dados. Os compostos foram então identificados por comparação com os dados descritos na literatura e os perfis da biblioteca de espectros de massa NIST.

4.2.6. Tratamento estatístico

As análises estatísticas foram conduzidas com o objetivo de avaliar as variações na composição e massa da MOP em função do tempo de incubação e dos diferentes cenários climáticos simulados. Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade de variância de Brown-Forsythe. A análise de variância unifatorial (ANOVA one-way) foi aplicada para comparar os dados considerando isoladamente os fatores tempo de incubação ou sala climática (condição ambiental). Quando ambos os fatores foram considerados simultaneamente, foi utilizada a análise de variância bifatorial (Two-Way ANOVA) sem repetição, a fim de identificar os efeitos principais e interações significativas entre tempo e ambiente experimental sobre os parâmetros avaliados.

Nos casos em que os pressupostos da estatística paramétrica não foram atendidos, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para a identificação das diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, foram

aplicados testes post-hoc: o teste de Tukey. Todas as análises univariadas foram realizadas no software SigmaPlot 14.0, adotando-se um nível de significância de $p < 0,05$.

Além das análises univariadas, foram realizadas análises multivariadas para a avaliação integrada da composição molecular da MOP. A Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) foi empregada como ferramenta exploratória para redução da dimensionalidade dos dados e para a identificação de padrões e agrupamentos de similaridade entre as amostras. A matriz de entrada utilizada foi composta pelos valores brutos das variáveis de abundância relativa, organizadas com base na matriz de variância e covariância, e os dados foram autoescalados para compensar diferenças de magnitude entre variáveis e garantir maior uniformidade na distribuição dos loadings.

Complementarmente, foi aplicada a Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*), utilizando o índice de similaridade de Bray-Curtis, com o objetivo de agrupar as amostras com base em suas características composicionais. O dendrograma resultante possibilitou a visualização das relações de proximidade entre os perfis moleculares das diferentes amostras, destacando possíveis agrupamentos influenciados pelas condições experimentais. Ambas as análises multivariadas foram realizadas no software PAST (versão 4.03).

Adicionalmente, os demais gráficos comparativos entre os diferentes tempos e condições experimentais e variação de massa da MOP foram gerados no software OriginPRO 2018, com o objetivo de apresentar visualmente as tendências de variação nos parâmetros avaliados ao longo do tempo de incubação e entre os diferentes cenários simulados.

5. Resultados e discussão

5.1. Evolução temporal da massa de material particulado

A massa de material particulado retida nos filtros de fibra de vidro, resultante da incubação da água do rio Negro nos experimentos conduzidos no microcosmo de cenários climáticos, o experimentos 1 apresentou variações expressivas ao longo do tempo (Figuras 16). Essas variações refletem possíveis mudanças nos processos biogeoquímicos induzidos pelas diferentes condições simuladas. A Tabela 1 apresenta os dados quantitativos consolidados deste experimento.

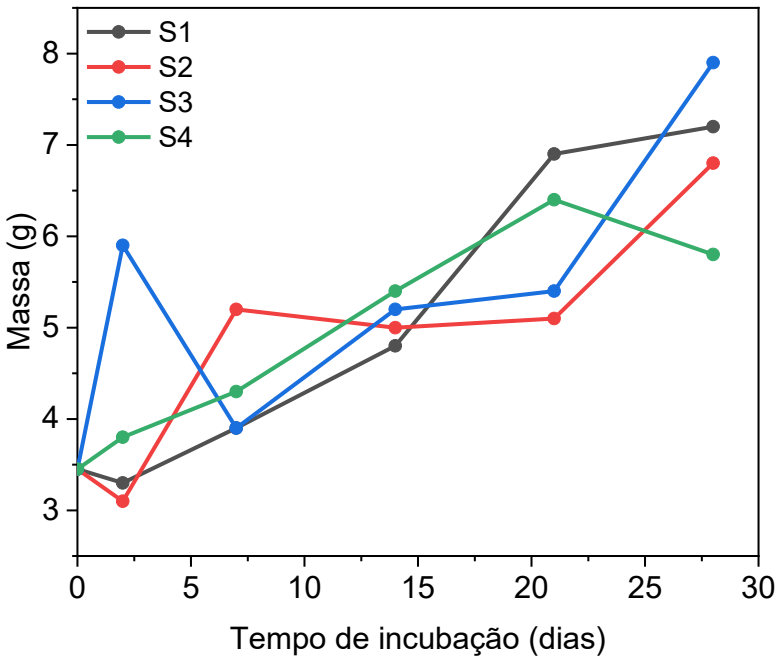


Figura 16. Variação da massa de material particulado retida nos filtros de fibra de vidro ao longo do tempo de exposição nas quatro salas climáticas do Experimento 1 (LEEM).
Fonte: O autor (2025).

Tabela 1. Massa (mg) do material particulado retido nos filtros para amostras submetidas à incubação no microcosmo que simula os cenários climáticos previstos pelo IPCC para 2100 – Experimento 1

Amostra original						
Média T0	Salas	2 dias	7 dias	14 dias	21 dias	Média T28
3,5	S1	3,3	3,9	4,8	6,9	7,2
	S2	3,1	5,2	5,0	5,1	6,8
	S3	5,9	3,9	5,2	5,4	7,9
	S4	3,8	4,3	5,4	6,4	5,8

Fonte: O autor (2025).

No experimento 1, realizado em ambiente controlado sob diferentes simulações de cenários climáticos, foi observada uma tendência de aumento gradual da massa da MOP em todas as salas. A análise estatística por ANOVA de dois fatores (tempo e sala, sem repetição) revelou que o fator tempo de incubação teve influência estatisticamente significativa sobre a variação da massa ($p < 0,05$), enquanto o fator sala climática não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Esse resultado indica que, independentemente do cenário climático simulado, o tempo de exposição foi o principal determinante das alterações observadas na massa da MOP.

Essa tendência de acúmulo pode ser interpretada como resultado de processos de floculação, deposição particulada, ou ainda da formação de novos compostos por atividade microbiana ou reações orgânicas. A tendência de aumento da massa observada nesse experimento sugere não apenas um acúmulo físico de material particulado, mas também a ação de processos biogeoquímicos que controlam sua retenção e transformação. Estudos demonstram que, sob condições de exposição prolongada, biofilmes microbianos favorecem a deposição e retenção de partículas, além de estimular a produção de substâncias extracelulares que promovem floculação e agregação (Battin *et al.*, 2003; Wyatt *et al.*, 2019).

Como observado por Tremblay e Benner (2009) e Zhou *et al.* (2021), compostos nitrogenados de origem bacteriana se acumulam à medida que a MO envelhece, alterando a razão C:N e promovendo aumento da massa total retida. A diagênese precoce descrita por Killops e Killops (2005) apoia esse achado, destacando que lipídios e carboidratos estruturais, especialmente quando protegidos por matrizes recalcitrantes como lignina, podem resistir à degradação e favorecer a preservação de biomassa particulada.

Embora o trabalho de Scieessere (2011) indique uma perda de massa de material particulado associado à degradação de macrófitas aquáticas, os dados apontam para um comportamento inverso, sugerindo que mecanismos como colonização microbiana, recombinação de fragmentos orgânicos e formação de agregados recalcitrantes atuaram como forças de retenção (Li *et al.*, 2016; Paccagnella *et al.*, 2020). A literatura aponta que a atividade microbiana é fortemente influenciada pela qualidade do substrato orgânico e pela disponibilidade

de nutrientes e oxigênio (Ylla *et al.*, 2012). A persistência ou acúmulo de MOP pode, assim, ser interpretada como reflexo da recalcitrância molecular dos compostos dominantes no material particulado, estruturas poliméricas como celulose e lignina, que são lentamente degradadas mesmo sob condições aeróbias (Killops; Killops, 2005).

A ausência de diferença significativa entre as salas no experimento 1 corrobora a ideia de que o tempo de incubação, mais do que a variação climática simulada, exerceu papel determinante na retenção e reorganização da MOP (Ylla *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2021).

Em contraste, o experimentos 2 (Figura 17) não revelou um padrão definido ou uma tendência consistente na variação da massa do material particulado, dificultando a interpretação dos resultados. Essa inconsistência pode ser atribuída, em parte, a eventos ocorridos especialmente nos tempos T21 e T31 nas Salas 3 e 4, submetidas às condições climáticas extremas correspondentes aos cenários RCP 6.0 e RCP 8.5. A Tabela 2 apresenta os dados quantitativos consolidados deste experimento.

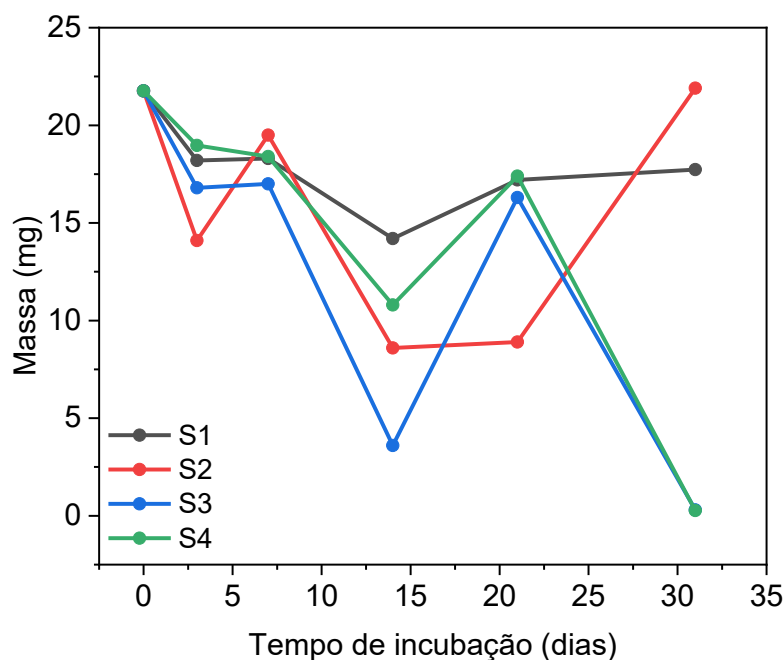


Figura 17. Variação da massa de MOP retida nos filtros de fibra de vidro ao longo do tempo de exposição nas quatro salas climáticas do Experimento 2 (LEEM).
Fonte: O autor (2025).

Tabela 2. Massa (mg) do material particulado retido nos filtros para amostras submetidas à incubação no microcosmo que simula os cenários climáticos previstos pelo IPCC para 2100 – Experimento 2

Amostra original						
Média T0	Salas	Média 3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	Média T31 dias
21,8	S1	18,2	18,3	14,2	17,2	17,7
	S2	14,1	19,5	8,6	8,9	21,9
	S3	16,2	17,0	3,6	16,3	0,3
	S4	19,0	18,4	10,8	17,4	0,3

Fonte: O autor (2025).

Nesses momentos, as amostras evaporaram completamente, exigindo a re-dissolução do material particulado em água destilada para continuidade das análises. A queda abrupta da massa de material particulado observada nestas salas pode refletir não apenas a perda física de material durante a evaporação, mas também uma redistribuição incompleta ou inadequada do material na etapa de re-dissolução, além da possível retenção de compostos nos recipientes utilizados. Além disso, a elevada heterogeneidade entre as salas no tempo T31 sugere que, sob condições mais severas de temperatura e concentração de CO₂, processos como volatilização e degradação podem ser intensificados. Tais processos podem levar à transformação ou mesmo mineralização de frações mais lábeis do material particulado, reduzindo a quantidade recuperada no momento da coleta.

Portanto, o padrão observado no Experimento 2 provavelmente resulta de uma combinação entre limitações experimentais — como perdas por evaporação e dificuldades na reconstituição do material — e respostas biogeoquímicas reais à exposição a condições climáticas extremas. Esses resultados reforçam a importância de um rigoroso controle das perdas físicas e um monitoramento detalhado durante incubações prolongadas, especialmente sob cenários ambientais extremos, para garantir a fidelidade dos dados obtidos.

5.2. Composição química da matéria orgânica particulada

As análises por GC-MS apresentaram principalmente duas classes de compostos: FAMES e *n*-alcanos (Figura 18).

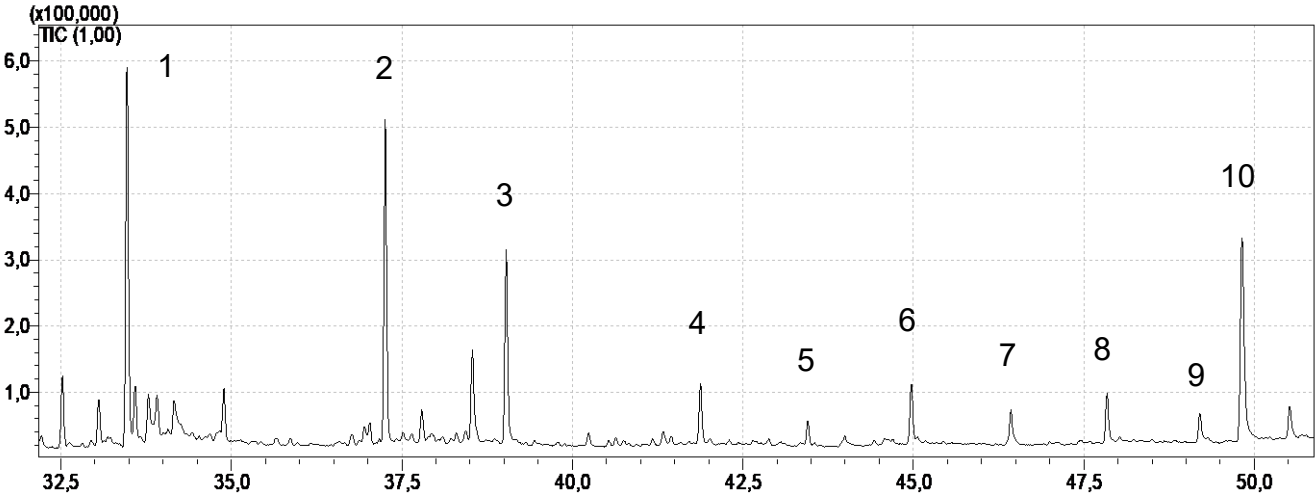


Figura 18. Cromatograma dos compostos orgânicos presentes na amostra T31S1A, representando as classes de compostos identificadas como FAMES e *n*-alcanos. Os picos correspondem aos seguintes compostos: **1** – Hexadecanoato de metila (C_{16:0}), **2** – Octadecanoato de metila (C_{18:0}), **3** – Nonadecanoato de metila (C_{19:0}, padrão interno), **4** – *n*-Tetracosano (*n*-C₂₄), **5** – *n*-Pentacosano (*n*-C₂₅), **6** – *n*-Hexacosano (*n*-C₂₆), **7** – *n*-Heptacosano (*n*-C₂₇), **8** – *n*-Octacosano (*n*-C₂₈), **9** – *n*-Nonacosano (*n*-C₂₉), **10** – *n*-Triacotano deuterado (*n*-C₃₀d₆₂, padrão de recuperação).
Fonte: O autor (2025).

A Tabela 3 resume as informações dos compostos identificados nos três experimentos, incluindo fórmula molecular, massa molecular, tempo de retenção (*t_r*), íons de *m/z* referentes aos picos base e grau de similaridade com os espectros da biblioteca NIST20s.

Tabela 3. Compostos identificados por GC-MS na MOP proveniente de amostras de água do Rio Negro incubadas em microcosmo simulando cenários climáticos para 2100

Nome do Composto	Classe	Fórmula Molecular	Massa Molecular (u)	<i>t_r</i> (min)	Pico Base (<i>m/z</i>)	Similaridade com NIST (%)
Hexadecanoato de metila (C _{16:0})	FAME	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	33.480	74	92
Octadecanoato de metila (C _{18:0})	FAME	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	37.266	74	95
<i>n</i> -Tetracosano (<i>n</i> -C ₂₄)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₄ H ₅₀	338	41.885	57	94
<i>n</i> -Pentacosano (<i>n</i> -C ₂₅)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₅ H ₅₂	352	43.459	57	93
<i>n</i> -Hexacosano (<i>n</i> -C ₂₆)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₆ H ₅₄	366	44.976	57	95
<i>n</i> -Heptacosano (<i>n</i> -C ₂₇)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₇ H ₅₆	380	46.438	57	93
<i>n</i> -Octacosano (<i>n</i> -C ₂₈)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₈ H ₅₈	394	47.848	57	95
<i>n</i> -Nonacosano (<i>n</i> -C ₂₉)	<i>n</i> -Alcano	C ₂₉ H ₆₀	408	49.209	57	93

Fonte: O autor (2025).

A identificação dos FAMES $C_{16:0}$ e $C_{18:0}$ está em concordância com os padrões esperados de fragmentação por EI, ambos com grau de similaridade >92%, cujos espectros apresentam íons característicos como m/z 74 e 87, típicos de cadeias lineares saturadas (Sparkman *et al.*, 2011; Gross, 2017). Tais fragmentos derivam da clivagem adjacente ao grupo éster e da perda de grupos metila ($-CH_3$) ou metoxila ($-OCH_3$), sendo amplamente usados como marcadores estruturais em MS. A comparação com a biblioteca NIST nos fornece uma identificação preliminar dos compostos com alta similaridade (Figura 19 e Figura 20).

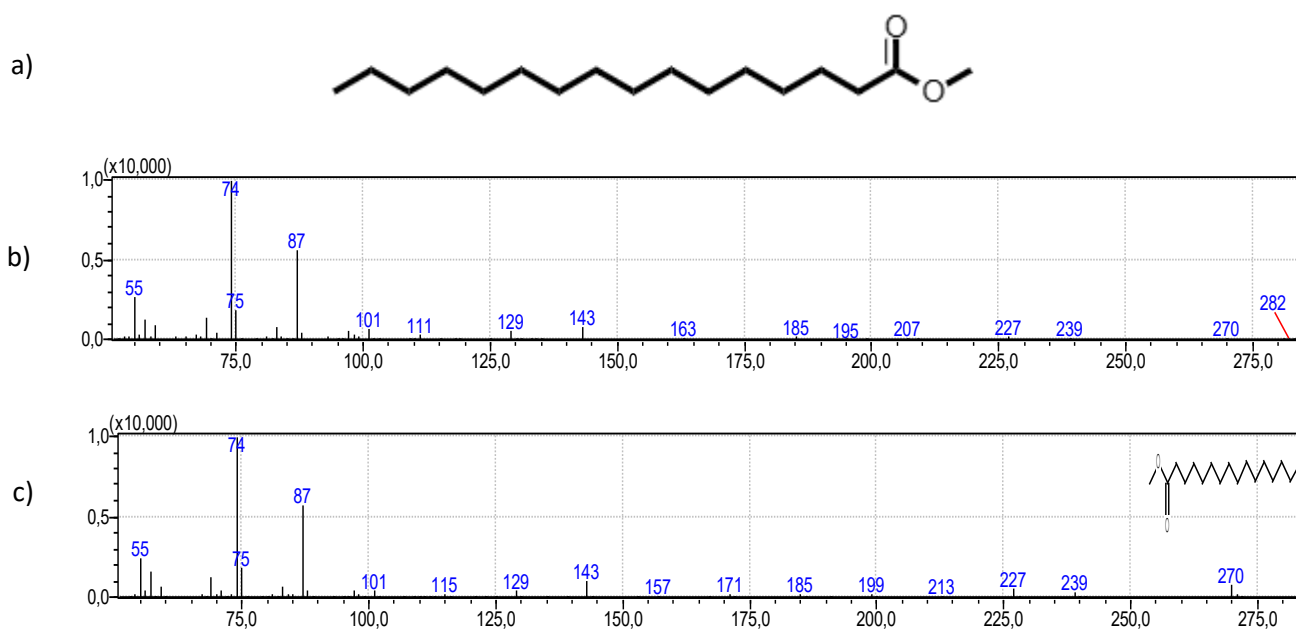


Figura 19. Comparação dos espectros de massas dos FAMES a) estrutura química do Hexadecanoato de metila b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).

Fonte: O autor (2025).

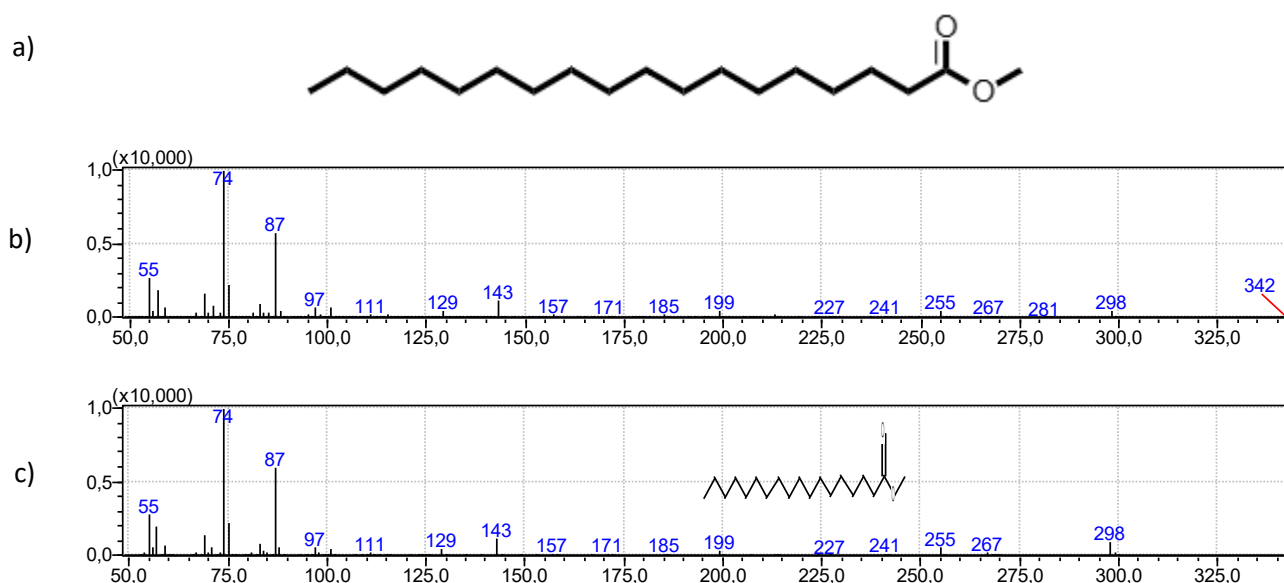


Figura 20. Comparação dos espectros de massas FAMES a) estrutura química do Octadecanoato de metila b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).

Fonte: O autor (2025).

A detecção de FAMES em amostras de água do rio Negro incubadas em laboratório, sem a aplicação de agentes de derivatização, constitui uma observação inusitada que suscita hipóteses relevantes sobre a atividade microbiana em sistemas aquáticos naturais. Em análises cromatográficas, os FAMES são geralmente produtos artificiais obtidos pela esterificação de ácidos graxos com MeOH, catalisada usualmente por ácidos durante o preparo da amostra, com o objetivo de aumentar a volatilidade e facilitar a identificação por GC-MS. Assim, sua presença direta em amostras não submetidas a esse tipo de tratamento aponta para uma possível formação biogênica espontânea durante o período de incubação.

Amostras provenientes do rio Negro, um ecossistema de águas pretas caracterizadas por baixa concentração de nutrientes inorgânicos, pH entre 3,8 e 5,0, e abundância de compostos húmicos. Apesar dessa aparente limitação trófica, estudos metagenômicos e metatranscriptômicos revelam uma microbiota altamente diversificada e ativa, com destaque para actinobactérias (Sylvain *et al.*, 2023). Esses microrganismos são reconhecidos por sua alta versatilidade metabólica, incluindo a degradação de polímeros complexos, o uso de fontes alternativas de

carbono, e a expressão de enzimas como metiltransferases e hidrolases lipídicas (Ishige *et al.*, 2003; Wentzel *et al.*, 2007; Sylvain *et al.*, 2023)

Nesse contexto, a hipótese mais plausível para a formação de FAMES durante a incubação é a metilação microbiana de ácidos graxos previamente liberados por hidrólise de triglicerídeos e fosfolipídios presentes na MOD. Essa via pode ocorrer por diferentes mecanismos: I) produção microbiana de MeOH endógeno, proveniente da degradação de pectinas, ligninas e outros polissacarídeos metoxilados por bactérias fermentativas; II) atividade de metiltransferases bacterianas, com uso de doadores de grupo metila como S-adenosilmetionina (SAM), permitindo a formação de ésteres metílicos a partir de ácidos graxos livres; ou III) transesterificação enzimática envolvendo MeOH de origem biológica, catalisada por lipases ou esterases produzidas por actinobactérias, cianobactérias ou fungos presentes na comunidade microbiana aquática.

Embora tais rotas sejam descritas principalmente em contextos biotecnológicos (Ward *et al.*, 2021) — como na produção de biodiesel por cepas microbianas geneticamente modificadas ou cultivadas em biorreatores — sua ocorrência em ambientes naturais ou simulados (como incubações laboratoriais) não pode ser descartada, especialmente quando se considera o tempo de incubação, as condições estáveis de temperatura e luminosidade, que podem favorecer a expressão de rotas metabólicas menos usuais.

Além disso, é necessário considerar que a degradação da MO vegetal, abundante nos igarapés e margens do Rio Negro, pode fornecer substratos lipídicos (como ácidos graxos C_{16:0} e C_{18:0}) que servem de base para a formação de FAMES. Estudos anteriores mostram que as plantas superiores liberam ácidos graxos de cadeia longa durante a decomposição (Killops; Killops, 2005), os quais, em presença de microrganismos com capacidade metilante, poderiam ser convertidos em ésteres metílicos. Microorganismos, incluindo bactérias e fungos, podem produzir enzimas esterases que facilitam o processo de esterificação. Isso envolve a reação de ácidos graxos com álcoois para formar ésteres, como os FAMES (Hernández-Sánchez *et al.*, 2019). As possíveis rotas de formação dos FAMES incluem esterificação de ácidos graxos livres derivados da degradação de

lipídios estruturais (triglicerídeos e fosfolipídios), associada à atividade de biofilmes microbianos ou metabolismo algal (Saliot *et al.*, 2001; (Killops; Killops, 2005).

A classe dos *n*-alcanos foi identificada por compostos lineares com cadeias carbônicas variando de 24 a 29 carbonos (*n*-C₂₄ a *n*-C₂₉), característicos de hidrocarbonetos saturados de cadeia longa. A presença desses compostos foi confirmada pelos espectros de massas apresentados nas Figuras 21 a 26, nos quais os picos base observados em *m/z* 57 correspondem a fragmentações típicas da série dos *n*-alcanos. Esse íon, formado pela clivagem da cadeia carbônica gerando o fragmento C₄H₉⁺, um fragmento clássico resultante da clivagem homolítica da cadeia principal desses compostos. Além do pico base, foram detectados sistematicamente os íons *m/z* 71, 85 e 99, entre outros, formando uma série homóloga com intervalos regulares de 14 unidades de massa (u). Esse padrão de fragmentação é característico dos *n*-alcanos, reforçando a identificação desses compostos como hidrocarbonetos saturados sem ramificações ou insaturações.

Por fim, para a identificação inequívoca dos *n*-alcanos, os *t_r* dos picos observados foram comparados com os de um padrão analítico comercial contendo uma mistura de *n*-alcanos de C₇ a C₄₀, o que permitiu confirmar com precisão a identidade dos compostos detectados nas amostras.

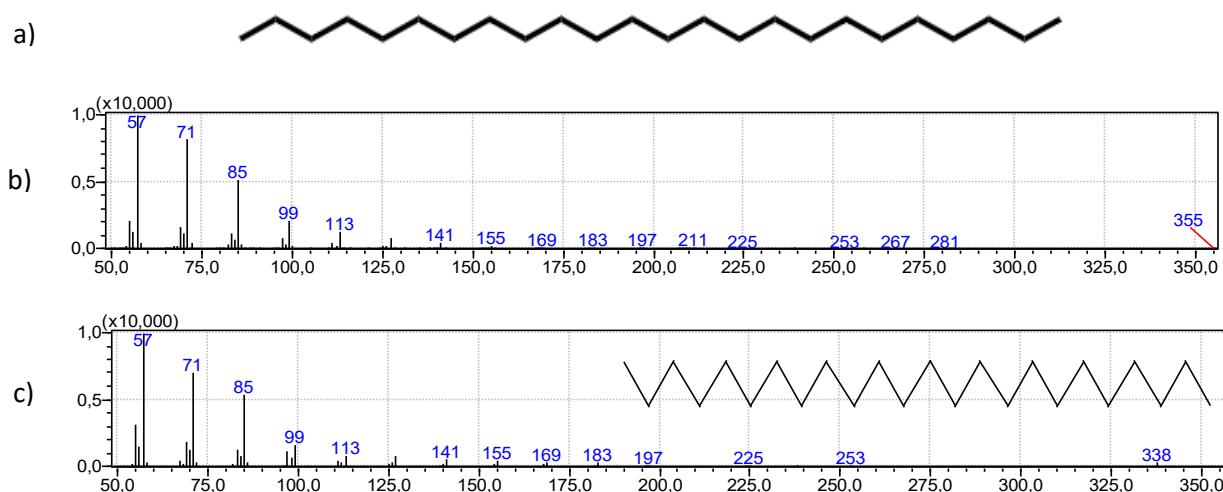


Figura 21. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₄ b) espectro de massas do composto alvo c) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).

Fonte: O autor (20250).

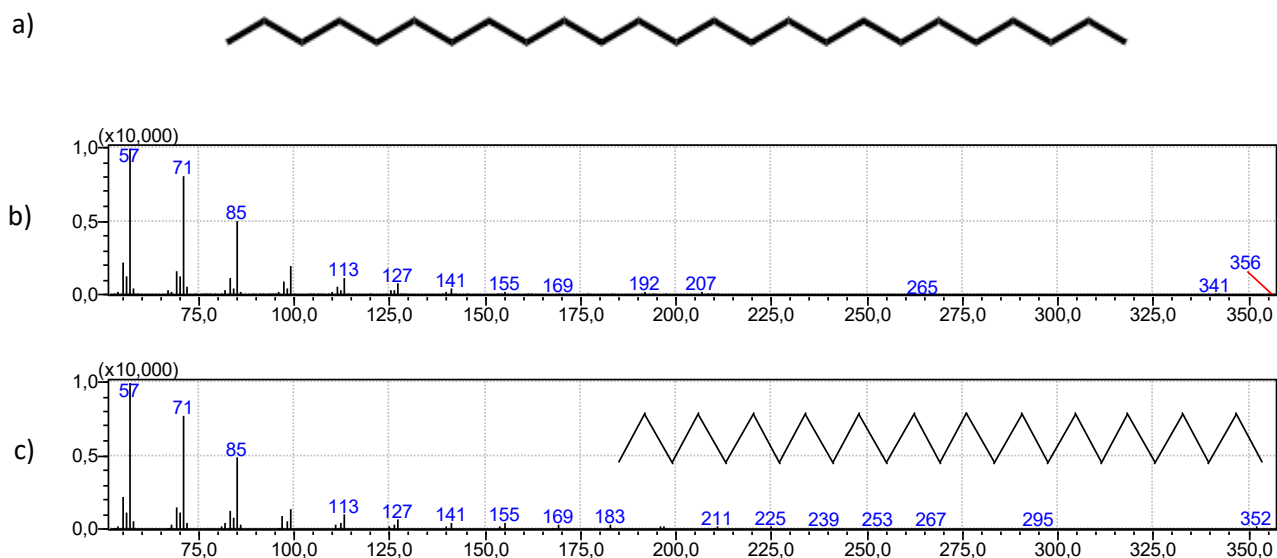


Figura 22. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₅ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).
Fonte: O autor (2025).

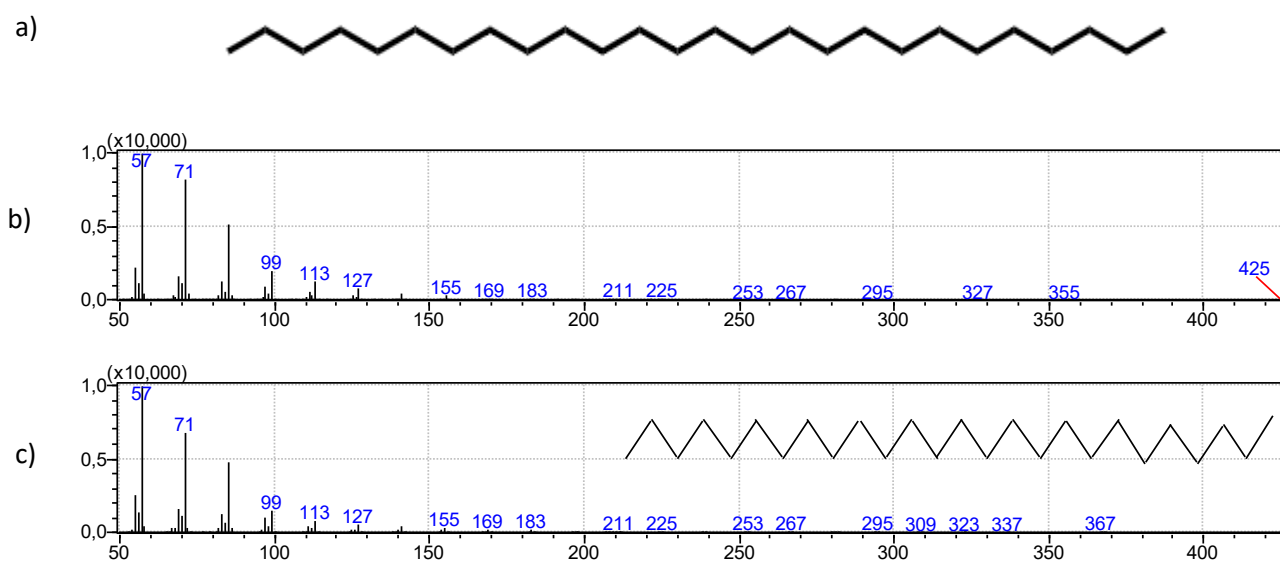


Figura 23. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₆ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).
Fonte: O autor (2025).

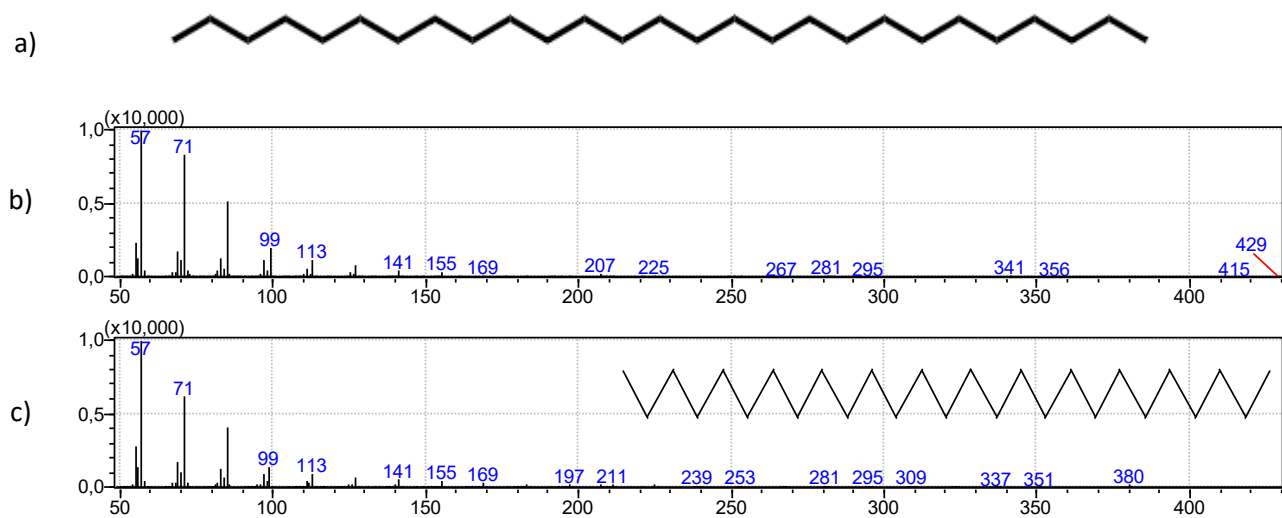


Figura 24. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₇ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).
Fonte: O autor (2025).

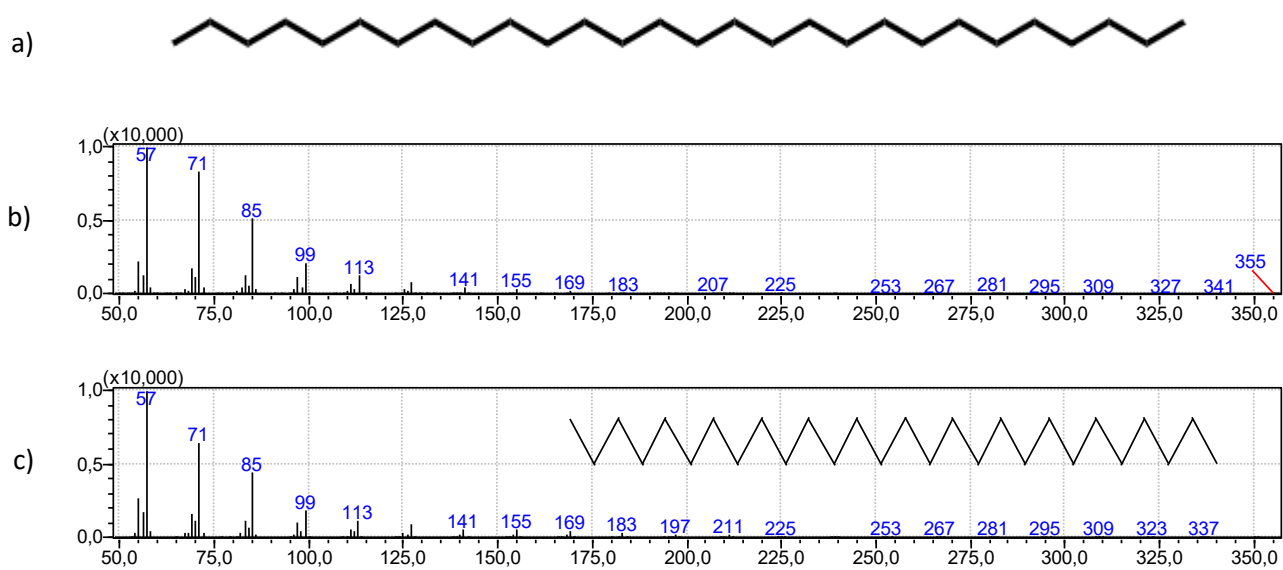


Figura 25. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₈ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).
Fonte: O autor (2025).

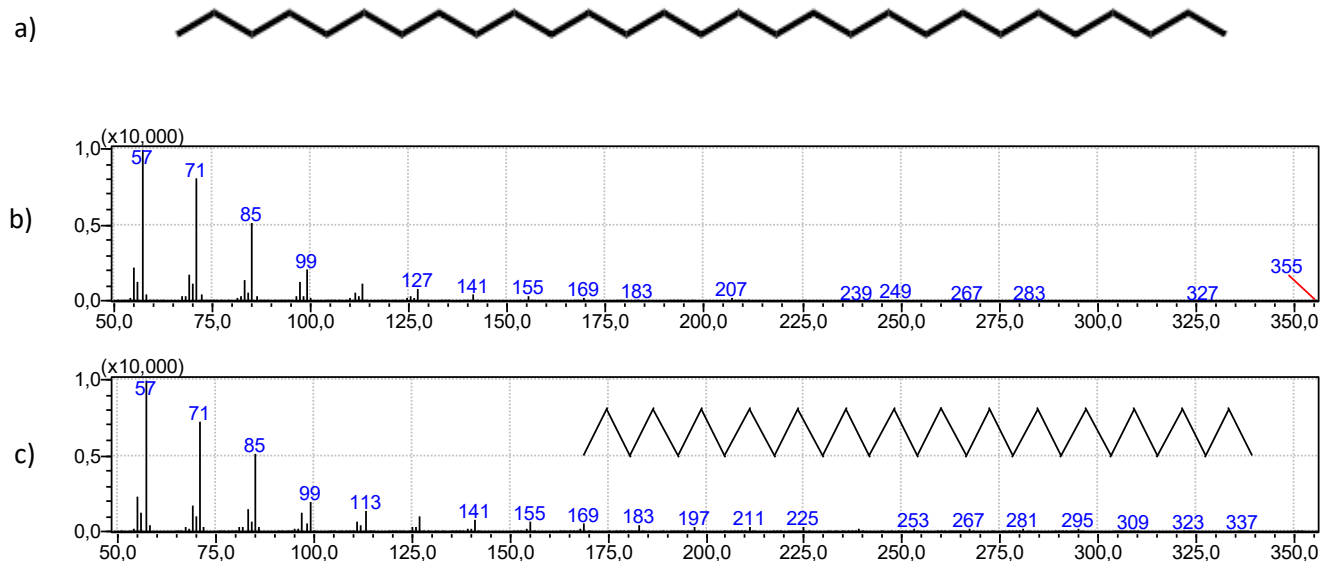


Figura 26. Comparação dos espectros de massas dos *n*-alcanos a) estrutura química do *n*-C₂₉ b) espectro de massas do composto alvo b) espectro de massas da biblioteca (NIST20s.lib).
Fonte: O autor (2025).

Além da detecção de FAMES, a incubação laboratorial das amostras de água do Rio Negro também resultou no surgimento de *n*-alcanos de cadeia longa, com número de carbonos variando entre C₂₄ e C₂₉, e notável predominância das cadeias pares. Esse perfil, com predominância de *n*-alcanos de cadeias pares, não é típico de MO de origem biogênica, especialmente em ambientes com forte aporte terrestre, nos quais geralmente se observa o domínio de cadeias ímpares de carbono, associadas à cutina vegetal, ceras epicuticulares e à decomposição de estruturas lipídicas de plantas superiores. Em ambientes aquáticos, esses compostos são considerados biomarcadores moleculares de origem terrestre, sendo particularmente abundantes em folhas, raízes e materiais lignocelulósicos (Killops; Killops, 2005). Contudo, a degradação microbiana seletiva ou transformações redox específicas podem alterar essa distribuição, favorecendo a remoção preferencial de *n*-alcanos ímpares ou a formação secundária de cadeias pares (Lopes *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2022). Além disso, certas bactérias podem biossintetizar *n*-alcanos com padrão par, especialmente em condições de estresse ou limitação nutricional, utilizando rotas de alongação de ácidos graxos saturados seguidas de descarboxilação ou redução (Ishige *et al.*, 2003; Wentzel *et al.*, 2007).

Embora os processos que governam a formação e liberação de *n*-alcanos sejam diferentes dos envolvidos na metilação de ácidos graxos, sua

ocorrência sugere que em ambos a atividade microbiana está envolvida. A formação de *n*-alcanos de cadeias pares nas amostras de água do Rio Negro incubadas pode estar relacionada a processos intensos de reciclagem da MO. O estudo de Lopes *et al.* (2021) relataram a predominância de *n*-alcanos cadeias pares em amostras de sedimentos de áreas alagáveis na Amazônia, o que foi associado à degradação ativa da MO. Esse padrão tem sido interpretado como indicativo de ciclagem interna da MO, em que produtos intermediários da degradação, possivelmente mediados por microrganismos, podem gerar *n*-alcanos com distribuição atípica, inclusive com predominância de cadeias pares. No caso do experimento deste estudo, a baixa renovação da água e possível atividade de comunidades microbianas especializadas, como as actinobactérias, pode favorecer esse tipo de transformação lipídica durante a incubação. Assim, os resultados sugerem não uma origem primária da MO com esse perfil, mas sim uma alteração secundária da assinatura lipídica ao longo do experimento, possivelmente associada a processos microbianos e ao microambiente confinado.

5.3. Avaliação da alteração da composição da MOP ao longo do tempo de incubação em microcosmo simulando as condições climáticas para 2100 – experimento 1

5.3.1. Variação da composição de *n*-alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

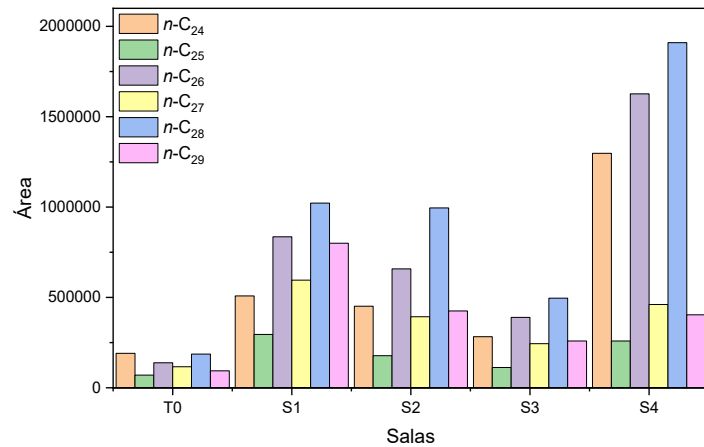
A abundância dos *n*-alcanos ao longo do tempo de incubação e entre os diferentes cenários climáticos simulados (salas) foi avaliada com base nas áreas dos compostos, como apresentado na Figura 27. No tempo T2, observou-se variação significativa na abundância relativa dos *n*-alcanos entre as salas ($p = 0,042$), com a S4 apresentando a maior mediana (879.066). Apesar da diferença global entre grupos, os testes de comparações múltiplas (Tukey) não identificaram diferenças significativas entre pares, embora o contraste S4 vs. S3 tenha se aproximado da significância ($p = 0,061$).

Em T7 e T14, a análise de variância (ANOVA paramétrica) não identificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,454$ e $p = 0,310$), com médias variando de 188.647 (Sala Controle – S1) a 326.263 (RCP 6.0 – S3) no primeiro e 294.604 (Sala Controle – S1) a 198.933 (RCP 8.5 – S4) no

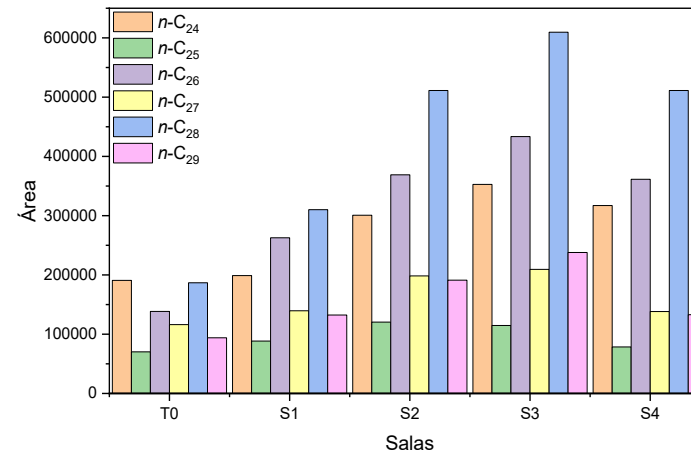
segundo, apresentando uma distribuição mais uniforme. Essa homogeneidade pode indicar equilíbrio nos processos biogeoquímicos desses compostos, com baixa sensibilidade aos gradientes ambientais simulados.

No T21, foi observada uma elevação significativa na abundância relativa dos *n*-alcanos, especialmente em RCP 6.0 (S3), que apresentou a maior média (560.131) e uma variância estatisticamente significativa entre as salas ($p < 0,001$). Os testes de Tukey indicaram que RCP 6.0 (S3) diferiu significativamente de todas as demais (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2 e RCP 8.5 – S4), sugerindo que as condições do cenário intermediário (RCP 6.0) favoreceram o processo geoquímico de formação e/ou liberação de *n*-alcanos nesse estágio. A maior abundância observada em RCP 6.0 (S3) pode estar relacionada ao balanço entre estímulo à degradação e aumento da liberação de compostos intracelulares por estresse térmico ou oxidativo, mecanismo já proposto por Fang *et al.* (2014) e Saliot *et al.* (2001). Esse resultado contrasta com a tendência observada em tempos anteriores, nos quais não houve diferenças significativas entre os cenários, sugerindo que a partir de duas a três semanas de incubação, podem emergir dinâmicas distintas nos processos de transformação ou liberação de compostos.

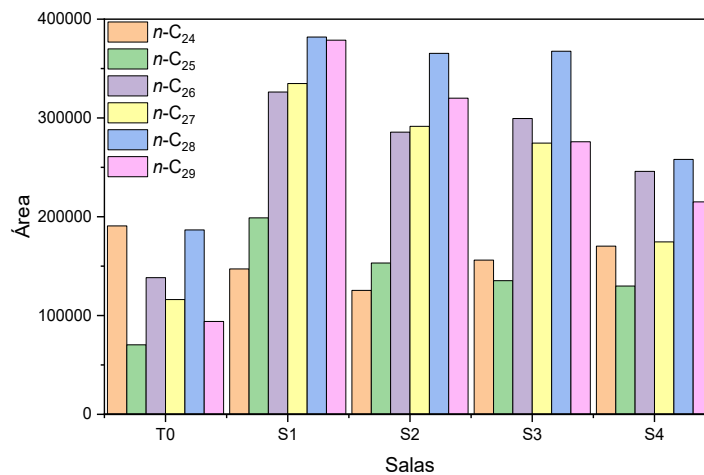
a) 2 dias



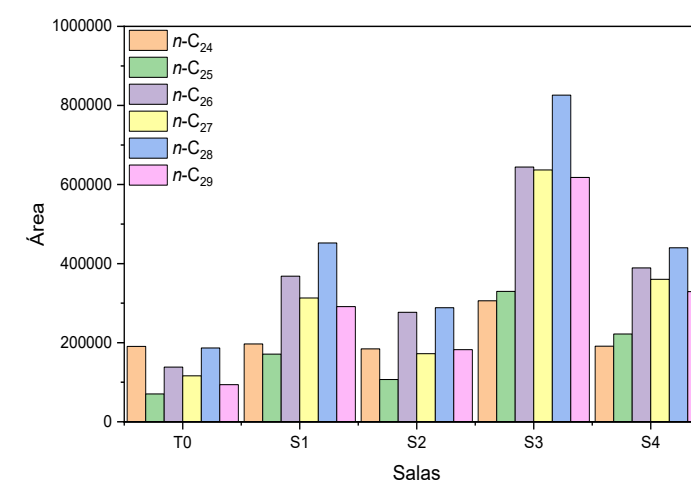
b) 7 dias



c) 14 dias



d) 21 dias



e) 28 dias

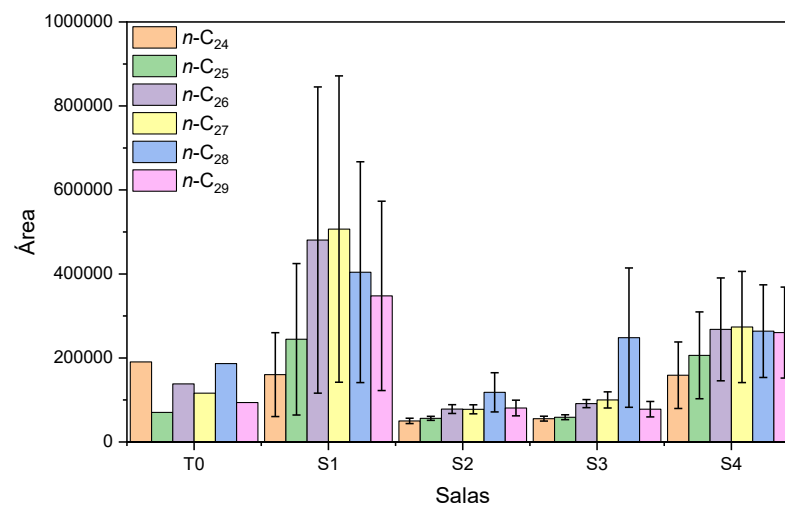


Figura 27. Variação da abundância de n -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 2 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 28 dias.
Fonte: O autor (2025).

Em ambientes mais aquecidos, é comum o aumento da taxa de turnover microbiano, o que pode intensificar a degradação da MO e promover a quebra de estruturas celulares, liberando lipídios residuais como os *n*-alcanos (Killops; Killops, 2005; Grossi *et al.*, 2008). Essa liberação tardia pode refletir uma resposta biogeoquímica ao estresse térmico ou à intensificação da atividade microbiana em cenários de maior temperatura e concentração de CO₂. Contudo, não se pode descartar a possibilidade de que esse resultado seja fruto de uma anomalia experimental, decorrente de alguma variação não controlada nas condições laboratoriais, o que reforça a necessidade de cautela na interpretação e da repetição do experimento para confirmação da tendência observada.

No T28, a abundância dos *n*-alcanos apresentou maior heterogeneidade entre os grupos experimentais. A mediana foi mais elevada na sala controle (376,043), enquanto os menores valores foram observados nos cenários de RCP 4.5 e RCP 6.0 (78,059 e 84,628, respectivamente). A análise estatística por ANOVA de uma via não paramétrica (Kruskal-Wallis) revelou diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,001$), indicando que as condições experimentais podem ter influenciado de maneira diferenciada a liberação ou preservação desses compostos.

As comparações múltiplas (Tukey) indicaram que a Sala Controle diferiu significativamente de RCP 4.5 e RCP 6.0, enquanto a RCP 8.5 apresentou um comportamento intermediário, com diferença significativa apenas em relação à RCP 4.5. Apesar dessas diferenças pontuais, não é possível traçar uma tendência clara ao longo do tempo em relação à degradação ou à persistência dos *n*-alcanos entre as salas. A ausência de um padrão consistente sugere que fatores aleatórios ou interações complexas entre variáveis ambientais (como temperatura, atividade microbiana, disponibilidade de substrato orgânico e perdas por evaporação) podem ter influenciado os resultados de forma não sistemática. Além disso, a alta variabilidade entre os grupos nos tempos finais de incubação dificulta a definição de um comportamento previsível para esses compostos sob os diferentes cenários simulados, exigindo cautela na extrapolação dos dados e reforçando a importância de estudos complementares com maior controle experimental.

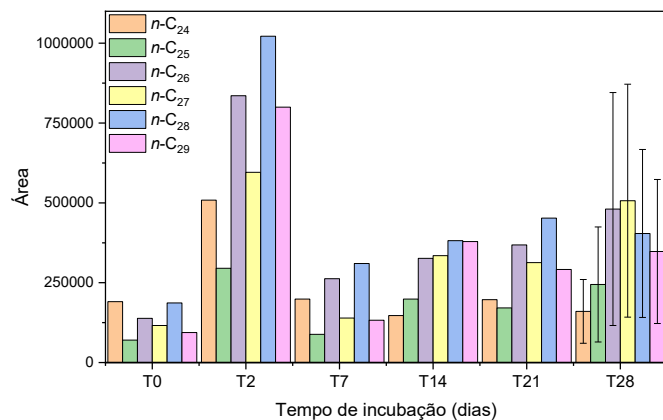
5.3.2. Variação dos *n*-alcanos entre os tempos de incubação por sala climática

A avaliação da variação temporal na Sala Controle (Figura 28) revelou um comportamento dinâmico na abundância dos *n*-alcanos ao longo dos 28 dias de incubação. O valor mediano inicial (T0) foi relativamente baixo (127.271), mas um pico expressivo foi registrado já em T2 (697.903), com queda em T7. A análise estatística ANOVA confirmou diferença significativa entre os tempos ($p < 0,001$), indicando que o tempo de exposição foi um fator determinante na variação da abundância de *n*-alcanos nessa sala. Os testes de comparações múltiplas (Tukey) indicaram que T2 difere significativamente de T0 e T7, mas não de T14, T21 ou T28. Isso sugere que a liberação ou concentração desses compostos atinge um pico precoce no experimento e se mantém em níveis mais elevados após esse ponto, sem retorno aos valores iniciais. Esse padrão pode estar associado à rápida liberação inicial de compostos de origem celular, seguida por um equilíbrio entre degradação parcial e retenção, como observado em ambientes ricos em MO vegetal (Killops; Killops, 2005; Saliot *et al.*, 2001).

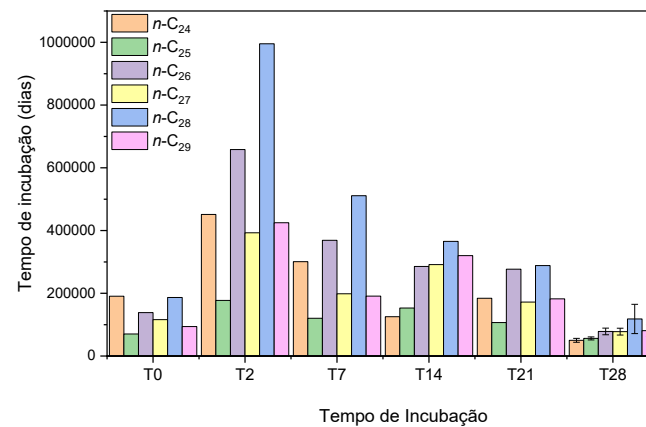
Na S2, também houve diferença significativa entre os tempos ($p < 0,001$). O maior valor foi registrado em T2 (438.105), significativamente superior a T0 (127.271; $p = 0,026$) e T28 (78.059; $p < 0,001$). A dinâmica foi marcada por aumento inicial até T2, seguido de decréscimo contínuo até T28. Esses padrões sugerem que a maior abundância registrada em T2 pode ter origem na liberação inicial de compostos da MOP por quebra celular ou desagregação de estruturas associadas à MO recente, processo compatível com ambientes submetidos a estresse térmico moderado (Killops; Killops, 2005; Fang *et al.*, 2014).

A redução contínua dos valores após T2, culminando no mínimo em T28, aponta para possível degradação microbiana da fração de *n*-alcanos ou maior eficiência de incorporação desses compostos em agregados orgânicos menos acessíveis. A literatura destaca que, em ambientes com elevação de temperatura e variação de oxigenação, há aumento da atividade microbiana e, conseqüentemente, da mineralização de compostos orgânicos lábeis e intermediários (Grossi *et al.*, 2008; Saliot *et al.*, 2001).

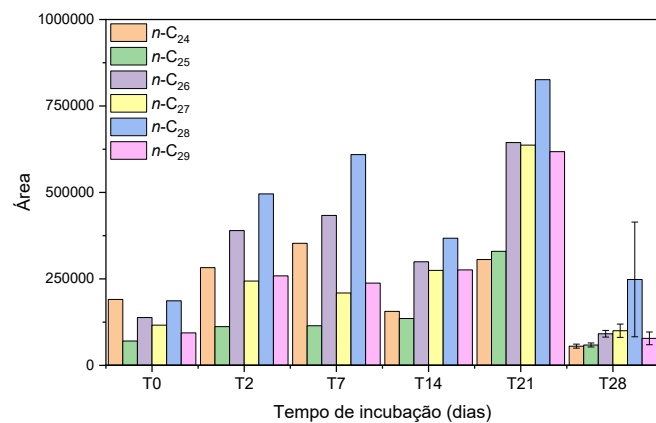
a) S1: Sala Controle



b) S2: RCP 4.5



c) S3: RCP 6.0



d) S4: RCP 8.5

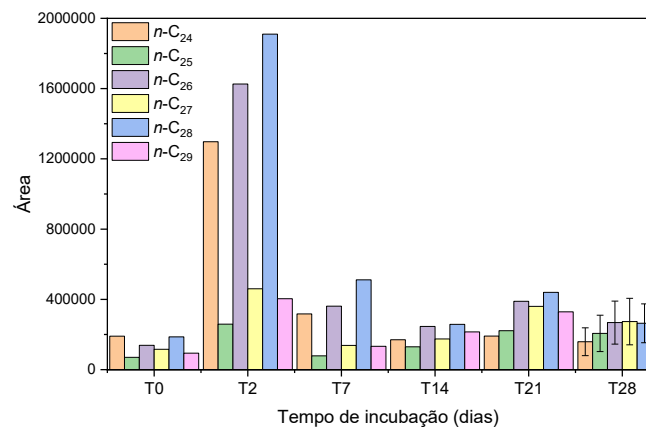


Figura 28. Variação da abundância de n -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.
Fonte: O autor (2025).

A comparação com a Sala Controle evidencia que, apesar de condições semelhantes em termos de tempo, o comportamento da MOP foi distinto, o que destaca a importância de interações específicas entre fatores ambientais e composição inicial do material orgânico. O perfil da RCP 4.5 reforça o papel do tempo como força motriz da transformação da MOP, com maior influência nos primeiros dias de incubação e potencial estabilização ou esgotamento dos *n*-alcanos nos estágios finais (Guimarães *et al.*, 2019).

No cenário moderado (RCP 6.0), a abundância dos *n*-alcanos ao longo do tempo apresentou um perfil mais dinâmico, com acúmulo progressivo até atingir um pico acentuado em T21 (média: 560.131), seguido por uma queda abrupta em T28 (105.368). A ANOVA paramétrica indicou diferenças estatisticamente significativas entre os tempos ($p < 0,001$). E o teste de comparações múltiplas (Tukey) revelou que T21 difere significativamente de todos os demais tempos (T0, T2, T7, T14, T28), evidenciando um ponto de inflexão na dinâmica da MOP. Essa elevação pode representar acúmulo transitório de compostos lipídicos liberados por degradação celular sob estresse térmico, seguido de possível reorganização ou mineralização no estágio final (T28) (Fang *et al.*, 2014; Grossi *et al.*, 2008).

A elevação drástica entre T14 e T21 sugere um processo ativo de reorganização da MOP, mediado pelo aumento da atividade microbiana e decomposição de estruturas lignocelulósicas, que favorecem a liberação de alcanos residuais. A queda em T28, por sua vez, aponta para mineralização acelerada ou incorporação dos *n*-alcanos em agregados menos acessíveis, conforme descrito para ambientes tropicais de transição (Killops; Killops, 2005; Saliot *et al.*, 2001). O comportamento observado reforça a hipótese de que o cenário climático intermediário (RCP 6.0) influencia diretamente a transformação da MOP, promovendo a degradação seletiva de frações suscetíveis e modificando sua composição estrutural.

As variações na RCP 8.5, também foram estatisticamente significativas ao longo do tempo ($p = 0,002$). O valor mais elevado ocorreu em T2 (879.066) para *n*-C24, *n*-C26 e *n*-C28, significativamente maior que T0 (127.271; $p < 0,001$) e T14 (194.788; $p = 0,037$). O padrão observado pode indicar liberação intensa nas fases iniciais da incubação, seguida de declínio e estabilização entre T21 e T28,

possivelmente por quebra celular sob estresse térmico elevado — consistente com as condições simuladas no cenário RCP 8.5 (Killops; Killops, 2005; Fang *et al.*, 2014).

Apesar dos valores elevados apresentados em T2, os níveis em T14 a T28 se mantiveram bem próximos, sugerindo estabilização de compostos residuais, possivelmente protegidos da degradação por adsorção em partículas ou biofilmes microbianos (Saliot *et al.*, 2001; Grossi *et al.*, 2008).

5.3.3. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

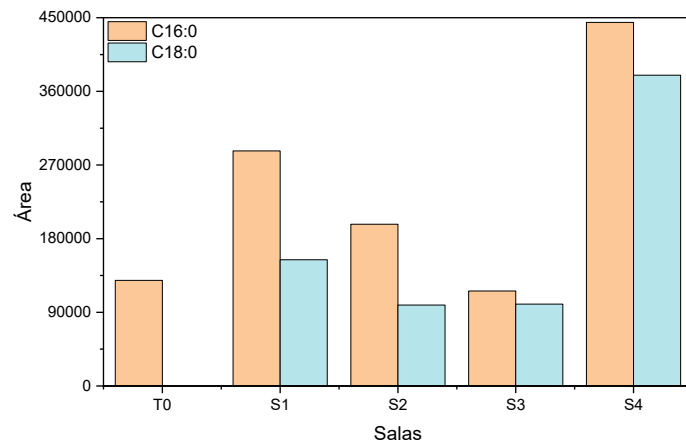
A abundância dos FAMES variou entre as salas climáticas ao longo de cada tempo de incubação, revelando padrões significativos de resposta às condições simuladas. A avaliação estatística foi realizada por ANOVA de fator único para cada tempo, considerando como variável dependente a área do composto.

No T2 (Figura 29), observou-se diferença significativa entre as salas ($p = 0,029$). A maior média foi registrada na sala de RCP 8.5 (412.058,5), quase o dobro da média da Sala Controle (220.745,5) e quase quatro vezes superior à da Sala 3 (108.022,5). Esse padrão indica que o cenário simulado mais severo (RCP 8.5) promoveu liberação inicial intensa de FAMES. No T7 (Figura 29), as diferenças entre salas tornaram-se ainda mais expressivas ($p = 0,0046$). A RCP 4.5 apresentou a maior média (203.567), seguida por RCP 8.5 (161.865), RCP 6.0 (142.636,5) e Sala Controle (109.632). O aumento geral em relação a T2 sugere um acúmulo de FAMES entre os dias 2 e 7, com destaque para RCP 4.5, cuja condição intermediária (RCP 4.5) pode ter favorecido maior atividade microbiana produtora ou liberadora desses compostos.

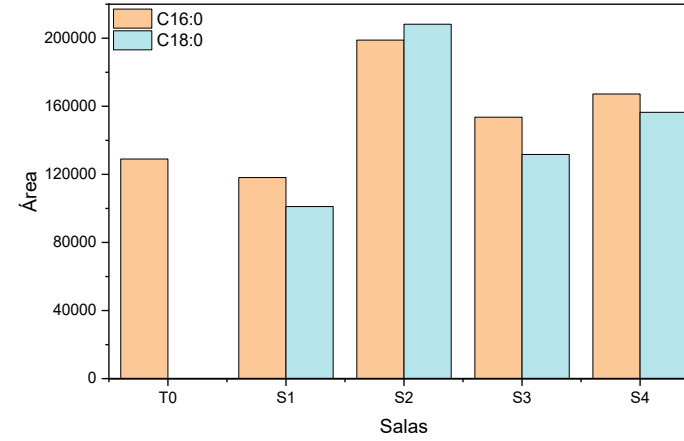
No T14, manteve-se a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,017$). A maior média foi observada na RCP 6.0 (197.979,5), seguida pela Sala Controle (174.569), RCP 4.5 (113.056) e RCP 8.5 (108.392). A inversão entre RCP 8.5 (que liderava em T2) e RCP 6.0 sugere que os cenários intermediários promoveram maior persistência ou renovação da fração de FAMES ao longo do tempo em T21, os valores voltaram a apresentar diferença significativa entre as

salas ($p = 0,025$). A Sala Controle manteve a maior média (152.642), enquanto RCP 8.5 apresentou a menor (70.101).

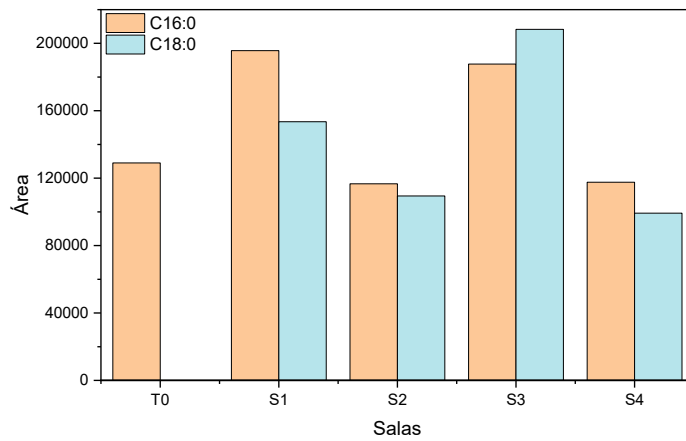
a) 2 dias



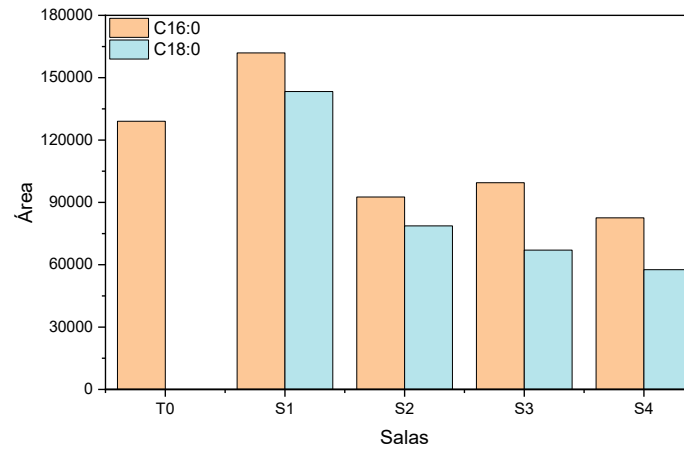
b) 7 dias



c) 14 dias



d) 21 dias



e) 28 dias

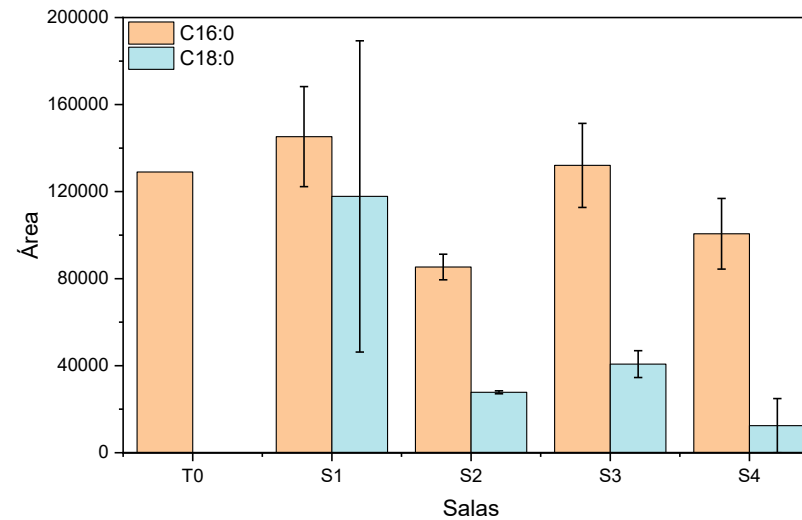


Figura 29. Variação da abundância de FAMEs na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 2 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 28 dias.
Fonte: O autor (2025).

Essa reversão de papéis entre os extremos dos cenários indica que, após três semanas de incubação, os processos de degradação ou estabilização diferenciaram-se conforme a sala climática.

No T28, as diferenças entre salas não foram estatisticamente significativas ($p = 0,481$). As médias variaram de 131.527 (S1) a 56.532 (RCP 8.5), com elevada dispersão intragrupo. Essa homogeneização pode refletir o esgotamento das frações lábeis de FAMEs convergente sob as diferentes condições ambientais, em especial pelo prolongado tempo de exposição (Grossi *et al.*, 2008).

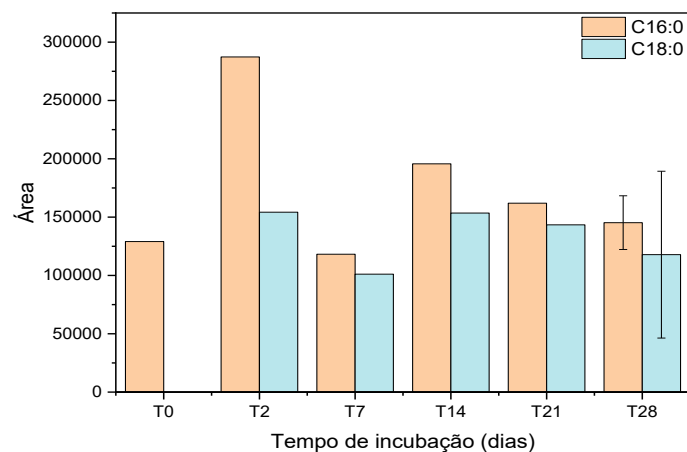
O padrão observado ao longo dos tempos sugere que os FAMEs respondem de maneira sensível às condições climáticas simuladas, especialmente nas fases iniciais da incubação. A elevação marcante do cenário drástico - RCP 8.5 durante T2, acompanhada de declínio progressivo nos tempos seguintes, é indicativa de degradação térmica ou microbiana acelerada sob o cenário RCP 8.5, como discutido por Killops; Killops (2005) e Fang *et al.* (2014).

A alternância de destaque entre salas intermediárias (RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3) e extremas (Sala Controle – S1 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo aponta para a influência combinada de fatores como temperatura, oxigênio e tempo de residência na formação, estabilidade e decomposição dos FAMEs (Saliot *et al.*, 2001; Sparkman *et al.*, 2011). Embora a ANOVA de T28 não tenha indicado diferença significativa, a tendência de declínio sugere uma convergência nos processos de degradação, promovendo uniformização na abundância final desses compostos.

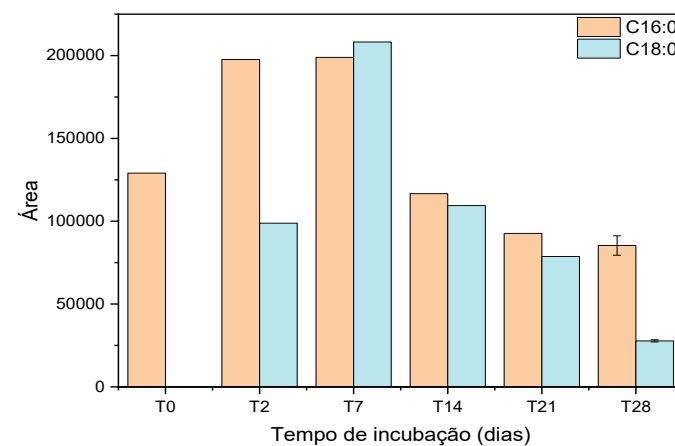
5.3.4 Variação da composição de FAMEs ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

Na Sala controle (Figura 30), os valores médios variaram de 64.519 em T0 até 220.746 em T2, apresentando um leve decréscimo posterior até 131.528 em T28. Apesar dessa oscilação, a ANOVA indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos ($p = 0,236$). Isso sugere que, embora tenha ocorrido uma liberação precoce dos FAMEs, especialmente em T2, os níveis se estabilizaram nas fases subsequentes.

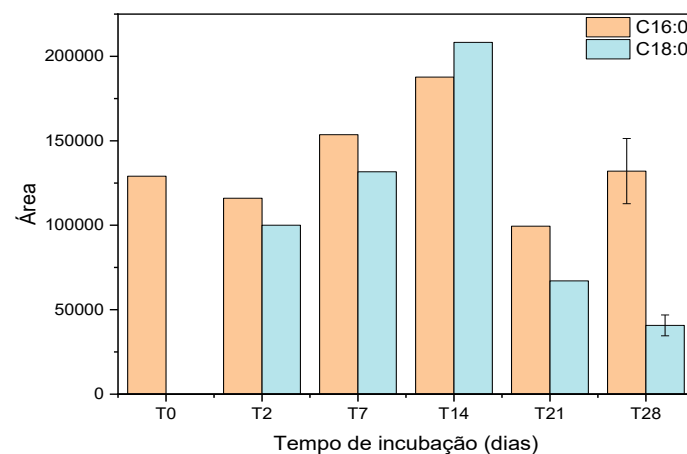
a) S1: controle



b) S2: cenário brando



c) S3: cenário intermediário



d) S4: cenário drástico

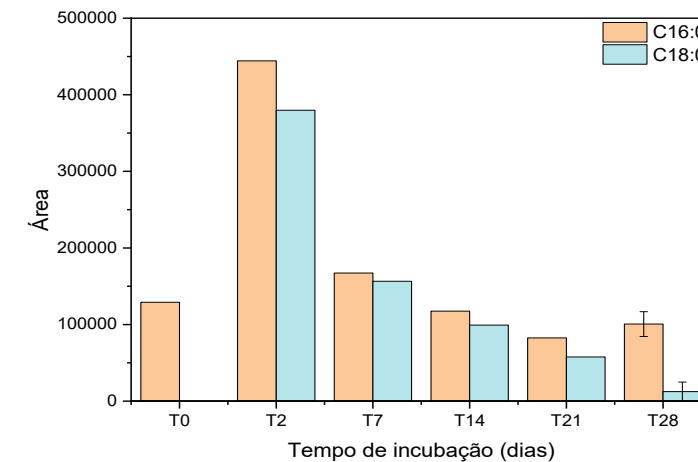


Figura 30. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.
Fonte: O autor (2025).

No cenário brando de RCP 4.5 (Figura 30), observou-se uma elevação até T7 (203.567), seguida por uma tendência de queda até T28 (56.544). Os valores médios de T0 e T2 foram de 64.519 e 148.238, respectivamente. A ANOVA não identificou diferença significativa ($F = 2,51$; $p = 0,147$), mas a magnitude da variação sugere que condições térmicas mais brandas favoreceram uma liberação inicial, com degradação subsequente ao longo do tempo.

A sala de RCP 6.0 (Figura 30) apresentou aumento até T14 (197.980), com queda acentuada em T28 (86.398). A média de T0 foi de 64.519, e de T2, 108.023. A ANOVA também não detectou significância estatística ($F = 2,13$; $p = 0,192$), mas o padrão indica uma liberação mais prolongada e estável dos FAMES em comparação com a Sala controle e RCP 4.5 (S2).

Por outro lado, no cenário de RCP 8.5 (Figura 30) foi observada variação estatisticamente significativa ao longo do tempo ($F = 15,03$; $p = 0,002$). O valor mais alto foi registrado em T2 (412.059), enquanto os menores ocorreram em T28 (56.532) e T21 (70.101). Esses resultados indicam um pico de liberação muito acentuado nos estágios iniciais da incubação, seguido por degradação e estabilização nos tempos finais. O padrão observado em todas as salas revela que os FAMES são compostos altamente dinâmicos. O acúmulo inicial (T2–T7) pode estar relacionado à liberação de lipídios por quebra celular, estimulado pelas mudanças de temperatura e disponibilidade de oxigênio nos microcosmos (Killops; Killops, 2005; Grossi *et al.*, 2008). A degradação posterior é esperada, dado o caráter mais lábil dos FAMES, que são susceptíveis a processos de oxidação e biodegradação (Saliot *et al.*, 2001; Sparkman *et al.*, 2011).

A S4, por simular o cenário climático mais severo (RCP 8.5), apresentou resposta mais pronunciada e estatisticamente significativa. A liberação precoce e subsequente declínio abrupto dos FAMES sugere que condições extremas intensificam a degradação dos lipídios estruturais da MOP. Já nas demais salas, o padrão oscilatório, mas estatisticamente não significativo, reforça a ideia de que os efeitos do tempo sobre os FAMES dependem da intensidade das condições ambientais impostas.

5.4. Avaliação da alteração da composição da MOP ao longo do tempo de incubação em microcosmo simulando as condições climáticas para 2100 – experimento 2

5.4.1. Variação da composição de *n*-alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

Ao longo do experimento 2, observou-se variação nas áreas dos *n*-alcanos entre as quatro salas (Sala Controle – S1 a RCP 8.5 – S4) em diferentes tempos de incubação, apresentado na Figura 31. A análise de variância mostra que apenas T3 e T21 apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as salas ($p < 0,05$). Já T7, T14 e T31 não apresentaram variações significativas ($p > 0,05$).

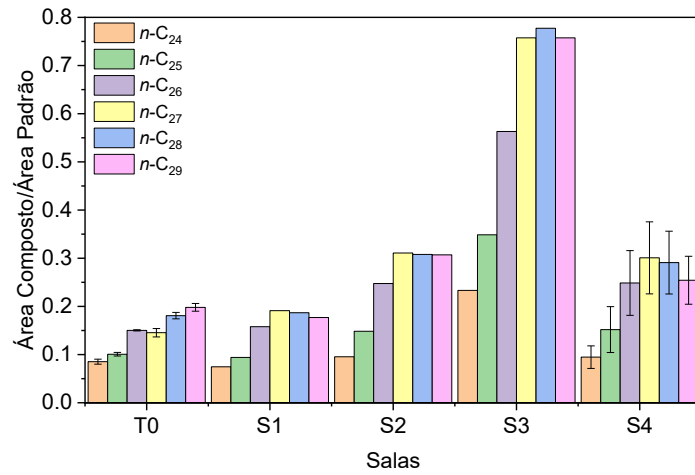
No T7 ($p = 0,054$), T14 ($p = 0,285$) e T31 ($p = 0,338$), as medianas da razão área composto/padrão interno oscilaram levemente entre as salas, mas sem diferenças significativas. Em T7, a sala de RCP 4.5 apresentou o maior valor médio (0,210), enquanto na sala de RCP 8.5 teve o menor (0,103). No T14, as medianas variaram entre 0,349 (RCP 6.0 – S3) e 0,466 (Sala Controle – S1). Já no T31, os valores permaneceram relativamente baixos em todas as salas, com médias de 0,154 (Sala Controle – S1), 0,216 (RCP 4.5 – S2), 0,151 (RCP 6.0 – S3) e 0,167 (RCP 8.5 – S4). Essas distribuições sugerem homogeneidade nos processos biogeoquímicos que envolvem *n*-alcanos sob as diferentes condições climáticas simuladas nesses momentos.

No T3, observou-se diferença estatisticamente significativa entre as salas ($p = 0,007$). A sala de RCP 6.0 apresentou o valor mediano mais elevado (0,660), enquanto a Sala Controle exibiu a menor mediana (0,167). O teste de comparações múltiplas (Tukey) revelou diferença significativa entre RCP 6.0 e a Sala Controle ($p = 0,003$), indicando que o cenário climático moderado (RCP 6.0) de S3 favoreceu uma maior abundância de *n*-alcanos já nas primeiras 72 horas de incubação.

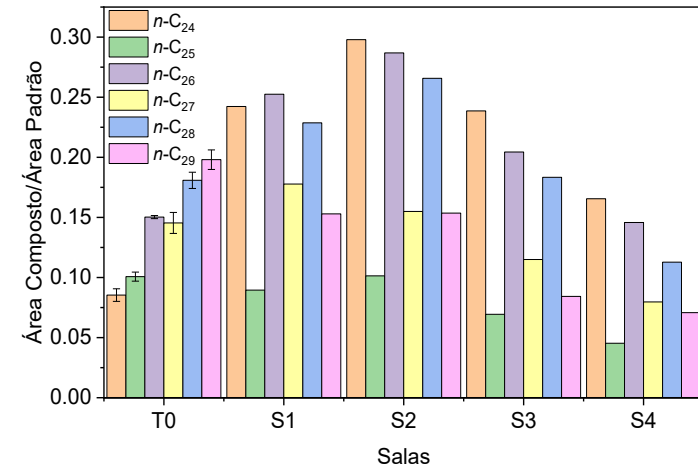
Entretanto, a condição climática RCP 8.5, que simula um cenário ainda mais extremo, não apresentou a mesma tendência de aumento observada na condição moderada (RCP 6.0), o que levanta questionamentos sobre a linearidade da resposta dos *n*-alcanos frente ao gradiente de aquecimento. Esse

comportamento inesperado sugere que outros parâmetros, além da temperatura e do CO₂, possam ter influenciado os resultados, como variações na atividade microbiana, nas características da MO inicial ou até mesmo fatores externos às condições controladas.

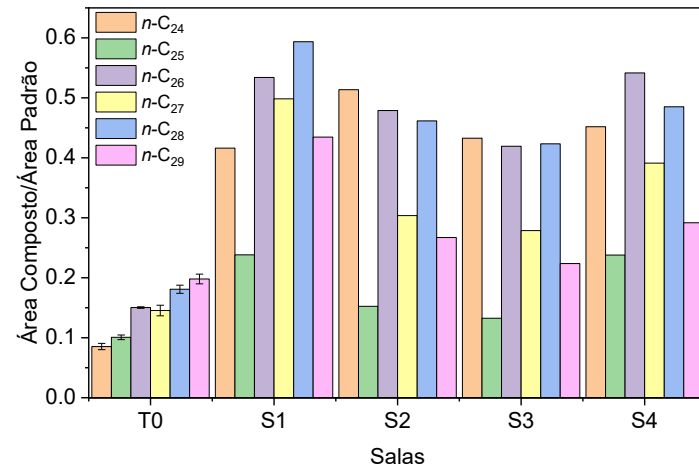
a) 3 dias



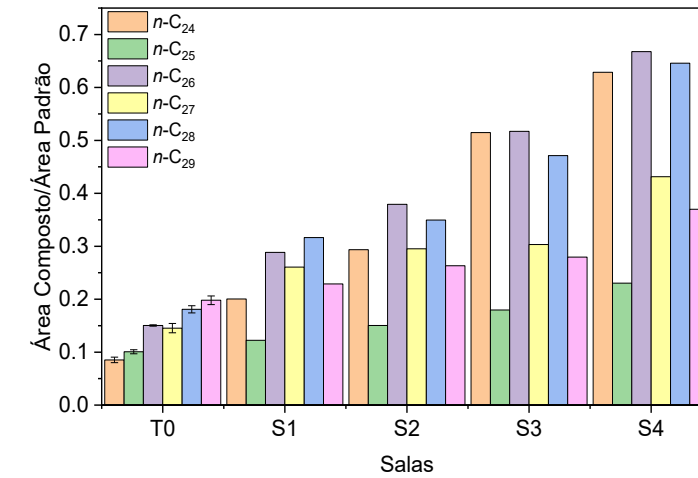
b) 7 dias



c) 14 dias



d) 21 dias



e) 31 dias

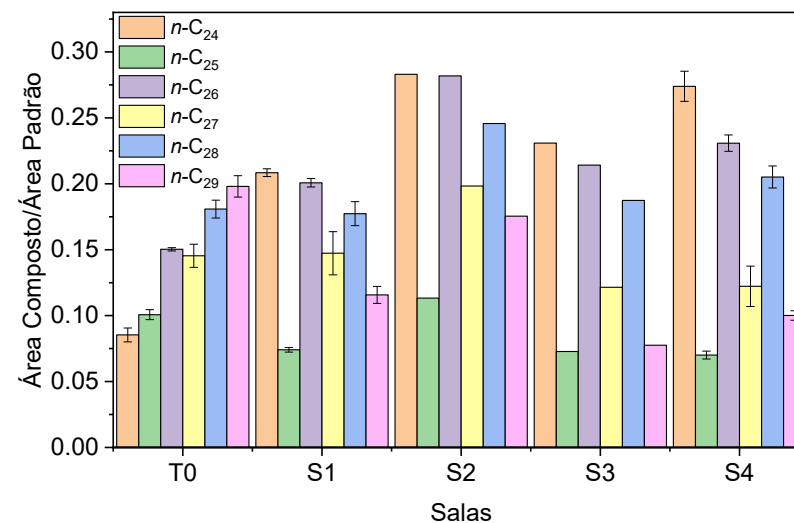


Figura 31. Variação da abundância de n -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 3 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 31 dias. Fonte: O autor (2025).

É importante considerar que as salas utilizadas também são empregadas para outros experimentos, o que pode introduzir variabilidades ambientais residuais (como contaminações cruzadas, microclimas, ou diferenças nos sistemas de ventilação e umidade) que afetam os resultados de forma não intencional. Essa observação reforça a necessidade de um controle rigoroso das condições experimentais e da replicação em múltiplos ciclos para validar tendências observadas nos primeiros dias de incubação.

No T21 (Figura 31), novamente foi identificada diferença estatisticamente significativa entre as salas ($p = 0,039$), com a Sala 4 (RCP 8.5) apresentando o maior valor mediano (0,530), significativamente superior à Sala Controle ($p = 0,028$). A distribuição dos demais grupos foi intermediária: RCP 4.5 (0,294) e S3 (0,387). A elevação gradual das salas controle à RCP 8.5 sugere influência direta das condições ambientais extremas na liberação ou formação de *n*-alcanos nesse tempo.

Nos demais tempos (T7, T14, T31), a ausência de diferenças significativas sugere um equilíbrio nos processos de transformação e preservação dos *n*-alcanos na MOP.

Uma hipótese adicional que pode ser considerada é a ocorrência de um processo cíclico de produção e remoção de *n*-alcanos mediado por microrganismos. Sabe-se que certos microrganismos são capazes de sintetizar hidrocarbonetos de cadeia longa, como os *n*-alcanos, a partir da degradação de MO, especialmente lipídios e componentes estruturais celulares. Assim, é possível que, em determinados momentos da incubação — como nas primeiras 72 horas em RCP 6.0, ocorra uma atividade microbiana intensificada, promovendo a produção ou liberação secundária de *n*-alcanos a partir da transformação de substratos orgânicos disponíveis (Lopes *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2022). Em seguida, esses compostos podem ser removidos por processos como volatilização, adsorção, fotodegradação ou ainda biodegradação por populações microbianas especializadas, resultando em uma queda ou estabilização temporária de suas concentrações. Esse comportamento poderia se repetir ao longo do tempo, formando um padrão oscilatório de abundância, condicionado pela disponibilidade

de substrato, dinâmica da comunidade microbiana e condições ambientais do microcosmo.

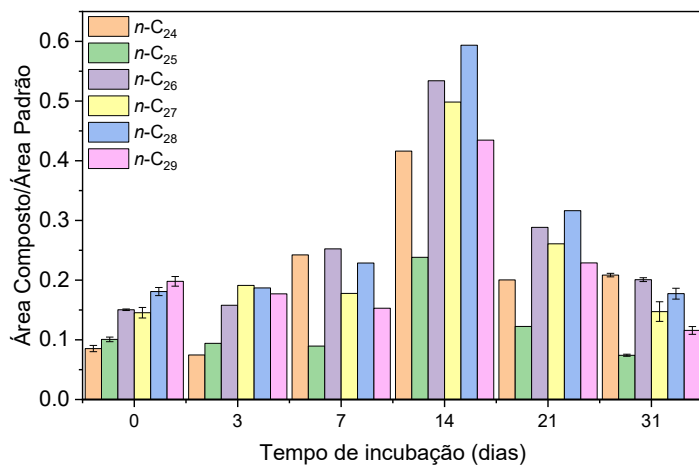
Esse tipo de ciclo de liberação-consumo poderia explicar tanto os aumentos pontuais quanto as quedas subsequentes nas concentrações observadas ao longo da incubação, especialmente sob diferentes cenários climáticos. Com o avançar do tempo e o esgotamento progressivo dos precursores orgânicos, é possível que a produção de *n*-alcanos decline de forma irreversível, marcando o fim do ciclo. Para investigar essa hipótese, seriam necessários experimentos adicionais com acompanhamento mais frequente dos perfis lipídicos, quantificação da biomassa microbiana ativa e análise da composição da MO disponível ao longo da incubação.

5.4.2. Variação da composição de *n*-alcanos ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas – experimento 2

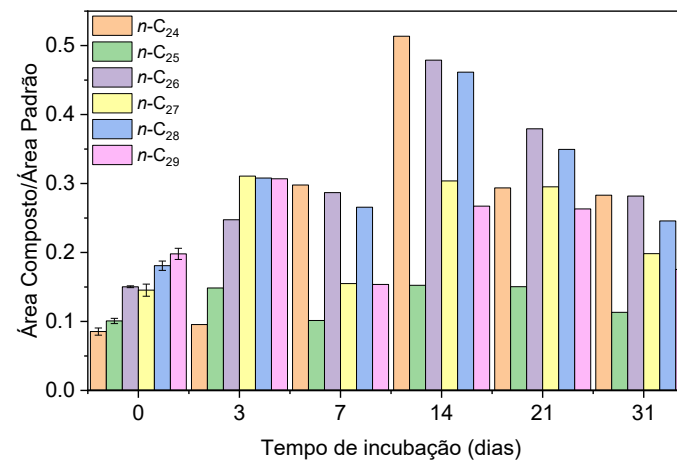
Na Sala controle (Figura 32), a abundância relativa dos *n*-alcanos variou significativamente ao longo dos tempos de incubação (ANOVA, $p < 0,001$). A maior média foi registrada em T14 (0,452), com diferença significativa em relação a todos os demais tempos (Tukey, $p < 0,001$). Após esse pico, os valores decresceram em T21 (0,236) e T31 (0,154), aproximando-se das médias iniciais. O menor valor foi registrado em T0 (0,143). A curva temporal sugere um comportamento típico de acúmulo intermediário seguido por declínio gradual. Também foi observada diferença estatisticamente significativa ao longo do tempo ($p = 0,027$) no cenário RCP 4.5. O maior valor ocorreu em T14 (0,383), significativamente superior a T0 ($p = 0,017$). As demais comparações não apresentaram diferenças significativas, embora T3 e T7 tenham valores próximos ao pico. Novamente, a tendência geral reflete aumento progressivo até T14 e posterior redução.

O cenário RCP 6.0 apresentou a maior oscilação entre tempos, com significância estatística ($p < 0,001$). O maior valor foi identificado em T3 (0,660), significativamente superior a T0, T7 e T31 ($p < 0,05$). Os valores subsequentes oscilaram entre 0,149 (T7) e 0,387 (T21), com queda acentuada em T31 (0,154). O comportamento sugere liberação inicial e subsequente redistribuição ou degradação parcial dos *n*-alcanos.

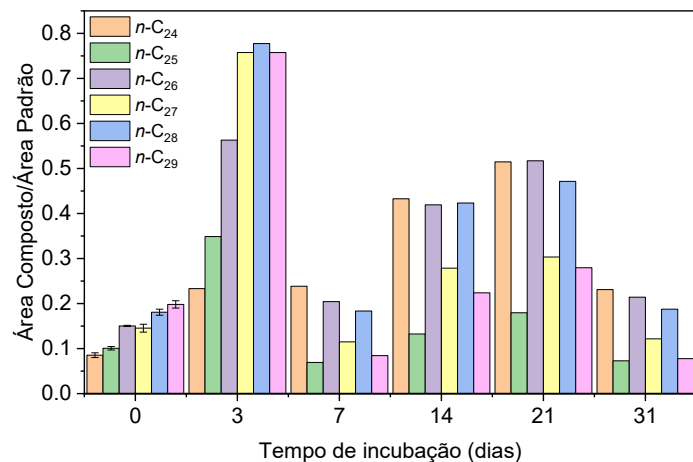
a) S1: Sala controle



b) S2: RCP 4.5



c) S3: RCP 6.0



d) S4: RCP 8.5

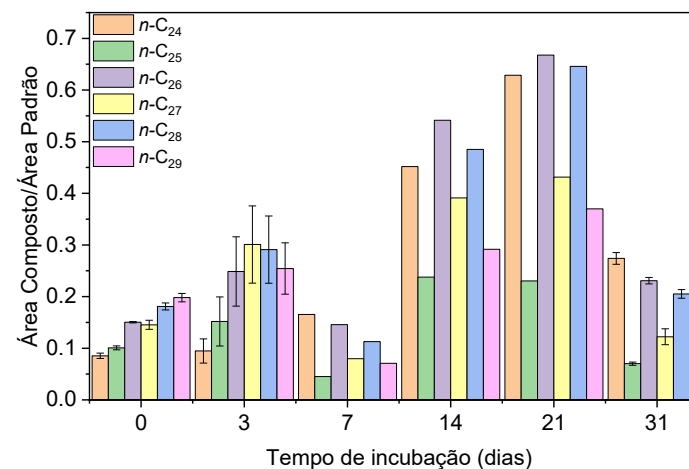


Figura 32. Variação da abundância de n -alcanos na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.

Fonte: O autor (2025).

No cenário drástico (RCP 8.5) também houve variação significativa entre os tempos ($p < 0,001$), com destaque para T21 (0,530) e T14 (0,421), ambos significativamente superior a T7 ($p = 0,002$ e $p = 0,006$, respectivamente). T0, T3 e T31 apresentaram os menores valores. Esse perfil revela acúmulo progressivo até T21, seguido de queda, com estabilização em T31.

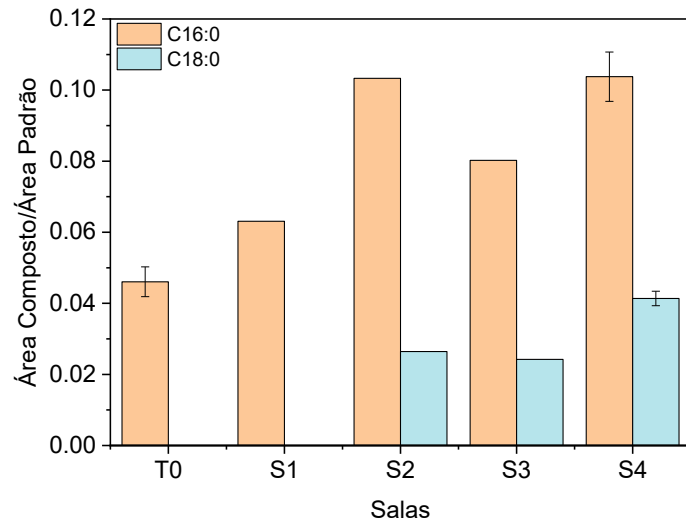
O padrão temporal observado para os *n*-alcanos no experimento 2 reflete processos dinâmicos de liberação, transformação e estabilização da MOP em condições ambientais simuladas. A recorrência de picos em T14 e T21 sugere que esses tempos representam janelas críticas de reorganização da MO, como descrito por Fang *et al.* (2014) e Guimarães *et al.* (2019), em que há intensa atividade microbiana e floculação.

Esse comportamento temporal reforça a hipótese de que os *n*-alcanos estão envolvidos em um processo cíclico de liberação e consumo ao longo da incubação. A presença de picos recorrentes em T14 e T21, seguida de quedas e estabilizações nos tempos posteriores, sugere que esses compostos não apenas são liberados de forma passiva a partir de outros compostos, mas também estão sujeitos a transformações bioquímicas e remoção ativa, possivelmente por biodegradação microbiana ou redistribuição entre fases (particulada e dissolvida). Esse padrão é compatível com o modelo proposto por Fang *et al.* (2014) e Guimarães *et al.* (2019), que descrevem janelas críticas de reorganização da MO em ambientes aquáticos, marcadas por intensa atividade microbiana, floculação de lipídios e mudanças na biodisponibilidade de substratos. Dessa forma, os resultados observados não apenas ilustram a variabilidade espacial entre os cenários simulados, mas também indicam uma dinâmica interna intrínseca ao sistema, caracterizada por ciclos de acúmulo intermediário e posterior remoção, que podem se repetir até o esgotamento dos precursores orgânicos disponíveis.

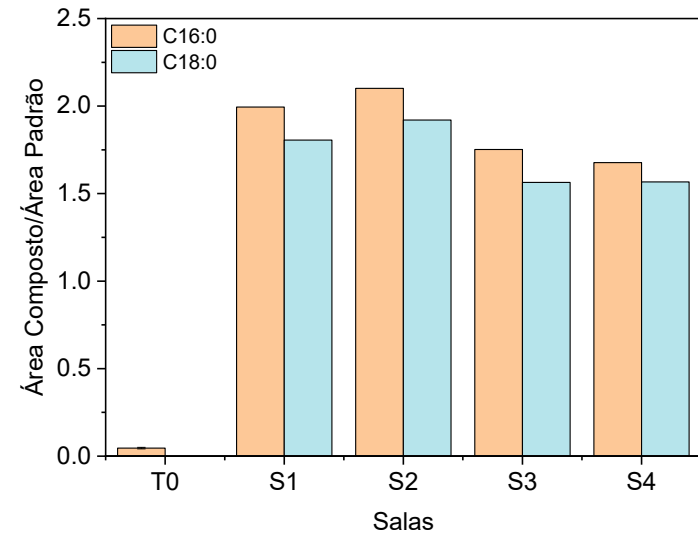
5.4.3. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

A comparação da abundância dos FAMES entre as salas (Figura 33), ao longo do tempo de incubação, não apresentou diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos tempos analisados ($p > 0,05$).

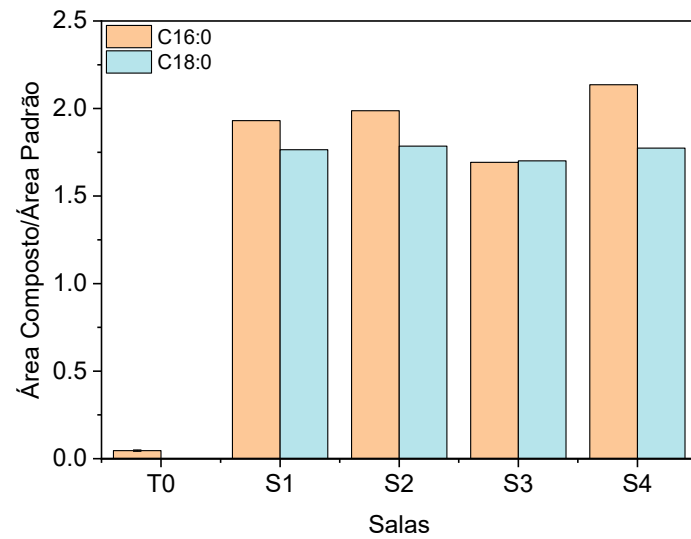
a) 3 dias



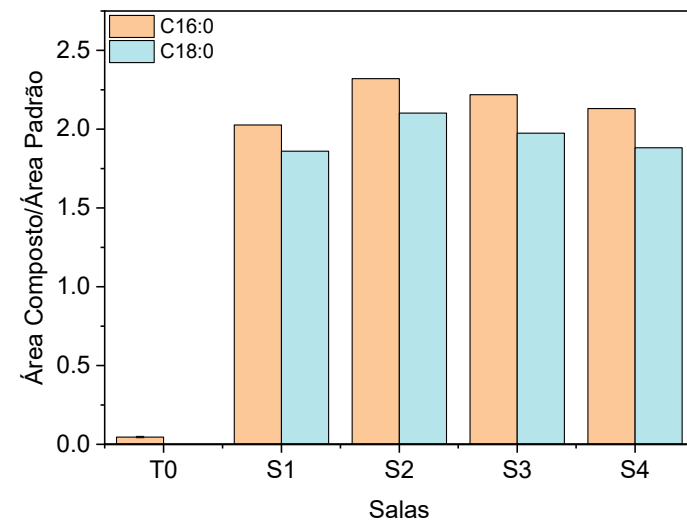
b) 7 dias



c) 14 dias



d) 21 dias



e) 31 dias.

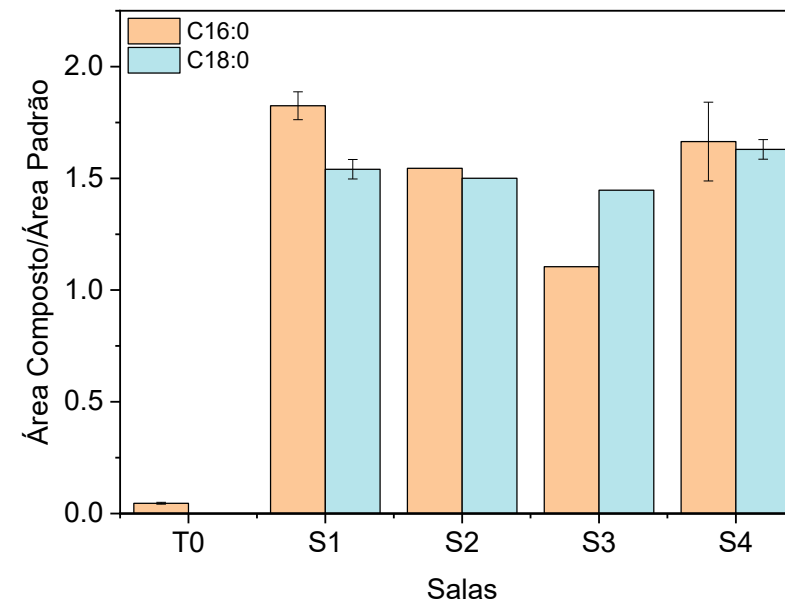


Figura 33. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100 (Sala Controle – S1, RCP 4.5 – S2, RCP 6.0 – S3 e RCP 8.5 – S4) ao longo do tempo de: a) 3 dias, b) 7 dias, c) 14 dias, d) 21 dias e e) 31 dias.
Fonte: O autor (2025).

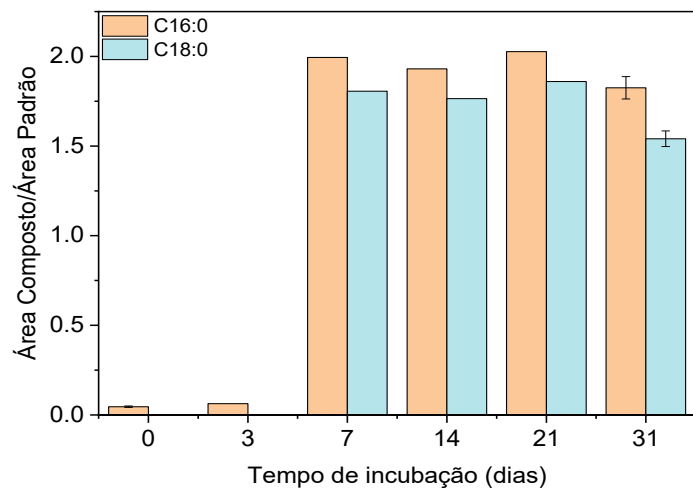
Apesar da ausência de significância estatística nas comparações entre salas, os padrões observados nos diferentes tempos indicam tendências consistentes de liberação e variação dos FAMES ao longo do tempo de incubação. Em especial, os maiores valores observados em T7 e T21 podem refletir o pico de liberação lipídica associada à degradação de membranas celulares ou à produção secundária microbiana (Fang *et al.*, 2014; Grossi *et al.*, 2008).

Embora a variabilidade entre salas não tenha sido estatisticamente significativa, é possível que as diferenças ambientais simuladas tenham influenciado a cinética de liberação e degradação dos FAMES de forma sutil. A baixa sensibilidade dos testes estatísticos pode ter limitado a detecção de diferenças reais.

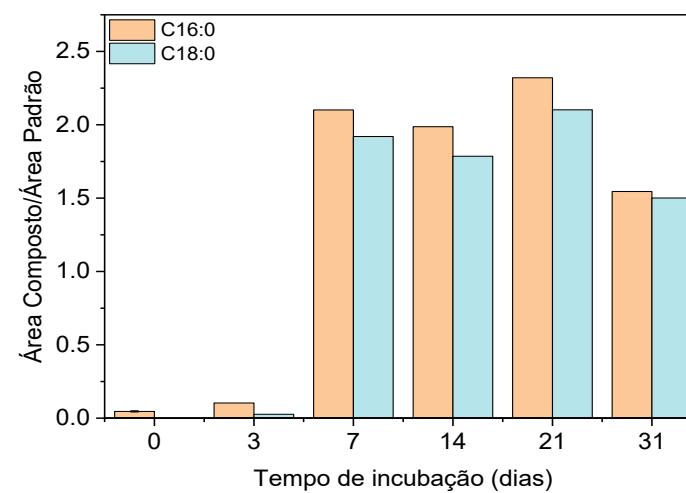
5.4.4. Variação da composição de FAMES ao longo do tempo de incubação nas diferentes salas

As salas apresentaram diferenças significativas nos valores de área de FAMES ($p < 0,001$). Observou-se um aumento expressivo de T3 para T7, com o maior valor registrado em T21 (1,9434). Evidenciando acúmulo inicial seguido por estabilização de T7 a T31 (Figura 34).

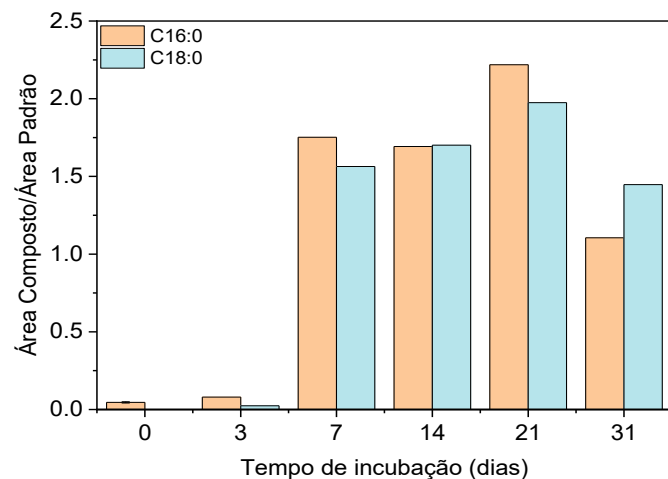
a) S1: Sala controle



b) S2: RCP 4.5



c) S3: RCP 6.0



d) S4: RCP 8.5

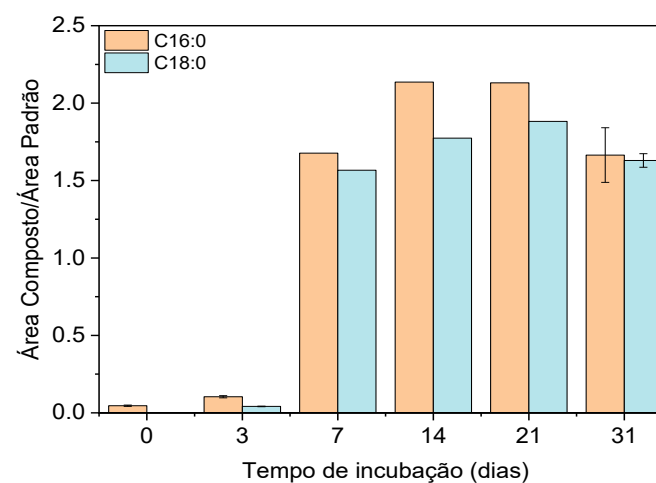


Figura 34. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas no microcosmo simulado cenários climáticos para 2100: a) S1: Sala Controle, b) S2: RCP 4.5, c) S3: RCP 6.0 e d) S4: RCP 8.5.

Fonte: O autor (2025).

A tendência de aumento progressivo na abundância dos FAMES a partir de T7, seguida de leve queda em T31, foi comum a todas as salas. Essa dinâmica sugere um ciclo inicial de liberação e acúmulo desses compostos, seguido por estabilização ou início de degradação (Saliot *et al.*, 2001). O acúmulo pode estar associado à degradação de lipídios de membrana celular ou à atividade de microrganismos que sintetizam e excretam ácidos graxos durante o metabolismo ativo (Grossi *et al.*, 2008; Fang *et al.*, 2014).

A menor abundância de FAMES em T3, especialmente nas salas controle à RCP 6.0, pode ser atribuída à baixa atividade microbiana nas fases iniciais de incubação ou à ausência de liberação expressiva de material celular. O leve declínio observado em T31, embora ainda mantendo valores relativamente altos, indica possível degradação oxidativa ou assimilação dos FAMES por microrganismos heterotróficos (Grossi *et al.*, 2008; Guimarães *et al.*, 2019). A persistência dos compostos até os estágios finais, porém, evidencia uma certa estabilidade da fração lipídica mesmo sob cenários de aumento térmico e concentração de CO₂.

5.4.5 Análise temporal da abundância de *n*-alcanos e FAMES sob condições ambientais naturais (experimento 3 – UFAM)

A avaliação da abundância relativa dos *n*-alcanos ao longo do tempo no experimento 3, conduzido sob condições ambientais naturais (UFAM), revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de incubação ($p < 0,001$). Os maiores valores medianos foram observados em T21 (1,849) e T7 (1,454), enquanto T0 (0,148) e T31 (0,703) apresentaram os menores. O teste de comparações múltiplas indicou diferenças significativas entre T21 vs. T0 ($p < 0,001$), T7 vs. T0 ($p = 0,001$) e T14 vs. T0 ($p = 0,014$), sugerindo acúmulo progressivo de *n*-alcanos durante as primeiras três semanas de incubação (Figura 35).

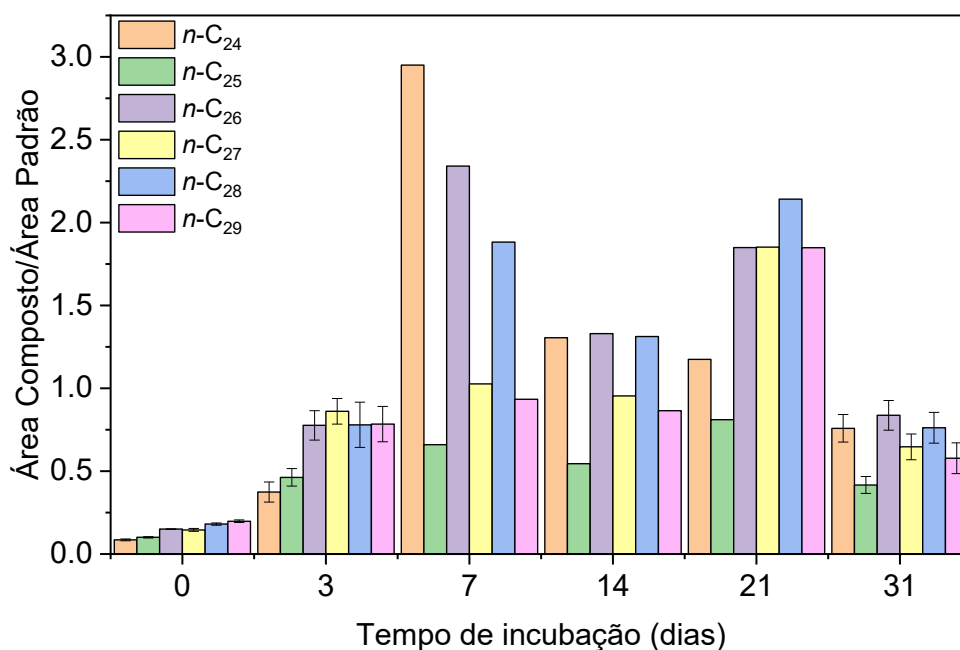


Figura 35. Variação da abundância de *n*-alcanos na MOP de amostras incubadas em condições ambientais ao longo do tempo de 31 dias.
Fonte: O autor (2025).

Esse comportamento está de acordo com o padrão observado nos experimentos controlados, no qual compostos recalcitrantes como os *n*-alcanos tendem a se acumular inicialmente por liberação de material celular ou deposição particulada, antes de sofrerem redistribuição ou transformação (Killops; Killops, 2005; Guimarães *et al.*, 2019). A redução em T31 indica que, mesmo em ambiente natural, o tempo de exposição prolongada pode levar à perda ou incorporação desses compostos em outras formas, como associação a biofilmes ou sedimentação.

A dinâmica dos FAMES apresentou padrão semelhante (Figura 36). A análise de variância indicou diferença estatisticamente significativa entre os tempos ($p < 0,0001$). Os valores médios evoluíram de 0,023 (T0) para 2,08 (T21), com leve declínio em T31 (1,70). Esse resultado confirma a natureza lábil e altamente dinâmica dos FAMES, com aumento associado à degradação inicial da MO celular e posterior perda por processos oxidativos, fotodegradação ou biodegradação (Grossi *et al.*, 2008; Fang *et al.*, 2014).

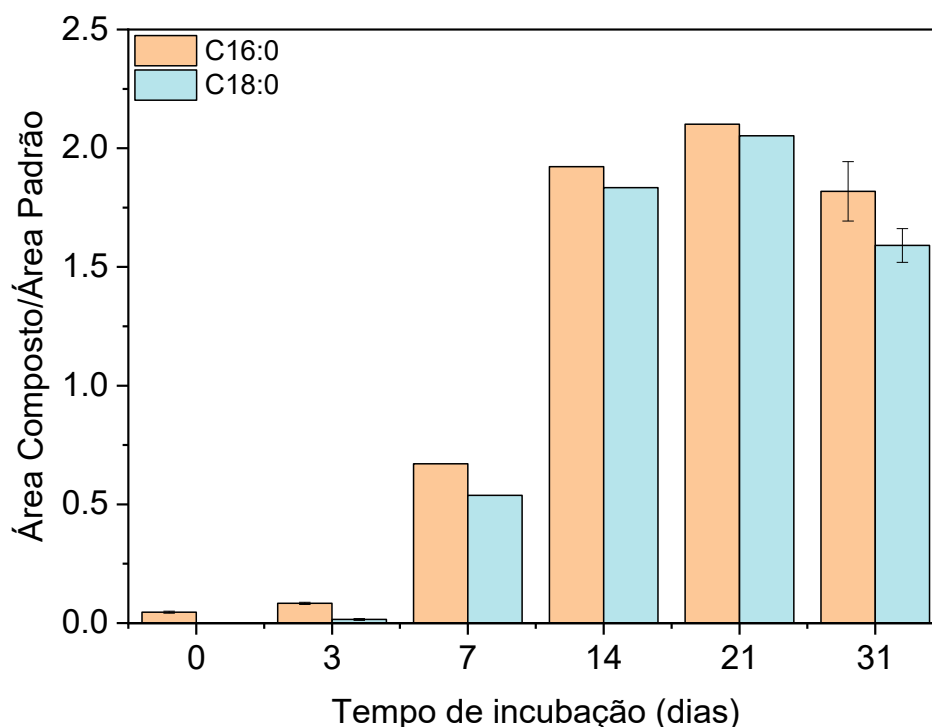


Figura 36. Variação da abundância de FAMES na MOP de amostras incubadas em condições ambientais ao longo do tempo de 31 dias.
Fonte: O autor (2025).

A similaridade nos padrões de variação temporal entre os compostos, mesmo sob condições ambientais abertas, reforça a ideia de que a composição molecular da MOP é regulada por processos biogeoquímicos comuns, mediados por temperatura, disponibilidade de oxigênio e atividade microbiana. A persistência dos *n*-alcanos e a oscilação dos FAMES servem, portanto, como indicadores complementares para diagnosticar o estado de transformação da MOP em ambientes tropicais de várzea como o Rio Negro (Saliot *et al.*, 2001).

5.5 Análise multivariada (PCA e HCA)

5.5.1 Análise de componentes principais (PCA)

A PCA foi aplicada com o objetivo de identificar padrões de similaridade entre as amostras do experimento 2 com base nas abundâncias relativas dos *n*-alcanos (*n*-C₂₄ a *n*-C₂₉) e FAMES. A matriz de dados incluiu 30 amostras, considerando cinco tempos de incubação (T3, T7, T14, T21, T31) em quatro salas

climáticas. As componentes principais PC1 e PC2 explicaram, respectivamente, 93,11% e 5,85% da variância total, totalizando 98,96%.

No gráfico de scores (Figura 37), observa-se uma clara separação das amostras T0 e T3 em relação aos demais tempos, evidenciando que as amostras iniciais possuem composição química distinta, tanto para os FAMEs quanto para os *n*-alcanos. Já os tempos intermediários e finais (T7, T14, T21 e T31) tendem a se agrupar, sugerindo que após certo período de incubação ocorre uma alteração seguida de estabilização na composição da MOP. Esta tendência indica que os primeiros dias de incubação são os mais críticos para as transformações moleculares.

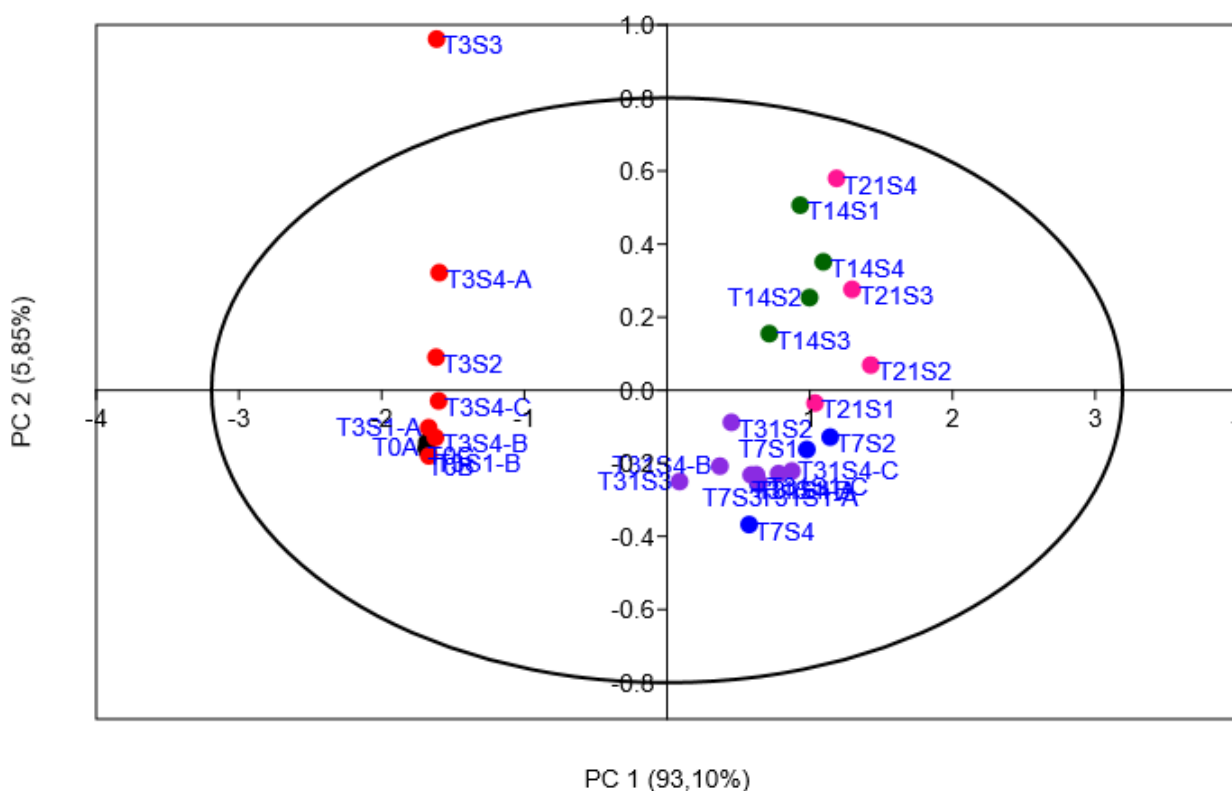


Figura 37. Gráfico de PCA com os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2), baseado nas abundâncias relativas dos *n*-alcanos e FAMEs identificados nas amostras do Experimento 2 (LEEM).

Fonte: O autor (2025).

A distinção observada entre os tempos iniciais e os mais avançados de incubação está de acordo com estudos que indicam a rápida transformação de compostos orgânicos lábeis nos primeiros dias de exposição (Fang *et al.*, 2014; Ylla *et al.*, 2012). O acúmulo relativo de compostos mais persistentes, como os *n*-alcanos de cadeia longa e certos FAMEs, reflete a predominância de frações menos

susceptíveis à degradação ou a formação de novas estruturas por recombinação e atividade microbiana (Grossi *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2021).

A separação do T0 em relação às demais amostras reforça a importância do tempo como fator determinante na composição da MOP. O T0 representa a condição original da amostra, ainda não submetida aos efeitos de incubação e variações ambientais simuladas. Conforme destacado por Guimarães *et al.* (2019), as transformações químicas na MOP ocorrem de forma progressiva e modulada por fatores como temperatura, oxigenação e atividade enzimática, fatores estes reproduzidos nas salas climáticas.

Além disso, a menor dispersão dos dados nos tempos mais avançados (de T7 a T31) pode ser interpretada como uma convergência composicional, resultado da degradação seletiva dos compostos mais reativos e da persistência de uma fração mais homogênea de compostos recalcitrantes (Killops; Killops, 2005). Essa tendência é compatível com os padrões de estabilidade da MO observados em sistemas tropicais, onde a reorganização e a retenção de compostos estáveis desempenham papel central na dinâmica do carbono particulado (Saliot *et al.*, 2001).

5.5.2. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

O dendrograma gerado pela HCA, baseado no índice de similaridade de Bray-Curtis (Figura 38), corrobora os achados da PCA. Três grandes agrupamentos foram observados: o primeiro contendo as amostras T0 e T3, o segundo com amostras de T14 e T21, e o terceiro reunindo predominantemente amostras de T7 e T31. O índice de similaridade geral foi elevado (0,98), indicando consistência na distribuição multivariada das amostras.

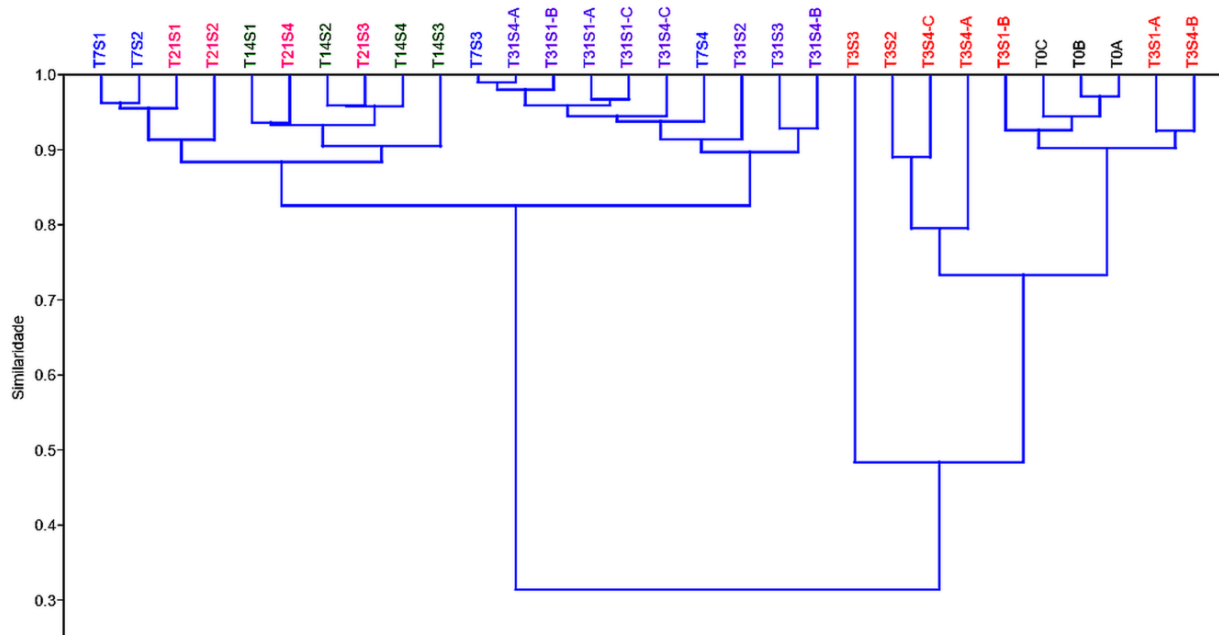


Figura 38. Dendrograma gerado pela HCA utilizando o índice de similaridade de Bray-Curtis. Três grupos distintos de amostras são observados, evidenciando variação temporal da composição da MOP no Experimento 2.

Fonte: O autor (2025).

Esse padrão sugere uma evolução temporal da composição da MOP, com alteração molecular gradual e estabilização nos tempos finais. A separação precoce de T0 e T3 pode estar relacionada à presença predominante de compostos mais lábeis e facilmente degradáveis, enquanto os agrupamentos posteriores indicam enriquecimento relativo de compostos mais recalcitrantes, como os *n*-alcanos de cadeia longa e FAMES de ácidos graxos saturados.

A concordância entre PCA e HCA reforça a robustez dos resultados obtidos. Ambos os métodos apontam para uma dinâmica temporal estruturada na MOP, influenciada principalmente pelo tempo de incubação, com menor influência observada das condições climáticas simuladas no experimento 2. Os agrupamentos formados refletem variações compostas de origem biogênica e processos de degradação seletiva, com implicações importantes para a persistência e ciclagem da MO em ambientes tropicais.

6. Conclusão

As classes de *n*-alcanos e FAMES foram as mais abundantes nas amostras de MOP da água do Rio Negro, sugerindo uma origem ligada à degradação microbiana de compostos lipídicos mais complexos. Essa interpretação é reforçada pela presença recorrente de padrões de fragmentação típicos nos espectros de massas, bem como pela detecção de *n*-alcanos de cadeias pares (C₂₄–C₂₉), um perfil incomum em ambientes com forte aporte terrestre, mas compatível com processos internos de reciclagem da MOP, possivelmente mediados por microrganismos sob condições de incubação confinadas.

Os resultados demonstraram, de forma consistente entre os três experimentos, que o tempo de exposição foi o principal fator de transformação molecular da MOP, superando os efeitos diretos das variações simuladas de temperatura e concentração de CO₂. A análise comparativa entre os experimentos revelou padrões coerentes de acúmulo e posterior declínio na abundância de *n*-alcanos e FAMES, com picos marcantes em períodos intermediários, seguidos de reduções em tempos finais. Esse comportamento temporal reforça a hipótese de um ciclo de liberação e consumo, no qual compostos lipídicos são inicialmente liberados pela degradação celular e, em seguida, consumidos, redistribuídos ou mineralizados, até o possível esgotamento dos substratos.

A análise multivariada (PCA e HCA) corroborou esses achados, revelando separações claras entre tempos iniciais e finais e agrupamentos químicos consistentes, o que indica uma reorganização química progressiva da MOP. Do ponto de vista ambiental, os resultados sugerem que mesmo sob condições críticas simuladas (RCP 8.5), não houve alterações estruturais significativas na composição da MOP atribuídas exclusivamente ao aumento de temperatura ou CO₂. Isso aponta para a resiliência de frações recalcitrantes da MO e para a importância dos processos temporais de incubação na determinação da dinâmica de transformação molecular da MOP em ambientes amazônicos.

7. Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Relatório Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil atualiza informações sobre águas do País**. informe anual, 2024.
- Agência Nacional de Águas (ANA). **Águas do Brasil**, n. 17. Brasília, c. 2010.
- AZAM, F.; MALFATTI, F. Microbial structuring of marine ecosystems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 10, p. 782-791, 2007.
- AZAM, Farooq; MALFATTI, Francesca. Microbial structuring of marine ecosystems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 10, p. 782-791, 2007.
- BAKER, A. *et al.* Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties. **Chemosphere**, v. 73, n. 11, p. 1765-1772, 2008.
- BARDY, M. *et al.* Podzolisation and exportation of organic matter in black waters of the Rio Negro (upper Amazon basin, Brazil). **Biogeochemistry**, v. 106, p. 71-88, 2011.
- BATAGLION, G. A. **Caracterização molecular de matéria orgânica sedimentar por técnicas cromatográficas e de espectrometria de massas**. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- BATAGLION, G. A. **Determinação de biomarcadores geoquímicos em ambiente anóxico da Lagoa da Conceição (SC)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.
- BATTIN, T. J. *et al.* Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. **Nature geoscience**, v. 1, n. 2, p. 95-100, 2008.
- BATTIN, T. J. *et al.* Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. **Nature**, v. 426, p. 439–442, 2003.
- BECKETT, R.; RANVILLE, J. Matéria orgânica natural. Em: **Interface Science and Technology**. Elsevier, 2006. p. 299-315.
- BENDTSEN, J. *et al.* Analysis of remineralisation, lability, temperature sensitivity and structural composition of organic matter from the upper ocean. **Progress in Oceanography**, v. 130, p. 125-145, 2015.
- BENDTSEN, Jørgen *et al.* Analysis of remineralisation, lability, temperature sensitivity and structural composition of organic matter from the upper ocean. **Progress in Oceanography**, v. 130, p. 125-145, 2015.
- BENEDETTI, M. F. *et al.* Carbon and metal concentrations, size distributions and fluxes in major rivers of the Amazon basin. **Hydrological Processes**, v. 17, n. 7, p. 1363-1377, 2003.

BENEDETTI, Marc *et al.* Field-flow fractionation characterization and binding properties of particulate and colloidal organic matter from the Rio Amazon and Rio Negro. **Organic Geochemistry**, v. 33, n. 3, p. 269-279, 2002.

BIANCHI, T. S. **Biogeoquímica de estuários**. Oxford University Press, 2007.

BIANCHINI J. R., I. Modelos de crescimento e decomposição de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S.M. E BINI, L.M. (Eds.) **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003. p. 85-126.

BICUDO, C. E. M.; TUNDISI, J. G.; SCHEUENSTUHL, M. C. B. **Waters of Brazil: Strategic Analysis**: Springer International Publishing Switzerland. 2017.

BIERSMITH, A.; BENNER, R. Carbohydrates in phytoplankton and freshly produced dissolved organic matter. **Marine Chemistry**, v. 63, n. 1-2, p. 131-144, 1998.

BRINKMANN, W. L. F. Particulate and dissolved materials in the Rio Negro-Amazon Basin. In: **Sediments and Water Interactions: Proceedings of the Third International Symposium on Interactions Between Sediments and Water, held in Geneva, Switzerland**. New York, NY: Springer New York, 1986. p. 3-12.

CANUEL, E. A. *et al.* Climate change impacts on the organic carbon cycle at the land-ocean interface. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 40, n. 1, p. 685-711, 2012.

CARVALHO, R. M. de. **Um estudo da Geografia do Amazonas**. Boa Vista: Gráfica Real – A.S. Chaves – ME, 130 p. 2001.

DERRIEN, M.; BROGI, S. R.; GONÇALVES-ARAUJO, R. Characterization of aquatic organic matter: assessment, perspectives and research priorities. **Water Research**, v. 163, p. 114908, 2019.

DZIERZBICKA-GLOWACKA, L. *et al.* Particulate organic carbon in the southern Baltic Sea: numerical simulations and experimental data. **Oceanologia**, v. 52, n. 4, 2010.

FANG, J. *et al.* Source characterization of sedimentary organic matter using molecular and stable carbon isotopic composition of *n*-alkanes and fatty acids in sediment core from Lake Dianchi, China. **Science of the Total Environment**, v. 473–474, p. 410–421, 2014.

FILIZOLA, N. *et al.* **Caracterização hidrológica da Bacia Amazônica**In: Rivas, A. & Freitas, C.E. de C. Amazônia uma perspectiva interdisciplinar. ManausIn: Rivas, A. & Freitas, C.E. de C. Amazônia uma perspectiva interdisciplinar., , 2002.

FILIZOLA, N. **Transfer sédimentaire actuel par les fleuves amazoniens**. [s.l.] UNIVERSITE TOULOUSE III - PAUL SABATIER, 2003.

FILIZOLA, N.; GUYOT, J. L. Suspended sediment yields in the Amazon basin: an assessment using the Brazilian national data set. **Hydrological Processes: An International Journal**, v. 23, n. 22, p. 3207-3215, 2009.

FISHER, T. R. Plâncton e produção primária em sistemas aquáticos da bacia da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 8, n. 4 suppl 1, p. 43-54, 1978.

GADEL, F. *et al.* Biogeochemical characteristics of organic matter in the particulate and colloidal fractions downstream of the Rio Negro and Solimoes rivers confluence. **Agronomie**, v. 20, n. 5, p. 477-490, 2000.

GROSS, J. H. **Mass Spectrometry: A Textbook**. 2. ed. Berlin: Springer, 2017.

GROSS, Jürgen H. **Mass spectrometry: a textbook**. Springer Science & Business Media, 2006.

GROSSI, V. *et al.* Metabolism of *n*-alkanes and *n*-alkenes by anaerobic bacteria: A summary. **Organic Geochemistry**, v. 39, p. 1197–1203, 2008.

GUIMARÃES, L. M. *et al.* Impactos da mudança de vegetação local no aporte de matéria orgânica para um estuário tropical preservado. **Química Nova**, v. 42, n. 6, p. 611–618, 2019.

HANSEN, M. C., *et al.* High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change. **Science**. 342(6160). 850-853. 2013.

HE, Wei *et al.* Dynamic exchanges between DOM and POM pools in coastal and inland aquatic ecosystems: A review. **Science of the Total Environment**, v. 551, p. 415-428, 2016.

HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, B. *et al.* Esterase production by microorganisms: importance and industrial application Producción de esterases por microorganismos: importancia y aplicación industrial. **Mexican Journal of Biotechnology**, 2019. 4(1), 25–37.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. **Mass spectrometry: principles and applications**. 3. ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2007. 489 p.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. Bookman, 2009.

HU, B. *et al.* Photogeochemistry of particulate organic matter in aquatic systems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 806, p. 150467, 2022.

Intergovernmental Painel on Climate Change. The Physical Science Basis (2021) In: **IPCC. Climate Change**. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>. Acessado 25 de maio de 2024.

JUNK, W. J.; FURCH, K. Química da água e macrófitas aquáticas de rios e igarapés na Bacia Amazônica e nas áreas adjacentes. Parte I: Trecho Cuiabá - Porto Velho - Manaus. **Acta Amazonica**, v. 10, n. 3, p. 611–633, 1980.

KARANFIL, T. *et al.* Role of granular activated carbon surface chemistry on the adsorption of organic compounds. 2. Natural organic matter. **Environmental science & technology**, v. 33, n. 18, p. 3225-3233, 1999.

KAWASAKI, N. *et al.* Bacterial carbon content and the living and detrital bacterial contributions to suspended particulate organic carbon in the North Pacific Ocean. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 62, n. 2, p. 165-176, 2011.

KERNER, M. *et al.* Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. **Nature**, v. 422, n. 6928, p. 150-154, 2003.

KHARBUSH, J. J. *et al.* Particulate organic carbon deconstructed: molecular and chemical composition of particulate organic carbon in the ocean. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 518, 2020.

KIEBER, R. J.; WHITEHEAD, R. F.; SKRABAL, S. A., 2006. Photochemical production of dissolved organic carbon from resuspended sediments. **Limnol. Oceanogr.** 51, 2187–2195

KILLOPS, S. D.; KILLOPS, V. J. **Introduction to organic geochemistry**. John Wiley & Sons, 2013.

KIRSCHBAUM, M. U. F. The temperature dependence of organic-matter decomposition—still a topic of debate. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 2510-2518, 2006.

KOLOMNIKOV, I. G. *et al.* Early stages in the history of gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1537, p. 109-117, 2018.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente “compatíveis”? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 1, p. 27-46, 2013.

LANÇAS, F. M. **Espectrometria de massas: fundamentos, instrumentação e aplicações**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2019.

LI, S. *et al.* Microbial succession and nitrogen cycling in cultured biofilms as affected by the inorganic nitrogen availability. **Microbial Ecology**, v. 73, p. 1–15, 2016.

LIU, H. *et al.* A classification-based approach to mapping particulate organic matter (POM) in inland water using OLCI images. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 23, p. 64203-64220, 2023.

LÓPEZ-SÁNCHEZ, R. *et al.* Metagenomic analysis of carbohydrate-active enzymes and their contribution to marine sediment biodiversity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 95, 2024.

LUNDEEN, R. A. *et al.* Environmental photochemistry of amino acids, peptides and proteins. **Chimia**, v. 68, n. 11, p. 812-812, 2014.

MABEAU, S.; KLOAREG, B. Isolation and analysis of the cell walls of brown algae: *Fucus spiralis*, *F. ceranoides*, *F. vesiculosus*, *F. serratus*, *Bifurcaria bifurcata* and *Laminaria digitata*. **Journal of Experimental Botany**, v. 38, n. 9, p. 1573-1580, 1987.

MARENGO, J. A. Água e mudanças climáticas. **Estudos avançados**, v. 22, p. 83-96, 2008.

MARENGO, J. A.; HASTENRATH, S. Case studies of extreme climatic events in the Amazon basin. **Journal of Climate**, v. 6, n. 4, p. 617-627, 1993.

MARINHO, R. R. *et al.* O projeto hidrogeos-negro no arquipélago de Anavilhanas, Novo Airão (AM)/The HIDROGEOS-NEGRO Project in Anavilhanas Archipelago, Novo Airão (AM): initial results. **Revista Geonorte**, v. 10, n. 34, p. 153-167, 2019a.

MARINHO, R. R. **Integração de dados de campo e sensoriamento remoto no estudo do fluxo de água e matéria do Arquipélago de Anavilhanas, Rio Negro, Amazonas, Brasil**. Tese (Doutorado em Clima e Ambiente). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2019b.

MARINHO, R. R. *et al.* Estimating the colored dissolved organic matter in the negro river, amazon basin, with in situ remote sensing data. **Remote Sensing**, v. 16, n. 4, p. 613, 2024.

MAYER, L.M., SCHICK, L.L., SKORKO, K., BOSS, E. Photodissolution of particulate organic matter from sediments. **Limnol. Oceanogr.** 51, 1064–1071, 2006.

MAYORGA, E. *et al.* Young organic matter as a source of carbon dioxide outgassing from Amazonian rivers. **Nature**, v. 436, n. 7050, p. 538-541, 2005.

MEDEIROS, P. M.; SIMONEIT, B. R. T. Cromatografia gasosa-espectrometria de massas para análise de compostos orgânicos e biomarcadores. **Journal of Chromatography**, 1216(6), 3687–3701, 2008.

MELO, M. G. de. **Determinação de esteróis em sedimentos de igarapés de Manaus utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC–MS/MS)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

MELO, M. G. de. *et al.* Correlation between caffeine and coprostanol in contrasting Amazonian water bodies. **Chemosphere**, v. 326, p. 138365, 2023.

MELO, M. G. de. *et al.* Sewage contamination of Amazon streams crossing Manaus (Brazil) by sterol biomarkers. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 818-826, 2019.

MINOR, E. C. *et al.* Structural characterization of dissolved organic matter: a review of current techniques for isolation and analysis. **Environmental science: processes & impacts**, v. 16, n. 9, p. 2064-2079, 2014.

MORAES, D. S. L; JORDÃO B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Rev Saúde Pública**. 36(3). 370-4. 2002

MOREIRA, W. P. **Variação espaço-temporal dos parâmetros físicos e químicos e do fluxo de elementos-traço como indicadores basais no Arquipélago Fluvial de Anavilhanas**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

MOREIRA-TURCQ, P. F. *et al.* Characteristics of organic matter in the mixing zone of the Rio Negro and Rio Solimões of the Amazon River. **Hydrological Processes**, v. 17, n. 7, p. 1393-1404, 2003a.

MOREIRA-TURCQ, P.; SEYLER, P.; GUYOT, J.L.; ETCHEBER, H. Exportation of organic carbon from the Amazon River and its main tributaries. **Hydrological Processes**. 17: 1329-1344, 2003b.

MORTILLARO, J. M. *et al.* Particulate organic matter distribution along the Lower Amazon River: addressing aquatic ecology concepts using fatty acids. 2012.

MOUNIER, Stéphane; BRAUCHER, Régis; BENAÏM, J. Y. Differentiation of organic matter's properties of the Rio Negro basin by cross-flow ultra-filtration and UV-spectrofluorescence. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2363-2373, 1999.

NINOKAWA, A. T.; RIES, J. Responses of freshwater calcifiers to carbon-dioxide-induced acidification. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 10, n. 8, p. 1068, 2022.

NUNES, A. P. **Determinação de Hidrocarbonetos Alifáticos e Aromáticos na Matéria Orgânica Sedimentar do Rio Amazonas e de Igarapés que Entrecortam Parintins (AM)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2022.

PACCAGNELLA, Y. C.; BIANCHINI Jr., I.; CUNHA-SANTINO, M. B. Decomposition dynamics of two aquatic macrophytes: response of litter interaction with temperature and dissolved oxygen availability. **Brazilian Journal of Botany**, v. 43, p. 1047–1059, 2020.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012. Cap. 8, p. 399–499.

PIRES, W. A. D. **Ionização induzida por impacto de elétrons e fragmentação iônica de álcoois primários metanol e etanol**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora, 2016.

PORCAL, P.; DILLON, P. J.; MOLOT, L. A. Temperature dependence of photodegradation of dissolved organic matter to dissolved inorganic carbon and particulate organic carbon. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0128884, 2015.

PORTO, M. F; PORTO, R. L. L. Gestão de bacias hidrográficas. **Estudos Avançados**. 22. (63). 2008.

RAYMOND, P. A. *et al*. Global carbon dioxide emissions from inland waters. **Nature**, v. 503, n. 7476, p. 355-359, 2013.

RIBAS, C. C. *et al*. The role of rivers in the origin and future of Amazonian biodiversity. **Nature Reviews Biodiversity**, v. 1, n. 1, p. 14-31, 2025.

RICHEY, J. E. *et al*. Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂. **Nature**, v. 416, n. 6881, p. 617-620, 2002.

RICHEY, J. E.; HEDGES, J. I.; DEVOL, A. H.; QUAY, P. D. Biogeochemistry of carbon in the Amazon river. **Limnology and oceanography**, v. 35, p. 352-372, 1990.

RONTANI, J. F.; BONIN, P. C.; VOLKMAN, J. K. Production of wax esters during aerobic growth of marine bacteria on isoprenoid compounds. **Applied and environmental Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 221-230, 1999.

ROULET, Nigel; MOORE, Tim R. Browning the waters. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 283-284, 2006.

RULLKÖTTER, J. Geochemistry, organic. **Encyclopedia of physical science and technology**, v. 3, p. 549-574, 2001.

SALIOT, A. Natural hydrocarbons in sea water. In: **Elsevier Oceanography Series**. Elsevier, 1981. p. 327-374.

SALIOT, A., MEJANELLE, L., SCRIBE, P., FILLAUX, J., PEPE, C., JABAUD, A., & DAGAUT, J. Particulate organic carbon, sterols, fatty acids and pigments in the Amazon River system. **Biogeochemistry**, v. 53, p. 79-103, 2001.

SANTOS, G. M. dos; FERREIRA, E. J. G.. Peixes da bacia amazônica. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**, pgs. 345-373, 1999.

SCIESSERE, L. **Ação das enzimas extracelulares na dinâmica da decomposição de macrófitas aquáticas**. Tese, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, São Carlos 2011.

SCOFIELD, V. *et al*. Carbon dioxide outgassing from Amazonian aquatic ecosystems in the Negro River basin. **Biogeochemistry**, v. 129, p. 77-91, 2016.

SHIMADZU, **Basics of Gas Chromatograph-Mass Spectrometry**. Disponível em: <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/gas-chromatograph-mass-spectrometry.html>. Acesso em: 10, junho de 2024.

SILLANPÄÄ, M. Introdução geral. In: **Matéria Orgânica Natural em Água: Caracterização e Métodos de Tratamento**. Elsevier Inc., 2015. p. 1-15.

SIOLI, H. A limnologia na região amazônica brasileira. **Anais do Encontro Nacional sobre Limnologia, Piscicultura e Pesca Continental**. Belo Horizonte, Brazil, p. 153-169, 1976.

SIOLI, H. Amazon Tributaries and Drainage Basins. **Coupling of land and water systems**, v. 10, p. 199, 1975.

SIOLI, H. Das Wasser im Amazonasgebiet. **Forschungen und Fortschritte**, v. 26(21/22), p. 274–280, 1950.

SIOLI, H. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: **The Amazon: limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1984. p. 127-165.

SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana. Editora Cengage Learning., São Paulo-SP, 2006, p. 899 – 920.

SMITH, D. C. *et al.* Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. **Nature**, v. 359, n. 6391, p. 139-142, 1992.

TANGRI, S. A Mathematical Study on Rising Pressures of Carbon Emissions and Acidity in Aquatic Bodies. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, v. 2267. n. 1, p. 012130, 2022.

THOMAS, A.; RAMKUMAR, A.; SHANMUGAM, A. CO₂ acidification and its differential responses on aquatic biota—a review. **Environmental Advances**, v. 8, p. 100219, 2022.

THOMAZ, S. M.; WETZEL, R. G. [3 H] Leucine incorporation methodology to estimate epiphytic bacterial biomass production. **Microbial ecology**, v. 29, p. 63-70, 1995.

THORP, J. H.; THOMS, M. C.; DELONG, M. D. **A síntese do ecossistema fluvial: em direção à coesão conceitual na ciência fluvial**. Elsevier, 2010.

THURMAN, E. M. Organic geochemistry of natural waters. **Springer Science & Business Media**, 2012.

TREMBLAY, L.; BENNER, R. Organic matter diagenesis and bacterial contributions to detrital carbon and nitrogen in the Amazon River system. **Limnology and Oceanography**, v. 54, n. 3, p. 681–691, 2009.

TUCCI, C. E. M. Plano diretor de drenagem: princípios e concepções. **Revista brasileira de recursos hídricos**. 2(2). 5-12. 1997.

VERDUGO, P. *et al.* The oceanic gel phase: a bridge in the DOM–POM continuum. **Marine chemistry**, v. 92, n. 1-4, p. 67-85, 2004.

VERDUGO, P.; SANTACHI, P. H. Polymer dynamics of DOC networks and gel formation in seawater. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v. 57, n. 16, p. 1486-1493, 2010.

WAKEHAM, S. G. *et al.* Molecular indicators of diagenetic status in marine organic matter. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 61, n. 24, p. 5363-5369, 1997.

WANG, X. *et al.* Polysaccharide preferred minority-dominant community assembly and exoenzyme enrichment in transparent exopolymer particles: Implication for global carbon cycle in water. **Science of The Total Environment**, v. 914, p. 169976, 2024.

WARD, N. D. *et al.* Degradation of terrestrially derived macromolecules in the Amazon River. **Nature Geoscience**, v. 6, n. 7, p. 530-533, 2013.

WARD, N. D. *et al.* Where carbon goes when water flows: carbon cycling across the aquatic continuum. **Frontiers in Marine Science**, v. 4, p. 7, 2017.

WETZEL, R. G. **Limnology: lake and river ecosystems**. gulf professional publishing, 2001.

WYATT, K. H. *et al.* Resource constraints highlight complex microbial interactions during lake biofilm development. **Journal of Ecology**, v. 107, p. 2737–2746, 2019.

YLLA, I. *et al.* Labile and recalcitrant organic matter utilization by river biofilm under increasing water temperature. **Microbial Ecology**, v. 64, p. 593–604, 2012.

YLLA, I.; CANHOTO, C.; ROMANÍ, A. M. Effects of warming on stream biofilm organic matter use capabilities. **Microbial Ecology**, v. 68, p. 132–145, 2014.

ZHOU, B. *et al.* Source, transformation and degradation of particulate organic matter and its connection to microbial processes in Jiaozhou Bay, North China. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 260, p. 107501, 2021.