



Universidade de Aveiro  
2023

**Rafael Pereira  
Rebelo**

**ROCHAS ULTRAMÁFICAS DE CABEÇO DE VIDE  
(PORTUGAL): ANÁLOGO SINGULAR PARA  
ENTENDER A SERPENTINIZAÇÃO EM MARTE**



Universidade de Aveiro  
2023

**Rafael Pereira  
Rebello**

## **ROCHAS ULTRAMÁFICAS DE CABEÇO DE VIDE (PORTUGAL): ANÁLOGO SINGULAR PARA ENTENDER A SERPENTINIZAÇÃO EM MARTE**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Geológica, realizada sob a orientação científica da Doutora Slavka Carvalho Andrejkovičová, Investigadora Principal do Departamento de Geociências da Universidade de Aveiro e sob coorientação do Doutor Fernando Joaquim Fernandes Tavares Rocha, Professor Catedrático do Departamento de Geociências da Universidade de Aveiro.

## **O júri**

Presidente

Prof. Doutora Carla Alexandra de Figueiredo Patinha  
Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro

Orientador

Doutora Slavka Carvalho Andrejkovičová  
Investigadora Principal da Universidade de Aveiro

Arguente

Doutora Maria Isabel Garrido Prudêncio  
Investigadora Coordenadora aposentada do Instituto Superior Técnico da  
Universidade de Lisboa

## agradecimentos

Embora uma tese, pela sua finalidade académica, seja um trabalho individual, este trabalho resulta da colaboração e empenho de um conjunto de pessoas que não podem nem devem deixar de ser realçadas. Por tudo isto, desejo expressar a minha sincera gratidão.

Aos meus pais e avós, pelo esforço que fizeram para que eu pudesse chegar onde cheguei, nunca esquecerei. Obrigada pelo apoio e amor incondicional.

À minha namorada, pelo apoio incansável, que preencheu diversas falhas que fui tendo devido à força das circunstâncias e, por tudo o que já vivemos, ainda que em sonhos. Obrigada pela dedicação!

À Doutora Slavka Carvalho Andrejkovičová, minha orientadora por toda a orientação e acompanhamento imprescindível do trabalho, pela sua disponibilidade e forma exigente, crítica e criativa, pelo seu incentivo, conselhos e sugestões, que revelam a sua competência científica e o grande ser humano que é. Obrigada por toda a partilha de conhecimento e pelas ideias extraterrestre que me ensinaram que geologia não se faz só debaixo dos pés e que um telescópio também pode ser uma ferramenta de geólogo. Sinto-me privilegiado por a ter conhecido.

Ao Professor Doutor Fernando Joaquim Fernandes Tavares Rocha, coorientador, pela sua forma incansável e gosto em partilhar conhecimento e por toda a motivação, boa disposição, disponibilidade e otimismo transmitido.

À Engenheira Denise Terroso, pela realização do DRX, por me ensinar a analisar difratogramas, pelo conhecimento e ajuda fornecidos em laboratório, pela disponibilidade, simpatia, carinho e amizade que tem com os seus alunos.

À Engenheira Cristina Sequeira, pela realização das análises químicas, FRX e MEV, pela disponibilidade e pela simpatia.

À Doutora Aidyl Gonzalez-Serricchio, à Doutora Inês Macário e à Mestre Telma Veloso pela partilha de conhecimentos e ajuda numa área totalmente nova para mim, a biologia e genética.

À Professora Doutora Deolinda Flores da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, à Professora Doutora Rosa Marquês do Instituto Superior Técnico de Lisboa pela disponibilidade e colaboração neste trabalho.

Aos meus colegas e amigos pelo companheirismo e incentivo.

Agradecer ao departamento de Geociências da universidade de Aveiro e a todo o corpo técnico, investigadores, docentes que de alguma forma contribuíram para a minha evolução pessoal e académica.

Mais uma vez, a todos os meus sinceros agradecimentos

## palavras-chave

serpentina, geologia, bioassinaturas, astrobiologia, Cabeço de Vide, análogo de Marte

## resumo

Com base no Roteiro Europeu de Astrobiologia, os locais associados aos processos de serpentinização, tanto na Terra quanto em todo o Sistema Solar, estão a ganhar importância para o estudo da origem da vida.

Uma vez que a crosta de Marte e da Terra é amplamente composta por rochas máficas e ultramáficas, essas observações levaram a um aumento no interesse pela origem da vida, tanto terrestre quanto extraterrestre.

A serpentinização é um processo geoquímico hidrotermal que leva à oxidação de  $\text{Fe}^{2+}$  na olivina devido a sua hidratação e consequente produção de  $\text{H}_2$  que pode ser explorado metabolicamente por vida microbiana. Além disso, o  $\text{H}_2$  pode impulsionar a síntese de moléculas orgânicas em reações do tipo Fischer-Tropsch, como o metano. Isso é de vital interesse para a comunidade global de pesquisa focada na origem da vida. Ambientes propensos à serpentinização são de particular interesse, pois implicam a presença de vários "elementos-chave" para a vida como a conhecemos. Portanto, o conhecimento adequado da mineralogia detalhada das serpentininas terrestres é crucial para a interpretação dos dados adquiridos pelos "rovers" em Marte e contribui para a pesquisa da existência de vida passada ou atual em Marte.

Devido à sua acessibilidade e serpentinização ativa, o complexo máfico-ultramáfico hidrotermalmente alterado de Cabeço de Vide, oferece uma oportunidade única para a investigação de rochas serpentinizadas continentais na Terra, enfatizando o fato de que os ultramáficos de CdV não são ofiolitos, mas estão associados à intrusão de plutão máfico/ultramáfico.

A presente dissertação tem como objetivos a análise mineralógica e química bem como a investigação de bioassinaturas contidas nas rochas serpentinizadas de Cabeço de Vide (CdV), Portugal e comparação dos dados obtidos com os da cratera Jezero, Marte. Para a realização deste estudo recorreu-se às seguintes técnicas: difração de raios X, microscopia petrográfica, microscopia eletrônica de varrimento, difração de raios X, microscopia de fluorescência e à extração, tratamento e análise do gene 16S rRNA.

Os resultados obtidos confirmaram as semelhanças na litologia de CdV e da cratera de Jezero constituída maioritariamente por rochas ultramáficas serpentinizadas e carbonatos autigênicos, bem como a similaridade na composição mineralógica dominada por serpentininas, piroxenas, carbonatos ricos em Mg, Fe/Mg-esmectites e óxidos de Fe. Foi ainda possível com este trabalho comprovar, pela primeira vez, a presença de matéria orgânica preservada nas rochas serpentinizadas de Cabeço de Vide. A exploração de ambientes de serpentinização como Cabeço de Vide enfatiza a importância de compreender o papel da serpentinização na formação de compostos orgânicos e no suporte à vida microbiana potencial.

O presente trabalho destaca-se de todos os já realizados até então tratando-se de uma primeira vez em que se confirma a presença do gene 16S rRNA em amostras rochosas recolhidas em ambiente de serpentinização continental e a elevadas profundidades.

**keywords**

serpentine, geology, biosignatures, astrobiology, Cabeço de Vide, Mars analog

**abstract**

Based on the European Astrobiology Roadmap, sites associated with serpentinization processes, both on Earth and throughout the Solar System, are gaining importance for the study of the origin of life. Since the crust of Mars and Earth is largely composed of mafic and ultramafic rocks, these observations have led to an increased interest in the origin of life, both terrestrial and extraterrestrial.

Serpentinization is a hydrothermal geochemical process that leads to the oxidation of  $\text{Fe}^{2+}$  in olivine due to its hydration, resulting in the production of  $\text{H}_2$ , which can be metabolically exploited by microbial life. Additionally,  $\text{H}_2$  can drive the synthesis of organic molecules in Fischer-Tropsch-type reactions, such as methane. This is of vital interest to the global research community focused on the origin of life. Environments prone to serpentinization are particularly interesting because they imply the presence of several "key elements" for life as we know it. Therefore, detailed knowledge of suitable terrestrial serpentines' mineralogy is crucial for interpreting data acquired by "rovers" on Mars and contributes to the research on the existence of past or present life on Mars.

Due to its accessibility and active serpentinization, the hydrothermally altered mafic-ultramafic complex of Cabeço de Vide, provides a unique opportunity to investigate continental serpentinized rocks on Earth. It emphasizes that CdV ultramafics are not ophiolites but are associated with the intrusion of mafic/ultramafic plutons.

The main objectives of this dissertation are the mineralogical and chemical analysis, as well as the investigation of bio-signatures contained in the serpentinized rocks of Cabeço de Vide (CdV), Portugal and comparison of the obtained data with those of Jezero Crater, Mars. For this study, the following techniques were used: X-ray diffraction, petrographic microscopy, scanning electron microscopy, fluorescence microscopy, and the extraction, treatment, and analysis of the 16S rRNA gene.

The obtained results confirmed the similarities in lithology between CdV and Jezero Crater, Mars, both predominantly composed of serpentinized ultramafic rocks and authigenic carbonates. The study also verified, for the first time, the presence of preserved organic matter in the serpentinized rocks CdV. The exploration of serpentinization environments like CdV underscores the importance of understanding the role of serpentinization in the formation of organic compounds and the support of potential microbial life.

This study stands out from all previous ones as it is the first time that the presence of the 16S rRNA gene in rock samples collected in a continental serpentinization environment at significant depths has been confirmed.

# Índice

<b>Capítulo1: Introdução</b> .....	1
1.1. Objetivos.....	3
1.2. Estrutura da Dissertação.....	4
<b>Capítulo2: Estado de arte</b> .....	7
2.1. Conceito de argila.....	7
2.2. Génese dos minerais argilosos .....	11
2.3. Grupo da serpentina .....	12
2.4. Serpentinização .....	16
2.5. Síntese do tipo Fischer-Tropsch .....	18
2.6. Marte.....	20
<b>Capítulo3: Enquadramento da área de estudo</b> .....	25
3.1. Cabeço de Vide.....	25
3.1.1 Enquadramento geográfico.....	25
3.1.2. Enquadramento geológico .....	26
<b>Capítulo4: Materiais e métodos</b> .....	31
4.1. Amostragem .....	31
4.2. Difração de Raios X.....	35
4.2.1. Semi-quantificação por DRX.....	39
4.3. Fluorescência de Raios X .....	40
4.3.1. Análise estatística de componentes principais .....	42
4.4. Microscópio petrográfico .....	43
4.5. Microscópio Eletrónico de Varrimento .....	45
4.6. Microscopia de luz UV.....	48
4.7. Detecção e Análise de Bactérias e Archeas .....	50
<b>Capítulo5: Trabalhos a decorrer e futuros</b> .....	55
<b>Capítulo6: Análise e Interpretação dos Resultados</b> .....	57
6.1. Composição mineralógica das amostras.....	57
6.1.1. AC1 .....	58
6.1.2. AC2 .....	61
6.2. Composição Química das amostras .....	66
6.2.1. Análise de elementos maiores .....	67
6.2.2. Análise de elementos menores.....	74
6.2.3. Análise de elementos traço.....	74
6.3. Microscópio Eletrónico de Varrimento .....	75
6.4. Componente Orgânica das amostras .....	84
6.4.1 Microscopia de fluorescência.....	84

6.4.2. Detecção e análise de Bactérias e Archeas.....	86
<b>Capítulo7: Conclusões</b> .....	89
<b>Bibliografia</b> .....	93
<b>Anexos</b> .....	107
Anexos 1: Difractogramas.....	107
Anexos 2: Constituição química .....	163
Anexo 3: Análise de Componentes Principais.....	166
Anexo 4: Protocolo adotado para extração de material genético .....	175



## Lista de Abreviaturas

Å - Unidade Ångström  
Al - Alumínio  
Amp - Amphibole  
Atg - Antigorite  
Bau - Baumite  
Ca - Cálcio  
Cal - Calcite  
CdV - Cabeço de Vide  
Chl - Chlorite  
CH<sub>4</sub> - Metano  
CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono  
Ctl - Crisótilo  
Dol - Dolomite  
DRX - Difração de raios X  
EDS - Espectroscopia de raios X por dispersão em energia  
Fe - Ferro  
FRX - Fluorescência de raios X  
H - Hidrogénio  
H<sub>2</sub>O - Água  
ICDD - International Center for Diffraction Data  
K - Potássio  
Kln - Caulinite  
Lizardite - Lz  
LOI - Loss on ignition  
Mag/Mgh - Magnetite/Maghemite  
Mca - Mica  
MEV - Microscópio eletrónico de varrimento  
MFUV - Microscopia de fluorescência de luz UV  
Mg - Magnésio  
MP - Microscópio petrográfico  
Na - Sódio  
Ncr - Nacrite  
N. d. - Não Detetado  
N// - Nicóis Paralelos  
Nor-nordeste- Sul-sudoeste - NNE-SSW  
Noroeste- Sudeste - NW - SE  
NX - Nicóis cruzados  
Ol - Olivina  
O - Oxigénio  
Or - Ortóclase  
PCA - Análise de componentes principais  
Phl - Flogopite  
Pl - Plagióclase  
Px - Piroxenas  
Sep - Sepiolite  
Si - Silício  
Sme - Esmectite  
Srp - Serpentinhas  
16S rRNA - Gene 16S do ácido ribossómico  
UV - Luz Ultravioleta  
Vrm - Vermiculite  
Zeo - Zeólito

## Índice de Figuras

Figura 1   Estrutura do grupo aniónico SiO <sub>4</sub> - folha Tetraédrica na parte superior; folha octaédrica na parte inferior. ....	8
Figura 2   Formação das camadas 1:1 e 2:1, onde os círculos pretos são iões tetraédricos, os círculos brancos menores são iões octaédricos, os círculos brancos maiores são oxigénios e os círculos cinza são hidroxilos. ....	10
Figura 3   Esboço das estruturas cristalográficas dos minerais de serpentina: A - lizardite, B - crisótilo; C - antigorite (retirado de Mével, 2003). ....	14
Figura 4   A- Fotomicrografia de uma bastite; B- Imagem de MEV de uma textura pseudomórfica em malha (retirado de Iyer, 2007). ....	15
Figura 5   Fotomicrografia de uma textura interpenetrante não pseudomórfica em serpentinitas, consistindo em lâminas de antigorita opticamente distinguíveis (retirado de Iyer, 2007). ....	16
Figura 6   Classificação das rochas ultramáficas segundo Le Maitre (2002). ....	17
Figura 7   Processo de serpentinização e reação de Fischer-Tropsch. ....	19
Figura 8   Mineralogical Association of Jazero Cratere, Mars. (Horgan et al., 2020). ....	21
Figura 9   Rover Mars2020 Perseverance da NASA (Créditos NASA/JPL-Caltech/MSSS). ....	22
Figura 10   Enquadramento geográfico da área de estudo. ....	25
Figura 11   Termas da sulfúrea, Cabeço de Vide. ....	26
Figura 12   Mapa geológico de Cabeço de Vide. ....	27
Figura 13     AC1:146,00;171,20; 94,25, respetivamente. ....	32
Figura 14   AC2: 62,80; 60,60; 58,55, respetivamente. ....	33
Figura 15   AC2: 121,4; 124,00; 117,05, respetivamente. ....	33
Figura 16   AC2: 105,85; 101,15, respetivamente. ....	33
Figura 17   AC2: 71,00; 96,10; 65,95, respetivamente. ....	33
Figura 18   AC2:96,10;93,35;119,45, respetivamente. ....	34
Figura 19   AC2: 51,11; 67,05;81,65, respetivamente. ....	34
Figura 20   AC2: 44,20;35,10;30,05, respetivamente. ....	34
Figura 21   Equação da lei de Bragg. ....	35
Figura 22   Esquema ilustrativo do fenómeno de difração de raio-X (lei de Bragg). ....	36
Figura 23   Modelo do funcionamento da DRX (retirado de Igwebike-Ossi, 2017). ....	37
Figura 24   Lâminas de agregados orientados. ....	38
Figura 25   Modelo do funcionamento da FRX (retirado de Khalid et al., 2011). ....	40
Figura 26   Poster promocional do MP do início dos anos 20 (retirado Leitz, 1921). ....	44
Figura 27   Esquema dos componentes existentes num MEV (Inkson, 2016). ....	47
Figura 28   Revolver do microscópico eletrónico de varrimento carregado com fragmentos das amostras. ....	48
Figura 29   Instrumento SHERLOC do Rover Perseverance (Fonte: NASA/JPL-Caltech). ....	50
Figura 30   Fluxograma da Detecção e Análise de Bactérias e Archeas. ....	52
Figura 31   Processo de amostragem dentro na câmara de fluxo e amostras enviadas para o Instituto de Tecnologia da Califórnia, respetivamente. ....	53
Figura 32   Exemplo da amostragem parcial, detalhe da amostra AC2: 121,40. ....	58
Figura 33   Pormenor dos dois domínios da amostra AC1:171,20. ....	59
Figura 34   Amostra AC1: 94,25 obtida através do microscópio petrográfico. À esquerda N// e à direita NX, ambas com ampliação de 40 vezes. ....	61
Figura 35   Amostra AC2: 86,10: à esquerda NX; à direita N// 40 x. ....	66
Figura 36   Representação das variáveis no primeiro plano fatorial. ....	70
Figura 37   Representação dos indivíduos no primeiro plano fatorial. ....	73
Figura 38   MEV da amostra AC1: 146,00. ....	76
Figura 39   MEV da amostra AC1: 171,20. ....	77

Figura 40  MEV da amostra AC2: 51,10.....	77
Figura 41  MEV da amostra AC2: 71,00.....	78
Figura 42  MEV da amostra AC2: 96,10(2). ....	79
Figura 43  MEV da amostra AC2: 124,00.....	79
Figura 44  Fotografia do MEV e respetivo mapa da amostra AC2: 30,05. ....	81
Figura 45  Fotografia do MEV e respetivo mapa da amostra AC2: 30,05. ....	82
Figura 46  Fotografia do MEV e respetivo mapa da lâmina delgada da amostra AC2: 96,10(1). 83	
Figura 47  Fluorescência da amostra 94,25, onde se observa matéria orgânica em secções amareladas e alongadas.....	84
Figura 48  Análise quantitativa de material genético extraído da amostra AC1: 146,00. ....	86
Figura 49  Purificação do material genético durante o processo de extração.....	86

## Índice de Tabelas

Tabela 1   Características dos principais minerais do grupo da serpentina (Moody, 1976). .....	13
Tabela 2   Amostras recolhidas da sondagem AC2 e respetivas análises. ....	32
Tabela 3   Amostras recolhidas da sondagem AC1 e respetivas análises. ....	32
Tabela 4   Poderes refletivos (adaptado de Oliveira et al., 2002). ....	39
Tabela 5   Composição mineralógica semiquantitativa das amostras de AC1. ....	59
Tabela 6   Análise mineralógica parcial das amostras AC1. ....	60
Tabela 7   Composição mineralógica semiquantitativa da amostra total da sondagem AC2 (30,05 a 81,665). ....	61
Tabela 8   Composição mineralógica semiquantitativa da amostra total da sondagem AC2 (86,10 a 124,00). ....	61
Tabela 9   Teor de minerais de serpentina nas amostras totais da sondagem AC2(30,05 a 81,65). ....	64
Tabela 10   Teor de minerais de serpentina nas amostras totais da sondagem AC2(86,10 a 124,0). ....	64
Tabela 11   Análise mineralógica da amostragem parcial da sondagem AC2. ....	65
Tabela 12   Teores em elementos maiores das amostras da sondagem AC2. ....	68
Tabela 13   Coeficientes de correlação da análise de componentes principais. ....	69
Tabela 14   Correlação entre os elementos químicos e as componentes principais. ....	70
Tabela 15   Representatividade de cada componente em cada amostra (a componente com maior peso em cada amostra encontra-se realçada a azul). ....	72
Tabela 16   Teores em elementos menores das amostras da sondagem AC2. ....	74
Tabela 17   Teores em elementos traço das amostras da sondagem AC2. ....	75

## Capítulo 1: Introdução

A presente dissertação foi desenvolvida no âmbito do programa de Mestrado em Engenharia Geológica da Universidade de Aveiro e intitula-se como “Rochas ultramáficas de Cabeço de Vide (Portugal): análogo singular para entender a serpentinização em Marte”.

A descoberta da existência de planetas rochosos fora do sistema solar com campos hidrotermais de baixa temperatura, realizadas entre 1995 e 2001, motivaram a investigação de processos de serpentinização, hoje reconhecidos como as reações metamórficas mais importantes para explicar a origem da vida (Russell *et al.*, 2014). Isto e o conhecimento de que a crosta indiferenciada de planetas rochosos como Marte e a Terra primitiva é amplamente composta por rochas máficas e ultramáficas despertaram o aumento do interesse sobre a origem da vida.

A serpentinização é um processo geoquímico no qual a olivina é hidratada para formar serpentina, magnetite e brucite. A oxidação de  $Fe^{2+}$  na olivina leva à produção de  $H_2$  e pode ser explorada metabolicamente por vida microbiana. Além disso, o  $H_2$  pode impulsionar a síntese de moléculas orgânicas em reações do tipo Fischer-Tropsch, como o metano. Isso é de vital interesse para a comunidade global de pesquisa focada na origem da vida, dadas as plumas episódicas de  $CH_4$  e a deteção de moléculas orgânicas na Cratera Gale em Marte (Webster *et al.*, 2013).

As olivinas e as piroxenas, necessárias para a serpentinização, são minerais comuns em Marte como revelado por uma variedade de estudos orbitais, em informação recolhida pelos “rovers” e em análises de meteoritos marcianos. A combinação destes dados sugere que os basaltos e as rochas ultramáficas são comuns na crosta de Marte e é possível que a serpentinização tenha sido (e ainda possa ser) um processo importante em Marte (Oehler & Etiope, 2017).

A serpentinização é comum na Terra em locais onde as formações geológicas ricas em olivina estão em contacto com a água líquida, normalmente em margens tectonicamente ativas, tais como zonas de rifting e sequências de ofiolíticas (Früh-Green *et al.*, 2004). As ocorrências continentais de serpentinização ativas na Terra são raras.

Assim, pela sua acessibilidade e serpentinização ativa, a intrusão do complexo plutónico máfico-ultramáfico de Cabeço de Vide (CdV), Portugal, associado a alteração hidrotermal, oferece uma oportunidade única para a investigação de rochas continentais serpentinizadas na Terra, enfatizando o facto de as rochas ultramáficas de CdV não serem ofiolíticas (Rocha *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2008, 2018). Para além das serpentinas, a ocorrência de piroxenas, olivinas, esmectites e carbonatos em CdV e em Jezero Crater aponta para semelhanças mineralógicas entre ambos os locais (Rocha *et al.*, 2017; Dobreá & Clark, 2019). Até ao momento, há um número reduzido de trabalhos científicos relacionados com a compreensão dos processos geológicos que levam à serpentinização na Terra, com ênfase para a comparação com os que ocorrem em Marte. Neste contexto, CdV é proposto como um excelente ambiente mineralógico para ser estudado como análogo para Marte, dado ter sido relatada a deteção de serpentinas no local de aterragem do rover Mars 2020/Perseverance: Jezero Crater (Vance & Melwani Daswani, 2020).

Serpentinas na Turquia, Canadá, Omã e Sri Lanka foram propostas como análogos para Marte; ou são estudadas como um análogo para a produção de metano associado a ofiolitos (Etiope & Sherwood Lollar, 2013; Szponar *et al.*, 2013) ou os autores concentram-se na deteção de carbonatos ou variações químicas de serpentinas à microescala (Ehlmann *et al.*, 2012; Barbato *et al.*, 2019).

Foi desenvolvido um trabalho onde Cabeço de Vide foi considerado como análogo de Marte. Neste, as águas das emergências do complexo de termas da sulfúrea foram analisadas geomicrobiologicamente. Este trabalho foi levado a cabo por Marques *et al.* (2018) com a participação de Dr. Vance do Jet Propulsion Laboratory da NASA.

Os estudos referidos até então e o presente trabalho são cruciais para uma melhor compreensão da origem da vida na Terra e possivelmente em outros lugares (Etiope & Sherwood Lollar, 2013; Marques *et al.*, 2018).

Assim, há um elo crucial que falta estabelecer no que toca ao estudo da mineralogia presente no processo de serpentinização do complexo máfico-ultramáfico de CdV e aos processos geológicos que a originam. No entanto, existem trabalhos preliminares (Rocha *et al.*, 2017).

As recentes missões dos “rovers” em Marte permitem estudar, pela primeira vez, as condições de habitabilidade e a possibilidade de vida em outro planeta com dados *in situ*. Ambientes propensos à serpentinização são de particular interesse, porque implicam na presença de vários dos "elementos-chave" para a vida como a conhecemos. Além disso, por esse motivo, a Cratera Jezero foi selecionada como o local de pouso para um “rover” recente no Programa de Exploração de Marte da NASA, o Perseverance (pousou em Marte em 18 de fevereiro de 2021). Portanto, o conhecimento detalhado da mineralogia das serpentinas terrestres adequadas é crucial para a interpretação dos dados adquiridos em Marte e para contribuir para a pesquisa da existência de vida passada ou presente em Marte.

### 1.1. Objetivos

As recentes missões dos “rovers” em Marte permitem estudar, pela primeira vez, as condições de habitabilidade e a possibilidade de vida em outro planeta com dados *in situ*. Devido à importância do processo de serpentinização e o seu papel singular de possível impulsionador da origem de vida é crucial o conhecimento detalhado deste processo para a interpretação dos dados obtidos em Marte, contribuindo assim para a pesquisa da existência de vida passada ou atual nesse planeta.

É no seguimento desta necessidade que surge a presente dissertação que assenta essencialmente em três objetivos, com a recolha de 24 amostras de testemunhos das sondagens CdV AC1 e AC2 (entre 30 e 171 metros de profundidade) do complexo das termas da sulfúrea. Os principais objetivos deste trabalho são:

- Análise mineralógica com o intuito de estudar detalhadamente o processo de serpentinização e a sua evolução através de difração de raios X, microscopia petrográfica e microscopia eletrónica de varrimento;
- Análise química para perceber o comportamento e a evolução dos teores em elementos químicos no desenrolar do processo de serpentinização através de fluorescência de raios X e consequente análise estatística multivariada recorrendo ao método de análise em componentes principais;
- Investigação de bioassinaturas contidas nas rochas serpentinizadas de Cabeço de Vide através da extração do gene 16S rRNA, específico para bactérias e archeas. Este fornece informações sobre funções ecológicas, a diversidade microbiana e a

estrutura destas comunidades possivelmente presentes nestes ambientes, permitindo a comparação dos dados obtidos com os da cratera Jezero, Marte.

É importante referir que é a primeira vez que alguém tenta extrair RNA de amostras rochosas que se encontram a grandes profundidades em ambientes de serpentinização continental. Assim, este trabalho além de essencial para completar todo o conhecimento existente sobre a origem da vida é também inovador no que toca à técnica utilizada e em específico em locais com as características da área de estudo.

## 1.2. Estrutura da Dissertação

Esta dissertação está dividida em 9 capítulos:

O **capítulo 1** introduz o tema da dissertação, assim como os seus objetivos, fazendo uma breve descrição dos restantes capítulos.

O **capítulo 2** relata o estado de arte onde se inicia com uma breve explicação dos minerais argilosos, pormenorizando o subgrupo das serpentinas. De seguida inicia-se a abordagem sobre o processo hidrotermal de génese da mesma e a forma como esta pode levar à criação de compostos orgânicos. Por último é abordado o processo de serpentinização no planeta Marte, a deteção de compostos orgânicos neste e a importância de estudo de locais análogos.

O **capítulo 3** apresenta o enquadramento geográfico e geológico da área em estudo e aborda, especificamente, a área das termas da sulfúrea em cabeço de vide, local onde foram realizadas as sondagens e de onde provêm as amostras utilizadas no decorrer deste trabalho.

O **capítulo 4** descreve as amostras recolhidas explica de forma sucinta os métodos escolhidos e utilizados na análise, bem como as condições de operação dos mesmos.

No **capítulo 5** são apresentados os resultados obtidos da análise dos ensaios realizados e procede-se à realização da discussão dos mesmos. São apresentadas algumas considerações em relação a este trabalho, nomeadamente, a interpretação dos resultados mineralógicos que permite averiguar a composição mineralógica e o processo de serpentinização em Cabeço de Vide.

No **capítulo 6** é dado a conhecer trabalhos que se encontram a decorrer, nomeadamente,



as análises laboratoriais e ainda são sugeridos trabalhos futuros com vista a complementar este trabalho.

O **capítulo 7** refere algumas considerações finais.

Seguem-se as referências bibliográficas utilizadas na realização deste trabalho.

O documento termina com os anexos.

**(Página propositadamente em branco)**

## Capítulo 2: Estado de arte

### 2.1. Conceito de argila

O conceito de argila permite vários significados subjetivos e interpretativos em função da sua génese, das suas propriedades e aplicações (Mackenzie, 1957), não existindo assim um consenso aquando da definição do mesmo.

A definição que reúne a maior aceitação nas ciências da terra é a que a argila é um produto natural, terroso, constituído por componentes de grão muito fino ( $< 0,002$  mm) entre os quais se destacam os minerais argilosos (Velho, 2015).

Os minerais argilosos são constituídos principalmente por silicatos hidratados de alumínio, que pertencem à subclasse dos filossilicatos, sendo estes responsáveis por propriedades específicas deste material geológico, nomeadamente: plasticidade, endurecimento após secagem e cozedura, capacidade de troca iónica, capacidade de adsorção e absorção de elementos/compostos inorgânicos e orgânicos, e carga elétrica globalmente negativa (Gomes, 2002; Velde, 1992).

Os minerais argilosos são formados, fundamentalmente, pelos seguintes elementos químicos: oxigénio (O), silício (Si), alumínio (Al), hidrogénio (H), ferro (Fe), magnésio (Mg), cálcio (Ca), potássio (K) e sódio (Na), os quais no estado iónico se assemelham a pequenas esferas que se podem organizar em modelos estruturais tridimensionais (Gomes, 2002).

Os minerais argilosos são compostos por dois componentes modulares básicos: folhas de átomos tetraédricos coordenados (folhas tetraédricas) e folhas de átomos octaédricos coordenados (folhas octaédricas) (Brindley and Brown, 1980).

A folha tetraédrica é dominada pelo arranjo tridimensional dos átomos de silício e oxigénio. Esta disposição segue regras bem definidas determinadas pela natureza química e pela geometria dos próprios átomos.

- Ião silício ( $\text{Si}^{4+}$ ) – pequenas dimensões ( $r=0,39$  Å) - valência positiva = +4
- Ião oxigénio ( $\text{O}^{2-}$ ) – elevadas dimensões ( $r=1,32$  Å) - valência negativa = -2

Assim, forma-se o tetraedro  $\text{SiO}_4^{4-}$ , ou seja, um ião de sílica ( $\text{Si}^{4+}$ ) rodeado por quatro iões de oxigénio ( $\text{O}^{2-}$ ), situados nos vértices de um tetraedro.

De modo a neutralizar a sua carga os tetraedros podem formar arranjos de 3 maneiras distintas:

- Ligação a iões metálicos positivos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ );
- Partilha de átomos de oxigénio entre tetraedros adjacentes;
- Combinação dos mecanismos.

No caso dos minerais argilosos, estes tetraedros agrupam-se, constituindo redes planares de malha hexagonal, nas quais se verifica a relação  $\text{Si}:\text{O}=2:5$ , pelo que  $\text{Si}_2\text{O}_5$  é comum a todos os filossilicatos. Como resultante da ligação dos oxigénios basais fica uma estrutura em forma de rede hexagonal (Dana e Hurlbult, 1976).

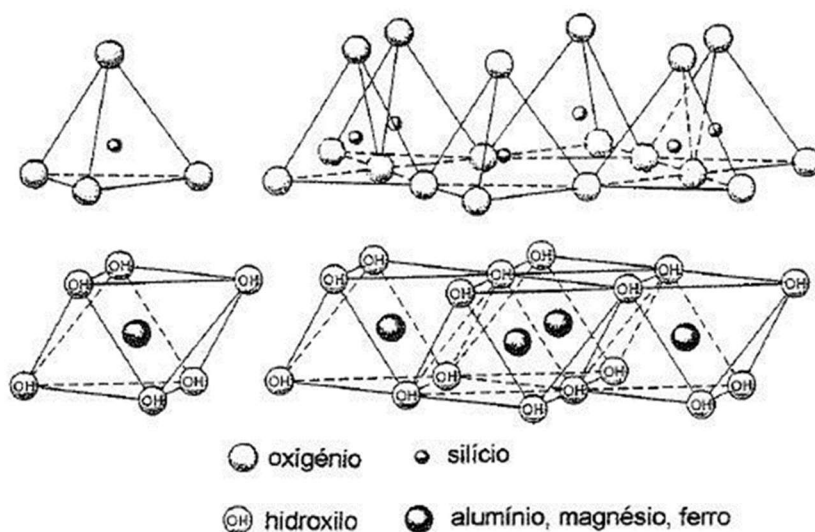


Figura 1|Estrutura do grupo aniônico  $\text{SiO}_4$ - folha Tetraédrica na parte superior; folha octaédrica na parte inferior. (Carvalho, 2005).

Segundo Gomes (2002) estas camadas de tetraedros unem-se a camadas de octaedros. As camadas de octaedros são unidades octaédricas, repetidas segundo 2 direções com 1 ião coordenador de  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  ao meio, constituindo um plano central, entre dois planos de oxigénios ( $\text{O}^{2-}$ ) ou oxidrilo ( $\text{OH}^-$ ), ou seja, rodeado por 6 iões (Figura 1).

A outra unidade estrutural comum aos filossilicatos é o “octaedro de gibsite”, teoricamente representado por um ião central de alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) rodeado de seis iões de

oxigénio, ocupando os respetivos vértices. Para alguns minerais, esta unidade octaédrica está centrada não por um  $Al^{3+}$ , mas sim por um  $Mg^{2+}$ , sendo denominado por “octaedro de brucite”. Os octaedros constituem outras redes, igualmente planares, suscetíveis de se unirem às anteriores (Grim, 1968).

Um mineral argiloso diz-se que tem estrutura dioctaédrica, quando  $2/3$  das unidades octaédricas estão centradas por catiões trivalentes, como o  $Al^{3+}$ , e trioctaédrica, quando essas unidades estão todas coordenadas por catiões bivalentes, como o  $Mg^{2+}$  (Harben e Kuzvart, 1996; Carvalho, 2005).

As unidades tetraédricas e as octaédricas constituem folhas estruturais, paralelas entre si, dispostas no plano 001, formando camadas estruturais, características dos diferentes grupos que integram os filossilicatos, que se repetem ao longo do plano 100, intervaladas por um espaço intercalar, denominadas por intercamadas, no qual se podem alojar grandes iões, como o  $K^+$ , iões hidratados e moléculas de água. Por unidade estrutural entende-se o conjunto de uma camada estrutural e do espaço intercalar que a separa da camada contígua, constituindo um motivo caracterizado por um dado parâmetro  $C_0$ , expresso em angstroms, que corresponde, à equidistância basal ( $d_{001}$ ). Assim, repetindo-se paralelamente a si próprio, dá corpo ao cristal de um qualquer filossilicato (Bailey, 1980).

Resumidamente, a estrutura dos filossilicatos é formada com base na combinação de apenas duas unidades estruturais – os tetraedros de sílica e os octaedros de alumínio ou de ferro e magnésio. Os minerais de argila podem conter outros catiões por troca ( $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ , entre outros) que se encontram estruturados em camadas paralelas ao plano basal, numa repetição equidistante de um dado motivo (característico de cada espécie) ao longo do eixo vertical (Christidis, 2011).

Os minerais de argila são constituídos por: unidades tetraédricas com um catião central de Si rodeado por  $O^{2-}$  ou  $OH^-$  e unidades octaédricas com catião central de  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ou  $Mg^{2+}$ , rodeado de  $OH^-$  ou  $O^{2-}$ . A expansão horizontal destas unidades dá origem a camadas: camada tetraédrica de sílica com os átomos de Si num plano intermédio; camada octaédrica de alumina, com átomos de  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ou  $Mg^{2+}$  no plano intermédio.

A sobreposição de várias unidades estruturais tetraédricas (T) e octaédricas (O) pode constituir dois tipos de camadas ou lâminas. Chama-se camada 1:1 aquelas que resultam da sobreposição de uma folha tetraédrica com uma folha octaédrica ou 2:1 aquelas que resultam da sobreposição de uma camada octaédrica com 2 camadas tetraédricas (Christidis, 2011). Segundo Gomes (1988), os três tipos estruturais básicos resultantes são: tipo 1:1, ou seja, T:O (grupo da caulinite-serpentina), tipo 2:1, ou seja, T:O:T (grupo da esmectite, micas/ilite e vermiculite) representados na Figura 2 e tipo 2:1:1, ou seja, T:O:T:O (grupo da clorite).

- Em cada camada e entre camadas, de cada lâmina ou folha existem ligações (intralamelares), de natureza covalente (muito fortes).
- Entre lâminas ou folha (interlamelares) existem ligações intermoleculares que podem ser de natureza eletrostática ou forças de Van der Waals.

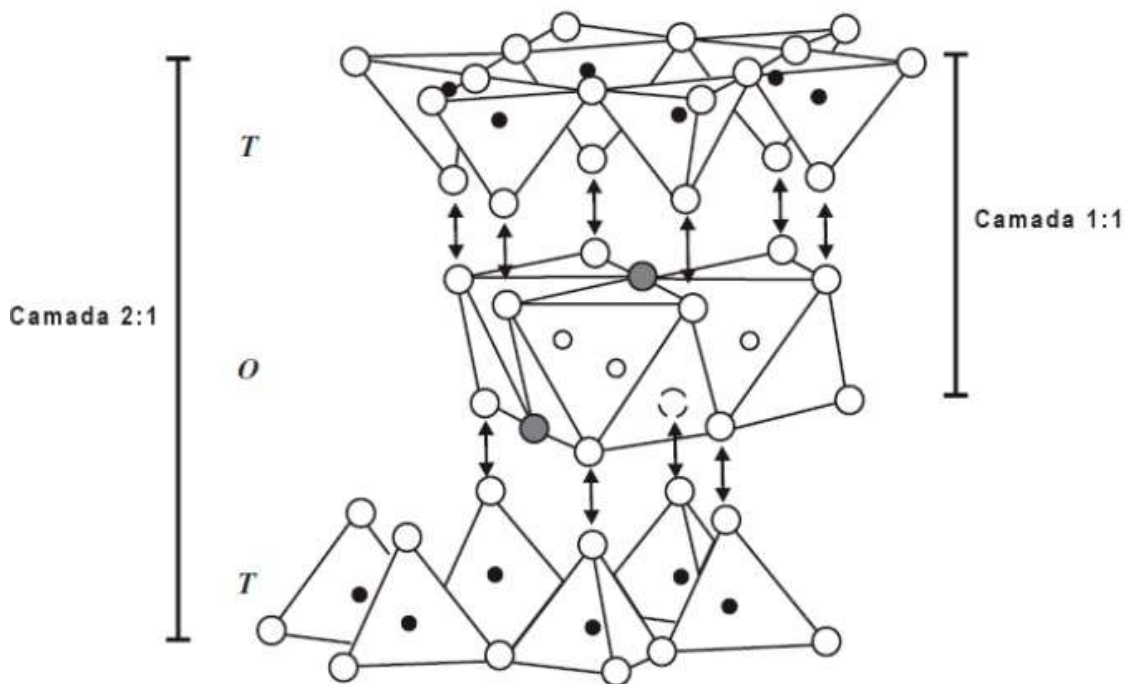


Figura 2|Formação das camadas 1:1 e 2:1, onde os círculos pretos são íões tetraédricos, os círculos brancos menores são íões octaédricos, os círculos brancos maiores são oxigénios e os círculos cinza são hidroxilos. Adaptado de Moore e Reynolds (1997).

As diferentes combinações permitem então definir grupos estruturais, cada um deles reunindo diversos minerais argilosos e não argilosos entre espécies e variedades que resultam de substituições iónicas. A maioria destas trocas provoca desequilíbrios na estrutura cristalina, que podem ser compensados por outras trocas.

Muitos minerais de argila apresentam substituições isomórficas (substituição dos catiões das unidades tetraédricas e/ou octaédricas, por outros de diâmetro aproximado) o que permite manter as mesmas dimensões, porém uma carga menor. Importante referir que, estas trocas são possíveis graças à semelhança de raios iônicos e de cargas elétricas dos respectivos iões, cargas que não devem diferir de mais de uma unidade, condições necessárias às substituições isomórficas.

As principais substituições são: o  $\text{Si}^{4+}$  pelo  $\text{Al}^{3+}$  nas camadas tetraédricas; o  $\text{Al}^{3+}$  pelo  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  nas camadas octaédricas. Estas substituições isomórficas originam um excesso de cargas negativas (cargas intrínsecas ou permanentes), (Gomes, 1988).

Segundo Goldman *et al.*, (1990) a forma como os átomos se ligam nas unidades tetraédricas e octaédricas, o arranjo das folhas em camadas e a organização das camadas e dos espaços intercamadas, determinam a existência de diferentes grupos e espécies de minerais argilosos.

Os minerais argilosos são eletronegativos tendo uma estrutura electrostaticamente desequilibrada, o que depende:

- Do excesso de carga negativas que se tornam cargas intrínsecas ou permanentes;
- Das ligações livres no rebordo dos cristais;
- Da dissociação dos hidrogénios dos oxidrilos existentes no rebordo dos cristais;
- Das substituições isomórficas: cada substituição faz aparecer na superfície da folha uma carga elétrica livre o que faz com que cada duas folhas fiquem fortemente unido por catiões, como por exemplo:  $\text{Si}^{4+} > \text{Al}^{3+}$ ;  $\text{Al}^{3+} > \text{Fe}^{2+}$ .

## 2.2. Génese dos minerais argilosos

Os minerais argilosos apresentam diversos ambientes propícios à sua formação. A natureza da rocha-mãe e o grau evolutivo da respetiva alteração física e química definem se os solos são mais ou menos ricos em argila. A alteração química é o grande contribuinte para a neoformação dos minerais argilosos (Gomes *et al.*, 1988; 2012).

Minerais como o quartzo, feldspatos, micas, anfíbolos e piroxenas, constituintes das rochas silicatadas da crosta terrestre, quando expostos à atmosfera tornam-se instáveis. A água que penetra nos poros, clivagens e microfraturas desses minerais dissolve os seus constituintes. A reorganização destes em solução, com participação de água, oxigénio, dióxido de carbono e iões dissolvidos permite a formação de minerais de argila e, conseqüentemente, de argilas que ficarão em equilíbrio nas condições atmosféricas (Gomes, 2002).

Deste modo, podemos resumir os processos de génese de minerais argilosos em:

- Neoformação – minerais argilosos que provêm da alteração física e/ou química de outros minerais argilosos pré-existentes;
- Herança – minerais argilosos que resultam da repartição, essencialmente física, de minerais argilosos pré-existentes, transportados desde o lugar inicial de formação para outro local onde foram depositados;
- Transformação – minerais argilosos que resultam de alterações físicas, químicas e mineralógicas de minerais pré-existentes.

### 2.3. Grupo da serpentina

Num mineral de argila, os elementos mais frequentes (oxigénio, silício, alumínio, ferro, magnésio, potássio e sódio), no estado iónico, assemelham-se a esferas que se arranjam tridimensionalmente. As combinações fazem-se segundo sete modelos distintos, o que, conseqüentemente, origina sete diferentes arranjos estruturais dos minerais de argila cristalinos, nomeadamente: caulinite-serpentina; talco-pirofilites; esmectites; vermiculites; micas - inclui micas hidratadas (ilite); paligorskite-sepiolite; clorites e interstratificados (Gomes, 1998).

Vários são os aspetos que contribuem para um arranjo tão diversificado dos elementos e conseqüentes grupos de minerais, nomeadamente:

- Combinação das camadas tetraédricas (T) e octaédricas(O): T-O ou T-O-T;
- Tipo de ligações entre as lâminas: fortes ou fracas, diferente natureza dos catiões de ligação:  $K^+$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , que resulta em diferentes valores de espaçamento basal – entre as bases de lâminas adjacentes;
- Existência ou não de substituições isomórficas com maior ou menor retenção de



catiões entre folhetos adjacentes;

- Natureza dos iões existentes no centro das unidades octaédricas.

Na realização deste trabalho, o grupo de minerais argilosos de maior interesse é o grupo das **serpentin**as.

Wicks & O'Hanley (1988) e O'Hanley (1996) definem o subgrupo da serpentina  $[Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4]$  como sendo constituído por filossilicatos compostos a partir da imbricação de estruturas laminares tetraédricas-octaédricas, do tipo 1:1, unidas por grupos hidroxilo. A unidade tri-octaédrica é caracterizada pela presença de brucite. Podem ocorrer substituições da Si pelo Al e  $Fe^{3+}$  na camada tetraédrica e do Mg pelo  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ , Cr, Al, Zn, Ni e Mn na camada octaédrica.

O subgrupo da serpentina é constituído por lizardite, antigorite e crisótilo. Os polimorfos de serpentina diferenciam-se pelo hábito, condições de formação e texturas. A **lizardite** é o mineral com uma estrutura mais simples, sendo definida pelo simples empilhamento de camadas laminares planares. Corresponde a uma variedade de baixa temperatura, inferiores a 300°C (Evans, 2004; Reynard, 2013). Por sua vez, a **antigorite** possui uma estrutura enrugada, com inversão regular das camadas ao longo de uma dada direção (Reynard, 2013), formando-se a altas temperaturas em torno dos 500 °C (Evans, 2004; Reynard, 2013). Já o **crisótilo** apresenta nanoestruturas cilíndricas (Yada, 1967 in Baronnet *et al.*, 2007). Este corresponde a uma fase mineral metastável, originada em ambientes de baixa pressão, com uma forte presença de água, em fases tardias de descompressão (Reynard, 2013). Além disso, existem variedades de serpentina com estrutura de tubos poligonais (Middleton & Whittaker, 1976; Baronnet & Devouard, 2005 in Baronnet *et al.*, 2007) e estruturas cónicas (Baronnet *et al.*, 2007; Yada & Iishi, 1977).

Tabela 1| Características dos principais minerais do grupo da serpentina (Moody, 1976).

Mineral	Fórmula química	Sistema
Crisótilo	$Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4$	Monoclínico
Lizardite	$Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4$	Trigonal e hexagonal
Antigorite	$Mg_3(Si_2O_5)(OH)_4$	Monoclínico

As serpentin

antigorite (Figura 3) são as que possuem hábito lamelar e maciço, para além de granulometria fina. Já a crisótilo, possui hábito fibroso (Figura 3) (Reynolds, 1980; Torrado *et al.*, 2006; Klein & Dutrow, 2012).

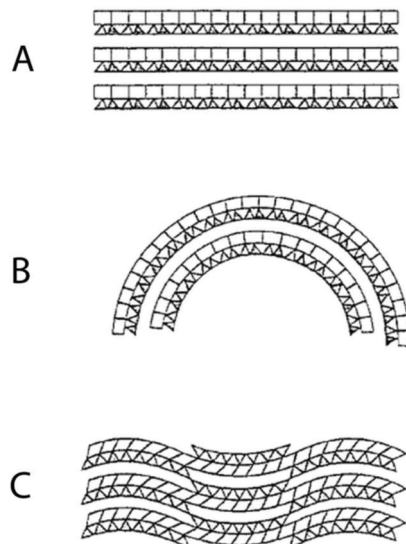


Figura 3|Esboço das estruturas cristalógraficas dos minerais de serpentina: A - lizardite, B - crisótilo; C - antigorite (retirado de Mével, 2003).

Serpentinitos são rochas metamórficas maioritariamente compostas por minerais de serpentina (lizardite, crisótilo e/ou antigorite), fazendo-se estes acompanhar de fases acessórias como brucite, magnetite, bem como silicatos de magnésio e cálcio-alumínio (O'Hanley, 1996). Por norma, os serpentinitos apresentam cores variantes do verde ao preto. Posto isto, esta é uma característica singular uma vez que normalmente as rochas que contêm quantidades significativas de minerais de argila apresentam tonalidades amareladas, avermelhadas ou até mesmo esbranquiçadas (Mével, 2003).

Segundo O'Hanley (1996), com o aumento ou a diminuição do grau da serpentinização, com a entrada e saída de iões e com o aumento da hidratação do sistema ultramáfico ou desidratação do serpentinito, ocorrem as reações de recristalização da lizardite para antigorite ou crisólito + antigorite, da lizardite para crisólito, do crisólito + brucite para lizardite e do crisólito + antigorite para lizardite.

Do ponto de vista textural, geralmente os minerais de argila apresentam grão de tamanho submicroscópico, sendo necessário, assim, o recurso à difração de raios-X ou microscopia eletrónica para a sua correta identificação (O'Hanley, 1996). As texturas de

serpentina observadas sob o microscópio de luz polarizada foram discutidas em detalhes por Wicks & Whittaker (1977) e O'Hanley (1996) e são divididas em três categorias: texturas pseudomórficas (preservam a textura presente no protófito), texturas não pseudomórficas (não preservam texturas) e texturas de transição (preservam algumas das texturas presentes no protólito).

Após a alteração da mineralização primária, a serpentina forma texturas pseudomórficas e, seguidamente à alteração de piroxenas e anfíoblas, talco e micas, forma-se o pseudomorfo de serpentina denominado de bastite (Figura 4A), o qual preserva a estrutura da mineralização precursora (Iyer, 2007). As bastites indicam-nos o comportamento do fluxo de fluido hidrotermal, por exemplo, se no interior da bastite existir pequenas quantidades de talco e clorite, o fluxo de fluido no sistema é restrito e o processo é controlado por difusão. Por outro lado, em áreas de alto fluxo de fluido, a serpentina de grão fino e o material amorfo de orientação aleatória são encontrados no interior do grão (Le Gleuher *et al.*, 1990; Viti *et al.*, 2005).

Segundo O'Hanley (1996), na alteração de olivinas as texturas pseudomórficas são descritas como texturas em malha ou ampulheta. Na textura em malha (Figura 4 B), a serpentina surge em alteração dos minerais de olivina sendo mais significativa no bordo do mineral (este pode, no entanto, apresentar fraturas preenchidas por serpentinas). Já na textura em ampulheta, os grãos de olivina são geralmente menores e não é possível distinguir serpentinas em alteração do bordo do preenchimento de fraturas.

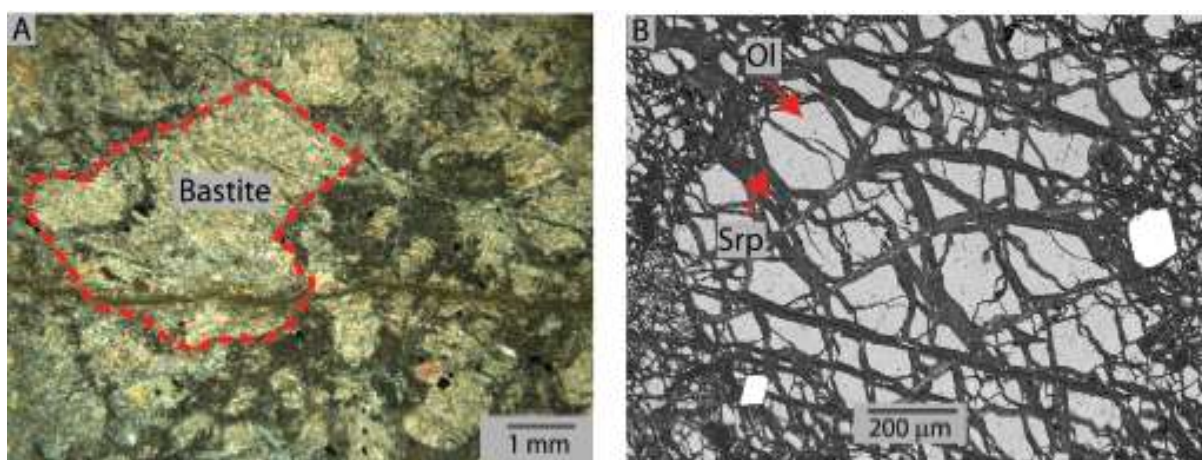


Figura 4| A- Fotomicrografia de uma bastite; B- Imagem de MEV de uma textura pseudomórfica em malha (retirado de Iyer, 2007).

O'Hanley (1996) descreveu, ainda, as texturas não pseudomórficas, dividindo-as em texturas intertravadas e texturas interpenetrantes. Nas texturas interpenetrantes, a serpentina consiste em lâminas alongadas de antigorite, que podem ser distinguidas opticamente (Figura 5). Já as texturas intertravadas dizem respeito a grãos equantes de serpentina e podem incluir antigorite, lizardite e/ou crisótilo.

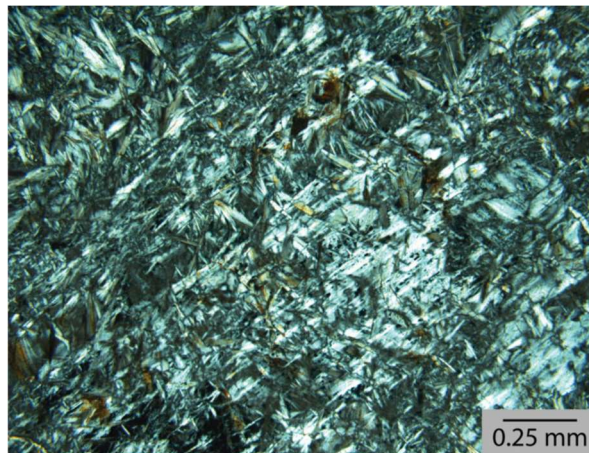


Figura 5|Fotomicrografia de uma textura interpenetrante não pseudomórfica em serpentinitas, consistindo em lâminas de antigorite opticamente distinguíveis (retirado de Iyer, 2007).

#### 2.4. Serpentinização

A serpentinização é um processo de alteração hidrotermal associado a rochas ultramáficas. Estas rochas são características de ambientes magmáticos e mantélicos, possuindo um teor máximo de 45% em  $\text{SiO}_2$ , mas grandes concentrações de Mg e Fe. Quanto à sua composição mineralógica, consoante o seu teor de olivina, as rochas dividem-se em dois grandes grupos: um com um teor inferior a 40% (piroxenitos) e outro em que essas rochas possuem um teor superior ao mencionado (peridotitos) (Holm *et al.*, 2015). Dentro destes grupos surgem, ainda, outras subclassificações como é possível observar na Figura 6.



Figura 6 | Classificação das rochas ultramáficas segundo Le Maitre (2002).

O serpentinito é o nome dado a uma rocha ultramáfica serpentinizada, onde a extensão da alteração e/ou a abundância dos minerais primários restantes não são diretamente definidas. Estes são compostos predominantemente por minerais do grupo das serpentinhas, como a lizardite, o crisótilo e a antigorite, associados com minerais acessórios de magnetite, brucite e silicatos de Mg e Ca-Al, dependendo dos parâmetros de pressão e temperatura (O’Hanley, 1996). As olivinas e as ortopiroxenas reagem rapidamente com os fluídos hidrotermais para formar minerais de serpentina. Durante a serpentinição a densidade da rocha é alterada e ocorre aumento de volume, o que facilita a evolução do serpentinito ao longo das estruturas tornando o serpentinito uma rocha extremamente fraturada e facilmente cisalhada (Moody, 1976; Sleep *et al.*, 2004; Smirnov *et al.*, 2008; Holm *et al.*, 2015).

Durante este processo, a oxidação do ferro (II) presente nas olivinas e nas piroxenas conduz à redução da água que, por sua vez, leva à formação de hidrogénio molecular ( $H_2$ ). Segundo Schulte *et al.*, (2006), a produção de  $H_2$  é um processo de desequilíbrio, onde uma ampla variedade de fatores (cinética de reação, reações superficiais, tempo, fluxo de fluidos, etc.) está continuamente a modificar a sua produção e o teor presente nos fluidos hidrotermais (aqui, a mineralogia desempenha, também, um papel importante). Geralmente, minerais primários ricos em Fe (exemplo: faialite) são mais favoráveis à oxidação do  $Fe^{2+}$  e, assim sendo à formação de  $H_2$  (Oze & Sharma, 2007; Klein *et al.*, 2013; Sleep *et al.*, 2004).

Em suma, o processo de serpentinização é mais eficiente em rochas fraturadas, visto que estas permitem a rápida percolação de água e podendo ocorrer a temperaturas inferiores a 315°C, formando minerais do grupo da serpentina, óxidos de ferro e H<sub>2</sub>. (Moody, 1976; Kelemen e Hirth, 2012; Holm *et al.*, 2015).

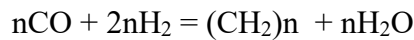
Uma consequência da serpentinização e da formação de H<sub>2</sub> é o aumento dos valores de pH dos fluidos relacionados (tipicamente > 9), causado pelo consumo de prótons e pelo aumento relativo de OH<sup>-</sup> livre que conduz à alteração de carbonatos (Mottl *et al.*, 2003; Okland *et al.*, 2012; Neubeck *et al.*, 2014). A reação do ambiente, rico em H<sub>2</sub> com CO<sub>2</sub>, proveniente da alteração de carbonatos ou da atmosfera, com os óxidos de ferro e níquel a atuarem como catalisadores, através de reações de síntese do tipo Fischer-Tropsch, conduzem à formação de metano abiótico (CH<sub>4</sub>) (Nooner *et al.*, 1976; Sleep *et al.*, 2004; Etiope and Sherwood Lollar, 2013).

## 2.5. Síntese do tipo Fischer-Tropsch

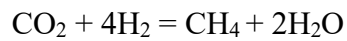
Segundo Holm e Andersson (1998), a produção de H<sub>2</sub> é um passo essencial para o avanço da síntese abiótica de compostos orgânicos. No entanto, o processo de serpentinização por si só não os produz, isto é, a formação destes só é possível com a combinação de outros mecanismos geoquímicos, como os processos de síntese do tipo Fischer-Tropsch. O CO (óxido de carbono) é de particular interesse porque representa um reagente-chave durante a síntese abiótica de compostos de carbono, estes sintetizados do Tipo Fischer-Tropsch.

As reações do tipo Fischer-Tropsch são únicas entre os processos orgânicos abióticos por fornecerem uma fonte de moléculas lineares. Este tipo de reações é fundamental num contexto pré-biótico, uma vez que, por exemplo, ácidos graxos lineares são essenciais para a formação das membranas bilipídicas presentes nas paredes celulares (Ferris, 1992). A Criação de compostos orgânicos por meio de reações do tipo Fischer-Tropsch é possível se o H<sub>2</sub> já se encontrar no sistema (Holm e Neubeck, 2009). Resumidamente, a síntese do tipo Fischer-Tropsch refere-se amplamente ao consumo de CO e/ou CO<sub>2</sub> e à produção de CH<sub>4</sub> e hidrocarbonetos de cadeia mais longa, conforme

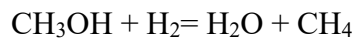
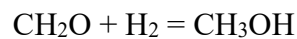
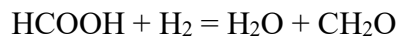
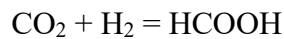
demonstrado nas reações abaixo:



Metano formado a partir da redução direta de  $\text{CO}_2$  é uma reação específica do tipo Fischer-Tropsch conhecida como o processo de Sabatier (Anderson, 1984; Schulz, 1999), descrito pela reação seguinte:



As reações entre compostos de um único carbono no sistema C-H-O limitam-se à formação de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ , ácido fórmico ( $\text{HCOOH}$ ), formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) e metano ( $\text{CH}_4$ ), através das seguintes reações (Seewald *et al.*, 2006).



A componente inorgânica, bem como este tipo de reações têm sido amplamente estudadas para tentar explicar a origem da vida, a aparição dos primeiros ecossistemas e a síntese dos primeiros compostos orgânicos (Preiner *et al.*, 2018).

Sumariamente, o processo de serpentinização e as reações de síntese do tipo Fischer-Tropsch podem ser descritas através do esquema apresentado na Figura 7.



Figura 7|Processo de serpentinização e reação de Fischer-Tropsch.

## 2.6. Marte

Marte assemelha-se à Terra, com uma evolução geológica com centenas de milhões de anos marcada por água superficial. Análises orbitais de gravidade, a topografia e a missão InSight da NASA, dedicada ao estudo da geofísica marciana (Banerdt *et al.*, 2013), apontam para que Marte possua uma crosta de baixa densidade, com espessura entre 35 e 50 km, sobrejacente a um manto mais denso (Zuber *et al.*, 2000; Genova *et al.*, 2016). Medições do seu campo magnético residual apontam ainda para a existência de proporções intrusivas de rochas plutônicas na crosta marciana (Lillis *et al.*, 2009, 2015; Black & Manga, 2016; Johnson *et al.*, 2020). A ausência de tectónica de placas e a atual crosta única e espessa de Marte sugerem que a disponibilidade de água no manto ultramáfico seja dificultada face ao que acontece na Terra (Zuber *et al.*, 2000; Breuer & Spohn, 2003; Connerney *et al.*, 2005; Volk *et al.*, 2021).

Nos dias de hoje, a serpentinização existente em Marte está concentrada em regiões onde a água líquida entra em contacto com minerais máficos nominalmente anidros e onde exista calor suficiente para impulsionar a reação em direção à formação de minerais de serpentina ao invés de argilas esmectíticas (Vance & Melwani Daswani, 2020).

Os minerais máficos fundamentais para o processo de serpentinização, tais como as olivinas e piroxenas, encontram-se espalhados pela crosta de Marte (Taylor, 2013). No entanto, a água no estado líquido necessária para a serpentinização limita os possíveis locais de serpentinização ativa a porções mais profundas da crosta, ou onde a água é capaz de infiltrar no interior e reagir com as rochas do manto ultramáfico (Goudge *et al.*, 2015).

Evidências sólidas de serpentinização em Marte são encontradas no grupo nakhlito de meteoritos marcianos (Nyquist *et al.*, 2001). Isto impulsionou um maior interesse no estudo de serpentininas em Marte. Estas foram identificadas através de análises orbitais em múltiplas localizações de Marte, com grande ocorrência associada a crateras de impacto, como é o caso da cratera de Jezero na região de Nili Fossae (Ehlmann *et al.*, 2010; Bultel *et al.*, 2015). O calor proveniente de impactos pode ter levado à circulação de fluídos hidrotermais (Schwenzer & Kring, 2013). No entanto, os afloramentos com maiores extensões estão associados a regiões marcianas mais antigas, isto é, com mais de



3,7 bilhões de anos (Ehlmann *et al.*, 2010; Amador *et al.*, 2018). Afloramentos com associações de serpentinas e carbonatos podem ser observados em Marte na região de Nili Fossae (Viviano *et al.*, 2013).

Na região de Nili Fossae identifica-se de forma clara materiais que contêm serpentinas, carbonato de magnésio, talco e saponite (Amador *et al.*, 2018; Brown *et al.*, 2020). No que toca a ambientes possivelmente habitáveis em Marte, Nili Fossae apresenta algumas das evidências mais claras de já ter tido atividade aquosa substancial sob temperaturas relativamente baixas (Amador *et al.*, 2018; Dehouck *et al.*, 2019).

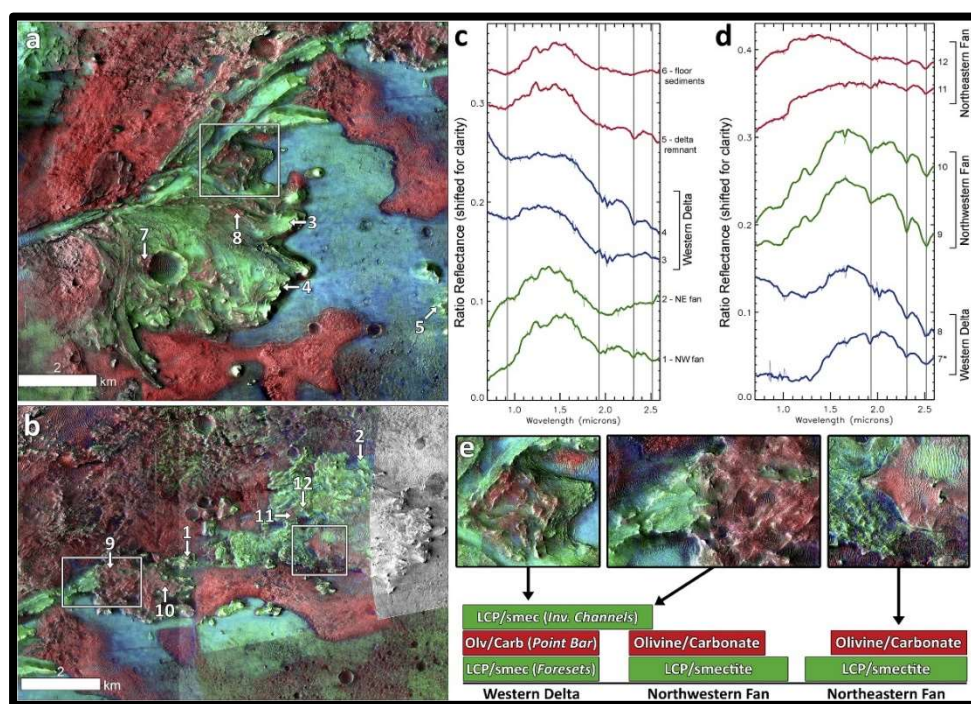


Figura 8 | Mineralogical Association of Jazero Crater, Mars. (Horgan *et al.*, 2020).

Assim, com todos estes achados encontram-se reunidas todas as condições da existência de serpentização e de possíveis reações de síntese Fisher-Tropsch em Marte. A possibilidade da existência deste processo de alteração na cratera de Jezero encontra-se apoiada pela evidência de que os carbonatos presentes na mesma são formados por processos de alteração hidrotermal (Brown *et al.*, 2020; Stack *et al.*, 2020). Em resposta a estas evidências vários “rovers” foram enviados para Marte; no entanto, o “rover” Mars 2020 Perseverance é o primeiro que possui a capacidade de armazenar as amostras que serão, posteriormente, enviadas para o planeta Terra (Williams *et al.*, 2023).

No dia 18 de fevereiro de 2021, o rover Perseverance da NASA pousou no solo da cratera Jezero (Mangold *et al.*, 2021). Os depósitos ocidentais do delta foram os primeiros a ser analisados. Os carbonatos de Fe/Mg encontrados nesta zona apresentam um elevado potencial de preservar bioassinaturas, incluindo aqueles de origem textural, química e/ou isotópica (Hays *et al.*, 2017; Núñez *et al.*, 2023). Essas áreas podem representar gradientes de redox antigos e, portanto, podem ser locais de preservação aprimorada de matéria orgânica (Broz *et al.*, 2023). Além disso, fases de alteração, incluindo filossilicatos de Fe/Mg possuem também capacidade de preservação da componente orgânica (Steele *et al.*, 2023).

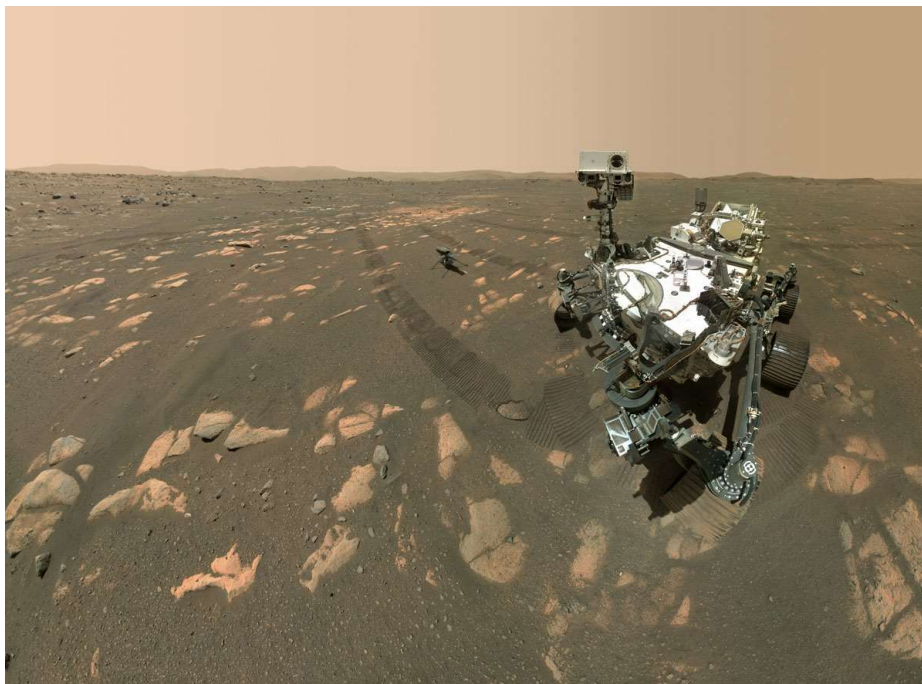


Figura 9 | Rover Mars2020 Perseverance da NASA (Créditos NASA/JPL-Caltech/MSSS).

O rover Mars2020 Perseverance está atualmente a percorrer a antiga região deltaica perto da borda da cratera Jezero, onde minerais de serpentina foram observados. (Comellas *et al.*, 2023). Até ao momento o Perseverance já recolheu 8 amostras (Simon *et al.*, 2023). Estas amostras estão a ser armazenadas no rover e haverá uma missão futura para a recolha das mesmas para a Terra como parte do Programa de Retorno de Amostras de Marte. As mesmas serão estudadas para abordar questões científicas de alta prioridade propostas pela comunidade científica focada em Marte (iMOST, 2018). Segundo Comellas *et al.* (2023) o estudo detalhado de ambientes de serpentinização terrestre continuam a ser de extrema importância para a criação de padrões para comparação com os dados obtidos em Marte de modo a melhorar as conclusões obtidas através dos

instrumentos de análise do rover Perseverance.

A presença de compostos orgânicos em Marte foi primeiramente constatada em meteoritos com suposta origem em Marte. Várias missões em Marte relataram a presença destes compostos, nomeadamente, a missão Viking em 1976 e o “rover” Curiosity, sendo que este último encontra-se, no momento da redação deste trabalho, a analisar a cratera de Gale em Marte (Szopa *et al.*, 2020; Freissinet *et al.*, 2015; Millan *et al.*, 2019; 2022; Steele *et al.*, 2023). Num trabalho mais recente desenvolvido por Sharma *et al.*, (2023) aos autores concluíram que o “rover” Perseverance já recolheu amostras com a presença confirmada de compostos orgânicos associados aos minerais de alteração hidrotermal no chão da cratera de Jezero em Marte. A futura missão de recolha das amostras e o transporte das mesmas até ao planeta Terra vai permitir, pela primeira vez, a confirmação da origem orgânica e a identificação específica dessas moléculas através de análises laboratoriais. Assim sendo, é imprescindível aguardar pela futura missão da NASA para que estas amostras cheguem ao planeta Terra permitindo a análise das mesmas com recurso a toda a tecnologia acessível.

**(Página propositadamente em branco)**

## Capítulo3: Enquadramento da área de estudo

### 3.1. Cabeço de Vide

#### 3.1.1 Enquadramento geográfico



Figura 10|Enquadramento geográfico da área de estudo.  
(Fonte: Carta Administrativa Oficial de Portugal CAOP 2013).

Cabeço de Vide é uma freguesia portuguesa do município de Fronteira, no centro de Portugal, na região do Alentejo, a cerca de 200 km a leste de Lisboa. Faz parte do distrito de Portalegre, ocupando uma área de 65,81 km<sup>2</sup> e possuindo cerca de 928 habitantes, segundo o Instituto Nacional de Estatística.

Cabeço de Vide encontra-se numa região com colinas suaves, paisagens naturais e um clima mediterrâneo. A sua localização geográfica contribui para a presença de características culturais, históricas e geográficas, evidenciando-se ainda mais o tão conhecido e preservado património arquitetónico, a produção agrícola e um ambiente tranquilo (Moita, 2019).

O ponto turístico de maior interesse na freguesia em causa são as Termas da Surfúrea (Figura 11), onde é dada a conhecer a sua utilização, para fins terapêuticos. Por

curiosidade, estes surgiram no império de César Augusto, em 119 a.c., altura em que nessa mesma localidade se atravessava uma estrada subsidiária da importante via militar que ligava Lisboa a Mérida.

A água das Termas da Sulfúrea apresenta valor de pH na ordem de 11,5 a 12,0, quimicamente do tipo cloretada, oxidrilada e sulfidrada sódica (Portugal Ferreira *et al.*, 1990). As águas sulfurosas destas termas são utilizadas para banhos termais e tratamentos de saúde e bem-estar, devido aos seus potenciais benefícios para a pele, músculos e articulações.



Figura 11 | Termas da sulfúrea, Cabeço de Vide.  
Créditos: Portuguese\_eyes/Vitor Oliveira.

### 3.1.2. Enquadramento geológico

Do ponto de vista Geológico, a área de estudo insere-se no Complexo Ígneo de Alter do Chão, situado a Norte e a Este da povoação de Cabeço de Vide (Gonçalves, 1973). Localiza-se, também, no Maciço Ibérico, na zona de Ossa Morena, mais especificamente no setor de Alter do Chão-Elvas, perto do contacto com o setor de Estremoz-Barrancos.

O domínio de Alter do Chão – Elvas é limitado a Norte pelo cavalgamento de Alter do Chão, vergente para SW, e, a sul, pelo carreamento da Juromenha. A estrutura consiste essencialmente numa antiforma em que o núcleo é ocupado por rochas do

Proterozóico superior, afetadas por metamorfismo. O flanco NE é cavalgado pelas unidades da faixa blastomilonítica, enquanto o flanco SW, constituído por materiais paleozóicos, evidencia uma tectónica de mantos e dobras, com vergência para SW (Chacón *et al.*, 1983). O metamorfismo é, em geral, de baixo grau, embora localmente possam ocorrer pequenos domos térmicos onde se atingem condições da fácies anfibolítica (Portugal Ferreira *et al.*, 1990).

O Complexo Ígneo de Alter do Chão, bem como outros corpos de natureza básica espalhados pela zona de Ossa Morena e a sua génese são, possivelmente, resultantes da atividade magmática atribuída à Orogenia Varisca (Tornos *et al.*, 2004). Este complexo orienta-se NW-SE e tem aproximadamente 14 km de comprimento e encontra-se, ainda, dividido em dois campos intrusivos distintos. A cartografia seguidamente apresentada trata do domínio abrangente situado a SE, de carácter básico a ultrabásico, com cerca de 22km<sup>2</sup> de área (Pinto *et al.*, 2006).

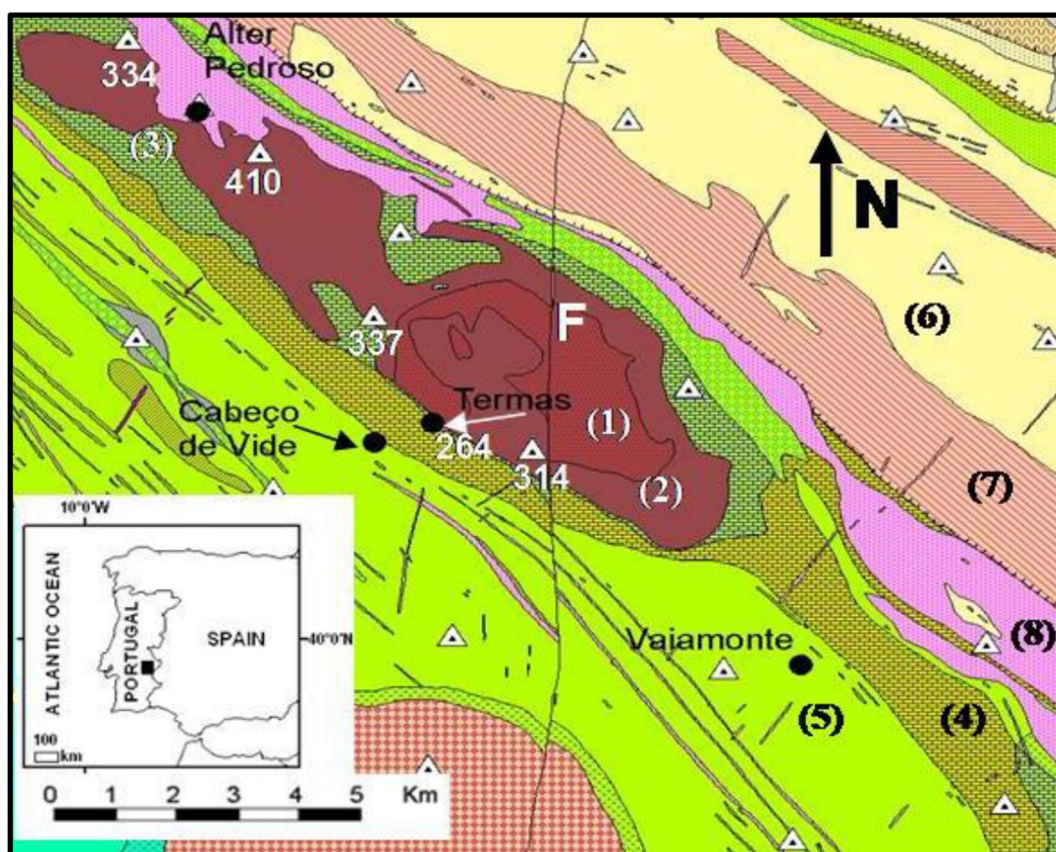


Figura 12|Mapa geológico de Cabeço de Vide

(1) Rochas ultramáficas serpentinizadas; (2) Rochas máficas e ultramáficas; (3) Corneanas; (4) Rochas carbonatadas, com evidências de metamorfismo de contacto; (5) Rochas de idade Câmbrica: xistos, quartzitos e grauvaques; (6) Rochas Pré-Câmblicas: Xistos e Metagrauvaques; (7) Ortogneisses e (8) associações de ortogneisses e sienitos Hiperálclicos. (F) representa a principal falha regional de tendência NNE-SSW.

Fonte: Adaptado de Marques *et al.*, 2008 em Rocha *et al.*, 2017.

As Termas da Sulfúrea, localizadas no mapa com o termo “termas”, encontram-se no Cabeço de contacto intrusivo entre as rochas máficas/ ultramáficas de idade ordovícica e a unidade Carbonatada datada do câmbrio. As termas estão também, associadas à principal falha regional de direção NNE-SSW (assinalada no mapa com a letra F).

Tudo indica que tenham existido dois episódios intrusivos em Cabeço de Vide: um predominantemente ultrabásico e outro, mais tardio, de natureza gabróica (Pinto *et al.*, 2003). As rochas máficas variam de dunitos parcialmente serpentinizados a serpentinitos. Por curiosidade, a composição dos serpentinitos é maioritariamente minerais de serpentina (lizardite, antigorite e crisótilo), plagioclases, magnetite e cromite residual, além de brucite e carbonatos (Rocha *et al.*, 2017).

Os serpentinitos representam litologias que, apesar de fortemente alteradas, teriam sido originalmente constituídas, quase exclusivamente, por olivina (dunitos). Existem outras fácies, no entanto, o grau de alteração e a meteorização tornam difícil a determinação das proporções mineralógicas originais. Os serpentinitos podem, ainda, conter esmectites provenientes da alteração das plagioclases, bem como vestígios de piroxenas. Apesar das piroxenas serem relativamente mais resistentes à alteração, os seus produtos de alteração são os que ocorrem maioritariamente, designadamente actinolite e clorites/ esmectites magnesianas (Costa *et al.*, 1993). O último mineral primário a ser alterado é a flogopite uma vez que a lizarditização desta mica envolve o consumo de grandes quantidades de Mg e H<sub>2</sub>O para a remoção do Al e K da mesma. Processos de alteração posteriores à serpentinação podem induzir um aumento no tamanho dos grãos e o acúmulo de flogopite em certas zonas, bem como transformações de flogopite-vermiculite e vermiculite em locais específicos (Sharp *et al.*, 1990; Yalçin & Bozkaya, 2016).

Graças à presença excessiva de antigorite, os serpentinitos, nas ocorrências mais alteradas, apresentam-se esbranquiçados. As rochas peridotíticas contêm olivina, piroxenas e, quase sempre, alguma plagioclase (fortemente alterada por zeólitos). Encontram-se na maior parte das vezes serpentinizadas e/ou evidenciam uma forte cloritização das piroxenas e uma intensa alteração das olivinas para magnetite e



serpentina (Pinto *et al.*, 2006). É, ainda, possível observar sulfuretos magmáticos em amostras de mão.

Por análise petrográfica dos peridotitos, foram identificadas maioritariamente, fácies lherzolíticas e wherlíticas (Dias & Leonel Gomes, 2005).

As litologias gabróicas não sofreram um grau de metamorfismo tão intenso como o exibido pelas rochas ultrabásicas (Pinto *et al.*, 2006). Curiosamente, estas apresentam essencialmente plagioclases cálcicas, olivinas e algumas hornoblendas (Costa *et al.*, 1993).

É possível, ainda, observar outras formações geológicas distintas, sendo as mais representativas: Rochas metamórficas pré-câmblicas (xistos e xistos e grauvaques), xistos cloritizados câmblicos, quartzitos, grauvaques, ortognaisses datados de  $466 \pm 10$  Ma bem como alguns sienitos hipercalinos (Rocha *et al.*, 2017).

Segundo Pinto *et al.*, 2006, do ponto de vista estrutural, as superfícies metamórficas regionais (NW – SE) apresentam xistosidade (N60°W/70°NE) e foliação serpentínica (N74°E/62°SE a N68°W/75°NE). O bandado observado nos calcários N40°W/60°NE acompanha algumas destas estruturas.

Nas sondagens realizadas para a captação de água das termas da sulfúrea, analisadas no decorrer deste trabalho (AC1 e AC2), apenas estão presentes a litologia carbonatada e as rochas ultramáficas serpentinizadas. Segundo (Ribeiro da Costa & Barriga, 2022), a transição das rochas carbonatadas para as rochas ultramáficas serpentinizadas, na sondagem AC2, ocorre por volta dos 30 m de profundidade. No entanto, no furo AC1, a mesma transição só ocorre aproximadamente a 180 m de profundidade.

**(Página propositadamente em branco)**

## Capítulo 4: Materiais e métodos

### 4.1. Amostragem

Com vista a concretizar os objetivos deste trabalho, foram selecionadas inicialmente dezanove amostras de rochas ultramáficas da sondagem AC2 (Tabela 2), com profundidades compreendidas entre 30 e os 124 metros. Para complementar o estudo foram, também, recolhidas três amostras de rochas carbonatadas da sondagem AC1 (Tabela 3), com profundidades compreendidas entre os 94 e os 171 metros.

É importante notar que a numeração atribuída a cada amostra corresponde sempre à profundidade da mesma. No decorrer dos trabalhos foram adicionadas duas amostras: 44,20 e 81,65, em que a primeira (44,20), ao ser a última a ser adicionada, não teve oportunidade de realização da amostragem parcial. Da mesma amostra 96,10, proveniente da sondagem AC2, foram recolhidas duas amostras com características distintas, designadas por 96, 10 (1) e 96, 10 (2) visto tratar-se da mesma profundidade em ambas.

Logo à partida foram selecionadas quatro amostras (da sondagem AC2 as amostras 119,45 e 121,40 e da sondagem AC1 as amostras 146,00 e 171,20) para a tentativa de extração de 16s RNA de modo a que as mesmas permanecessem o mais estéreis possível, tendo passado pelo resto dos ensaios apenas no final das recolhas em ambiente estéril.

Para a microscopia de fluorescência de luz UV foram selecionadas as três amostras para realizar lâminas delgadas que seriam posteriormente analisadas na Faculdade de Ciências do Porto com a orientação da Professora Dra. Deolinda Flores.

Em seguida são apresentadas duas tabelas (Tabela 1, Tabela 2) com a totalidade das amostras e os ensaios à qual cada amostra foi submetida. Para a amostragem da fração total, uma porção de aproximadamente 50 g da amostra foi desfragmentada e moída. Seguidamente, na amostragem pontual, com o recurso a uma fresadora, com o auxílio de uma ponta abrasiva de diamante sintético, foi recolhida amostragem de diferentes partes das amostras. Nesta fase foram separados os minerais mais escuros, normalmente na matriz, com a designação B, e os minerais mais claros, os quais normalmente se apresentam no preenchimento de fraturas, com a designação W. Tal é observável, por exemplo, na amostra 121,00 apresentada na Figura 15. Existe apenas uma exceção que é

o caso da amostras 171,20 da sondagem AC1 que devido as suas características singulares que apresenta um domínio esverdeado com veios avermelhados os mesmos foram amostrados em separado com a designação G e R respetivamente.

Tabela 2|Amostras recolhidas da sondagem AC2 e respetivas análises.

AC2	DRX Total	DRX Parcial	FRX Total	FRX Parcial	MFUV	MP	16S rRNA	MEV
30,05	X	X	X	X				X
35,10	X	X	X	X				
44,20	X	X	X	X			X	
51,10	X	X	X	X				X
58,55	X	X	X	X				
60,60	X	X	X	X				X
62,80	X	X	X	X				
65,95	X	X	X	X			X	
67,05	X	X	X	X				
71,00	X	X	X	X				X
81,65	X	X	X	X				X
86,10	X	X	X	X	X	X		X
93,35	X	X	X	X				
96,10(1)	X	X	X	X	X	X		X
96,10(2)	X	X	X	X				X
101,15	X	X	X	X				
105,85	X	X	X	X				
117,05	X	X	X	X				
119,45	X		X				X	
121,40	X		X				X	
124,00	X	X	X	X				X

Tabela 3|Amostras recolhidas da sondagem AC1 e respetivas análises.

AC1	DRX Total	DRX Parcial	FRX Total	FRX Parcial	MFUV	MP	16S rRNA	MEV
94,25	X	X	X	X	X	X		
146,00	X		X				X	X
171,20		X		X			X	X

Em seguida, encontram-se as fotos das amostras recolhidas (Figura 13, Figura 14, Figura 15, Figura 16, Figura 17, Figura 18, Figura 19, Figura 20).



Figura 13||AC1:146,00;171,20; 94,25, respetivamente.



Figura 14|AC2: 62,80; 60,60; 58,55, respetivamente.



Figura 15|AC2: 121,4; 124,00; 117,05, respetivamente.



Figura 16|AC2: 105,85; 101,15, respetivamente.



Figura 17|AC2: 71,00; 96,10; 65,95, respetivamente.



Figura 18|AC2:96,10;93,35;119,45, respetivamente.



Figura 19|AC2: 51,11; 67,05;81,65, respetivamente.

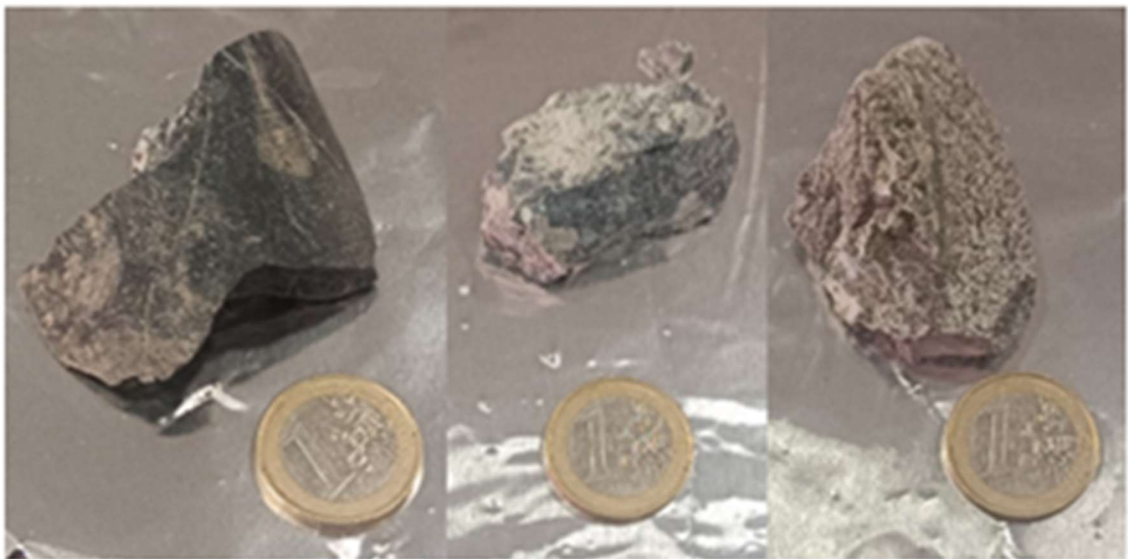


Figura 20|AC2: 44,20;35,10;30,05, respetivamente.

## 4.2. Difração de Raios X

Os Raios-X foram descobertos em 1895 pelo físico alemão W. K. Roentgen. Trata-se de radiações eletromagnéticas cujos comprimentos de onda são cerca de 1000 vezes menores que os comprimentos de onda de luz visível, sendo daí que resultam as grandes diferenças nas propriedades dos dois tipos de radiações (Thorez, 1976).

A difração de Raios-X (DRX) representa o fenómeno de interação entre o feixe dos raios-X incidente e os eletrões dos átomos constituintes de um material, relacionado ao espalhamento coerente. Por curiosidade, a DRX é o método analítico mais utilizado na quantificação dos minerais argilosos, visto que fornece informações detalhadas quanto à qualificação, caracterização e quantificação dos minerais presentes na argila (Gomes, 1988).

A técnica consiste na incidência da radiação numa amostra e na deteção dos fotões difratados, que constituem o feixe difratado. Num material cujos átomos estejam arranjados periodicamente no espaço, como é o caso das estruturas cristalinas, o fenómeno da difração de raios-X ocorre nas direções de espalhamento difusão que satisfazem a Lei de Bragg (Figura 22).

Admitindo-se que um feixe monocromático de determinado comprimento de onda ( $\lambda$ ) incide sobre um cristal a um ângulo  $\Theta$ , chamado ângulo de Bragg, tem-se:

$$n \lambda = 2 d \operatorname{sen} \theta$$

Figura 21 | Equação da lei de Bragg

Onde  $\Theta$  corresponde ao ângulo medido entre o feixe incidente e determinados planos do cristal, “d” é a distância entre os planos de átomos e “n” a ordem de difração (Figura 21).

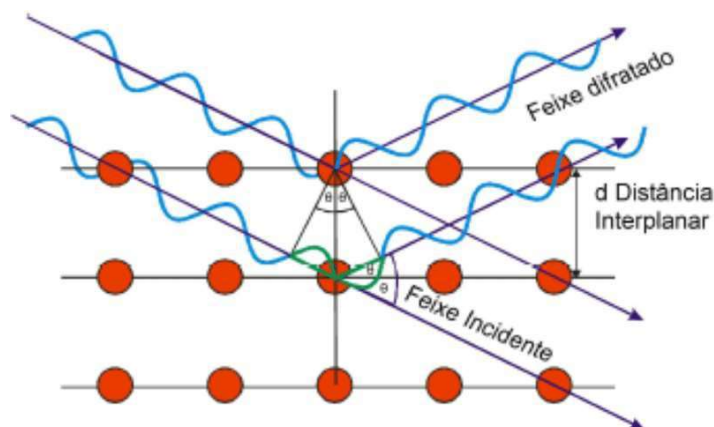


Figura 22|Esquema ilustrativo do fenômeno de difração de raio-X (lei de Bragg).  
 Fonte: Campos Júnior, (2014).

As redes cristalinas atuam como redes de difração de raios-X, dado que os comprimentos de onda destes raios-X são da mesma ordem de grandeza das distâncias interatómicas. Tendo em conta que cada espécie mineral corresponde a uma estrutura cristalina específica, então cada espécie mineral tem um modelo de difração específico. (Gomes, 1979).

Neste método utiliza-se um detetor muito sensível aos raios-X para receber a radiação difratada. Os difratogramas traduzem diretamente a intensidade das riscas de difração, os picos, em função do ângulo de difração  $2\theta$ . Nos programas de medida, feitos pelo utilizador, são definidos os parâmetros instrumentais e condições de medida, tais como o ângulo  $2\theta$  inicial e o final do varrimento, o comprimento de onda da radiação, a seleção da altura de impulsos, o tipo de varrimento (contínuo ou passo a passo), a velocidade de varrimento, a constante de tempo, a escala de registo e a velocidade do papel de registo (Thorez, 1976).

As intensidades obtidas em ângulos  $2\theta$ , representadas através dos picos nos difratogramas, correspondem à difração do feixe incidente por um determinado conjunto de planos do cristal, os quais possuem a mesma distância interplanar e cada qual com índices de Miller hkl (reflexões hkl).

Padrão diafanométrico corresponde a uma coleção de perfis de reflexões (difrações) individuais ou picos difratados, cada qual com a sua altura, área integrada, posição angular, largura e caudas (que decaem gradualmente à medida que se distanciam



da posição de altura máxima do pico). A intensidade integrada é proporcional à intensidade de Bragg, isto é,  $I_{hkl}$ .

Em suma, as informações obtidas de cada pico são a intensidade, a posição angular ( $2\theta$ ) ou a distância interplanar ( $d$ ) e o perfil. Cada composto cristalino apresenta um padrão difratométrico característico, permitindo a sua identificação através das posições angulares e intensidades relativas dos picos difratados.

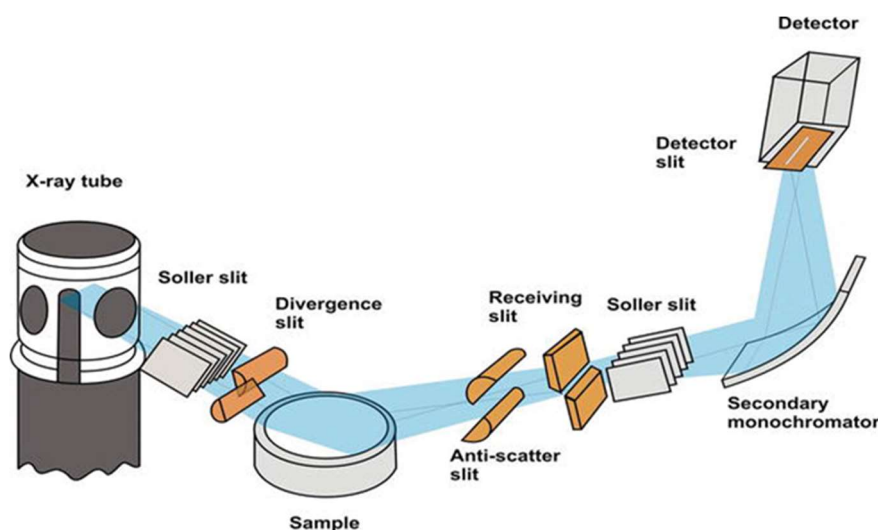


Figura 23 | Modelo do funcionamento da DRX (retirado de Igwebike-Ossi, 2017).

No decorrer deste trabalho foram realizados dois tipos de análises (análise dos agregados não orientados e agregados orientados). Todas as amostras passaram pela análise dos agregados não orientados, recorrendo-se apenas à análise dos agregados orientados para despistar qualquer dúvida na análise dos minerais argilosos.

Os agregados dizem-se “não orientados” uma vez que a preparação é feita em meio seco, não oferecendo tempo nem meio para os cristais se orientarem. Desta forma, a orientação preferencial dos cristais é neutralizada, obtendo-se, assim, as reflexões ( $hkl$ ).

A análise dos agregados orientados é feita através da elaboração de lâminas da suspensão da fração  $<2 \mu m$ , obtida através de separação granulométrica por sedimentação em meio húmido, ficando a amostra enriquecida nos minerais argilosos. Este processo permite reduzir significativamente a abundância de alguns minerais (feldspato,

moscovite, quartzo, entre outros), frequentemente associados a minerais argilosos cuja presença dificulta a análise dos dados de DRX.

Ao contrário dos agregados não orientados, neste tipo de análise recorre-se a um meio líquido e o tempo que demora a secar vai possibilitar as partículas de se assentarem segundo a sua orientação preferencial, obtendo-se preferencialmente as reflexões (001).

Após estarem secas, as lâminas (Figura 24) são levadas ao difratómetro. Para além de ser feita uma leitura da amostra natural, as lâminas são submetidas ao aquecimento a 500 °C e a tratamento químico com recurso a glicerol, de forma a identificarem-se certas espécies minerais que não se conseguem identificar na leitura da amostra natural. Os diferentes comportamentos dos minerais a estes tratamentos vão-se refletir nos difratogramas (Mellinger, 1979).



Figura 24|Lâminas de agregados orientados.

O ensaio é realizado num difratómetro, com geometria Bragg-Brentano modelo X'Pert Pro da Panalytical com as seguintes condições instrumentais: radiação com anticátodo de Cu K $\alpha$   $\lambda=1.5405$  Å, 40kV; 40mA, fenda de divergência de 10 mm em modo automático. As amostras foram varridas de 4° a 65° de 2 $\theta$  com um passo de 0,02 °/s.

Para a determinação de fases também foi utilizado o programa HighScore Plus 4.9 da Malvern Panalytical e a base de dados PDF4+ 2022 da International Center for Diffraction Data (ICDD). Os dados mineralógicos obtidos por difração de raios x através da comparação com padrões estabelecidos neste tipo de base de dados deve ser sempre alvo de uma análise crítica. Estes padrões são obtidos através da difração de amostras puras ou sintéticas com elevada ordem estrutural. As amostras analisadas na geologia são por regra maioritariamente naturais, impuras, não são monomineralicas e muitas vezes

apresentam baixa ordem estrutural. Estas condições levam a uma variação na posição dos picos o que leva o programa a caracterizar as mesmas como uma espécie específica erradamente, pelo que devemos assumir apenas o subgrupo da espécie atribuída. Ficam por vezes alguns picos sem resposta devido à ligeira diferença da posição dos picos do que é observado para o padrão sintético.

#### 4.2.1. Semi-quantificação por DRX

A semi-quantificação dos minerais consiste no cálculo das áreas do respetivo máximo de difração de maior intensidade para cada mineral. Posteriormente, a área é corrigida com a divisão dessa mesma área por um fator de correção (poder refletor), apresentados na Tabela 4, específico para cada mineral, de acordo com a capacidade que cada um tem de difratar os raios X incidentes (Galhano *et al.*, 1999). Caso, no total da amostragem, duas espécies minerais apresentarem os mesmos máximos de difração, devemos adotar outro valor, normalmente segundo d-spacing, de maior intensidade. Por fim, é necessário somar todas as áreas corrigidas e recalcular-se para 100% as percentagens relativas de cada mineral (Schultz, 1964; Klein & Dutrow, 2012).

Tabela 4) Poderes refletores (adaptado de Oliveira *et al.*, 2002).

<b>Mineral</b>	<b>Poder Refletor</b>
<b>Lizardite</b>	<b>0,5</b>
<b>Antigorite</b>	<b>0,5</b>
<b>Crisótilo</b>	<b>0,5</b>
<b>Calcite</b>	<b>1</b>
<b>Magnetite/Maghamite</b>	<b>1,3</b>
<b>Sepiolite</b>	<b>0,5</b>
<b>Zeólito</b>	<b>0,8</b>
<b>Esmeclite</b>	<b>4</b>
<b>Clorite</b>	<b>0,75</b>
<b>Vermiculite</b>	<b>0,75</b>
<b>Plagioclase</b>	<b>1</b>
<b>Piroxenas</b>	<b>0,8</b>
<b>Anfibola</b>	<b>0,75</b>
<b>Flogopite</b>	<b>0,5</b>
<b>Dolomite</b>	<b>1</b>

### 4.3. Fluorescência de Raios X

A espectrometria de fluorescência de raios X (FRX) é uma técnica utilizada para a análise quantitativa dos elementos químicos maiores, menores e vestigiais que possuam número atômico  $Z > 9$  em concentrações compreendidas entre os 100% e algumas partes por milhão (ppm).

Devido à sua simplicidade, rapidez e precisão, a Fluorescência de Raios X é o principal método na análise química de argilas e minerais argilosos (Gomes, 1988). Esta técnica tem como princípio teórico o efeito da absorção fotoelétrica, em que todos os elementos químicos presentes num espécime são excitados por um feixe policromático de raios X primários com determinadas energias, emitindo radiações secundárias ou de fluorescência.

Estas radiações são dispersas por cristais analisadores ou dispersores de modo que as radiações secundárias dos elementos possam ser resolvidas e depois captadas por detetores dos tipos proporcionais e cintilações (Gomes, 1988). Por fim, é necessário estabelecer a correlação das intensidades medidas com os teores dos elementos químicos presentes (Andrade, 1990). A Figura 25 representa um modelo simplificado do funcionamento da FRX.

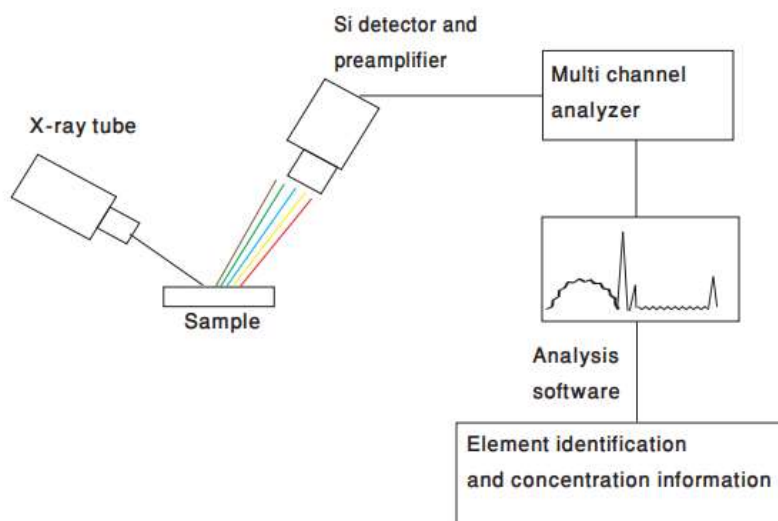


Figura 25 | Modelo do funcionamento da FRX (retirado de Khalid et al., 2011).

Segundo Andrade (1990), a FRX permite a obtenção de informação sobre a composição química qualitativa e quantitativa de um material. A análise de um espécime

através deste método necessita de uma grande homogeneização no que respeita à distribuição das espécies químicas. Assim, o espécime deve ser finamente moído (granularidade em média  $<63 \mu\text{m}$ ) e o pó obtido deve ser prensado, tudo isto com o auxílio de um fundente adequado – disco fundido. Curiosamente, o procedimento experimental para a execução de uma pastilha prensada e, conseqüentemente, a determinação da concentração dos elementos menores, foi o adotado por Terroso (2005). Resumidamente, pesaram-se 10 g de amostra para um recipiente de plástico e adicionou-se 5 a 8 gotas de álcool polivinílico Moviol a 2 % (aglutinante); homogeneizou-se e colocou-se no molde de dimensão normalizada da prensa, no qual sofreu uma compressão de até 15 t de força, durante 30 s. Após se ter retirado a pastilha, esta foi analisada por FRX. Quanto à análise química das amostras fracionadas, devido à baixa quantidade de amostra, a mesma é colocada num amostrador cilíndrico com a base em película transparente para permitir a passagem do raio X.

$$\frac{I_{sp}}{I_{sr}} = K \times \frac{C_{sp}}{C_{sr}}$$

onde:

$I_{sp}$  - intensidade da risca do espectro do espécime-problema, característica de determinada espécie química;

$I_{sr}$  - intensidade da risca do espectro do espécime-referência, característica da mesma espécie química;

K - constante;

$C_{sp}$  - concentração da espécie química no espécime-problema;

$C_{sr}$  - concentração da mesma espécie química no espécime-referência.

A FRX não é um método analítico absoluto. A concentração de um elemento é determinada através da comparação entre a intensidade da radiação emitida por esse elemento na amostra-problema com a intensidade da radiação emitida pelo mesmo elemento, mas existente em quantidade conhecida numa amostra padrão. As curvas de calibração no método do padrão interno foram obtidas elaborando um gráfico onde, em abcissas foi colocada a relação intensidade do elemento na amostra problema/intensidade do elemento na amostra padrão e, em ordenadas, a quantidade conhecida do elemento na amostra padrão (Gomes, 1988).

Quanto à análise química das amostras fracionadas, devido à baixa quantidade de amostra, a mesma é colocada num amostrador cilíndrico com a base em película transparente para permitir a passagem dos raios-X.

As análises foram realizadas com recurso ao espectrómetro Panalytical do Departamento de Geociências da Universidade de Aveiro, modelo Axios, equipado com uma ampola de radiação primária de Rh, juntamente com os programas Pro-Trace 2016 para elementos menores e Omian 37 para elementos maiores. Para completar, a análise química foi analisada ainda a “loss on ignition” (LOI) que é determinada através da diferença de massas da amostra após o aquecimento de uma grama da mesma a 1000° Celcius durante 1h. No caso da amostragem parcial, devido à reduzida quantidade de amostra, foi utilizado o programa OHMNL Helio.

#### 4.3.1. Análise estatística de componentes principais

Para melhor compreender e interpretar os resultados da composição química das amostras totais foi realizada uma análise estatística multivariada recorrendo ao método de componentes principais com o recurso ao software SPSS Statistic fornecido pela empresa IBM na versão 29.

A análise de componentes principais é uma análise exploratória multivariada cujo objectivo é representar ou descrever um número de variáveis iniciais a partir de um menor número de variáveis hipotéticas (componentes principais). Isto é, permite identificar novas variáveis (componentes principais), em menor número que o conjunto inicial, mas sem perda significativa da informação contida neste conjunto. Tratando-se, portanto, duma técnica de redução de dados que investiga as correlações entre as variáveis, através do método de correlações de Pearson, e descreve as mesmas, se possível, em termos de um menor número de variáveis (Jolliffe, 2002).

O software utilizado (SPSS) permite, ainda, desenhar gráficos onde se torna mais intuitivo de concluir quais as variáveis que apresentam uma variação semelhante.

#### 4.4. Microscópio petrográfico

O microscópio petrográfico (MP) é um instrumento utilizado na observação de rochas e minerais. O estudo de rochas e minerais com a ajuda do MP é um procedimento essencial, uma vez que, este permite a deteção de minerais de pequenas dimensões, observar os contactos entre diferentes minerais e estimar a sua percentagem numa dada rocha (Hadfield, 1920).

Nos microscópios petrográficos ou de luz transmitida a fonte de luz encontra-se na parte inferior do microscópio, sendo a luz conduzida por um sistema de lentes que, atravessando a amostra de rocha, permite que esta seja observada. A imagem resultante deste processo é ampliada por um sistema de objetivas e oculares. Desta forma são observadas as características das rochas e minerais quando estes são atravessados pela luz. As observações em luz transmitida apenas são possíveis com amostras que sejam quase transparentes, ou seja, que se deixem atravessar pela luz (Needham, 1958).

O microscópio petrográfico distingue-se do microscópio vulgarmente usado em Biologia em dois aspetos essenciais:

- possui uma platina rotativa;
- possui dois filtros polarizadores (nicóis), um situado abaixo da platina (chamado polarizador) e outro localizado acima desta (o analisador).

A existência da platina rotativa é necessária para que possam ser observadas determinadas características dos minerais quando atravessados pela luz, tais como o pleocroísmo e a medição dos ângulos de extinção. Isto porque a maioria dos minerais comporta-se de maneira diferente consoante a direção em que a luz os atravessa. Quando rodamos a platina, estamos a variar a direção em que a luz atravessa o mineral e a observar as suas diversas propriedades (Nesse, 1991).

De um modo simplista, podemos considerar que a luz é formada por partículas e por ondas que vibram em todas as direções. Quando a radiação luminosa atravessa os nicóis, as respetivas ondas passam a vibrar apenas num único plano, designando-se assim por luz polarizada. No microscópio petrográfico, o polarizador e o analisador estão

colocados de modo que os respetivos planos de polarização sejam perpendiculares. Isto é, se não estiver a ser observada nenhuma amostra, o campo do microscópio apresenta-se totalmente extinto (escuro) quando os dois polarizadores estão inseridos (Bloss, 1981).

As observações com microscópio de luz transmitida são sempre efetuadas com luz polarizada, uma vez que o polarizador está sempre inserido. O analisador pode estar ou não inserido pelo que podem ser feitas observações com luz polarizada não analisada (analisador não inserido) ou com luz analisada (analisador inserido).

Vulgarmente designam-se as observações feitas com luz polarizada não analisada por observações em luz natural ou com nicóis paralelos; por outro lado, as observações com luz polarizada analisada designam-se, por observações com luz polarizada ou com nicóis cruzados (Machado & Nardy, 2016).

Na Figura 26 é apresentado um diagrama esquemático de um sistema usado em microscopia petrográfica.

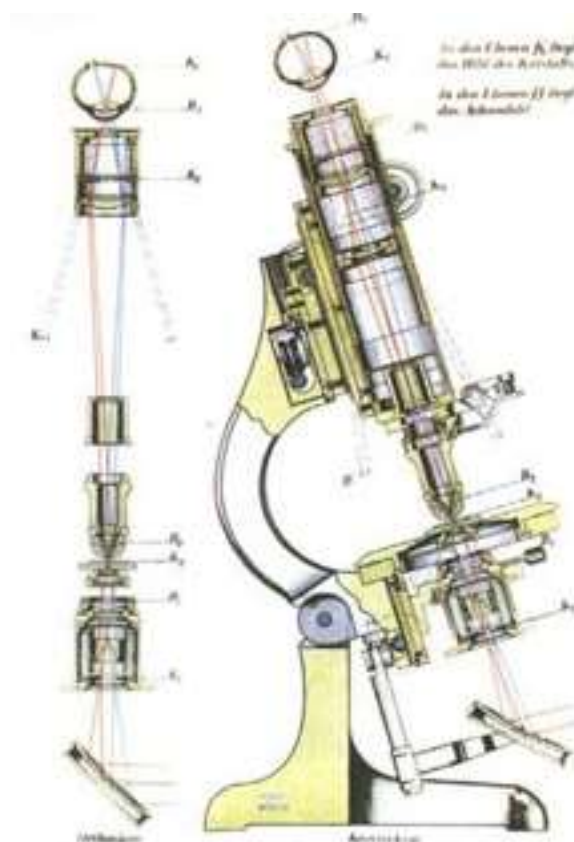


Figura 26|Poster promocional do MP do início dos anos 20 (retirado Leitz, 1921).



Para esta análise foram utilizadas lâminas delgadas produzidas no departamento de Geociências da Universidade de Aveiro. Estas consistem numa porção da amostra ser colada num pequeno retângulo de vidro. Em seguida, esta é polida até se obter uma espessura com 0,03 mm, para permitir a passagem da luz transmitida.

#### 4.5. Microscópio Eletrónico de Varrimento

O microscópio eletrónico de varrimento é um dos instrumentos mais versáteis disponível para o estudo e análise de características estruturais e topográficas (Goldstein, 2003).

No MEV, um feixe de eletrões altamente focado percorre a superfície das amostras ponto por ponto, linha a linha. Os eletrões secundários ou retrodifundidos pela amostra são detetados por detetores de eletrões, sendo este sinal tratado por forma a criar uma imagem pixel por pixel num ecrã (Glaeser, 2012).

A interação do feixe de eletrões com a amostra ocorre dentro de um volume de excitação na superfície da mesma. A profundidade desse volume está dependente da composição sólida da amostra, da energia do feixe incidente e do ângulo incidente.

O MEV possui vários componentes que são essenciais ao seu funcionamento (Figura 27). Por exemplo, o canhão produz e acelera eletrões até à amostra, podendo a emissão ser de dois tipos: termoemissão de tungsténio ou hexaboreto de lantânio e emissão de campo. Para que os eletrões se propagem sem que ocorra dispersão é necessário criar vácuo ao longo da coluna. Cada MEV possui um conjunto de lentes, para permitir que o feixe de eletrões seja focado na amostra. Para fazer isso, recorre-se a um campo eletrostático ou eletromagnético. As lentes condensadoras são aquelas que convergem e colimam o feixe de eletrões, controlando a dimensão da sonda. As lentes objetivas são aquelas que dirigem o foco de eletrões para o local a analisar na amostra. Uma escolha apropriada de lentes resulta na redução do diâmetro do feixe de eletrões na amostra e, conseqüentemente, numa melhoria na resolução da imagem, pois são usadas para focar e definir o feixe (Chisholm, 2007).

Na maioria dos MEV, o sistema de vácuo é composto por uma bomba difusora que tem uma bomba rotativa a apoiá-la e que permite que haja vácuo quer na coluna quer na câmara.

O sistema de varrimento permite que seja formada uma imagem da amostra. Para tal, o feixe de eletrões faz o varrimento da amostra horizontalmente em direções perpendiculares (X e Y). O procedimento denomina-se *raster scanning* e faz com que o feixe cubra uma área retangular das amostras. Os *outputs* dos geradores X e Y são aplicados a um equipamento que forma e faz o *display* da imagem, tal como acontece num tubo de raios catódicos (TRC). O feixe de eletrões do TRC apresenta um sincronismo exato com o feixe do MEV, de forma a que cada ponto da amostra (dentro da área do *raster scan*) seja equivalente a um ponto no *display* da imagem (Egerton, 2005).

A câmara onde é colocada a amostra é um espaço livre, imediatamente abaixo da lente objetiva, onde estão posicionados todos os detetores usados no microscópio - detetores de sinal de eletrões e detetores de raios-X e onde é possível movimentar a amostra, bem como necessário criar o vácuo (Chisholm, 2007).

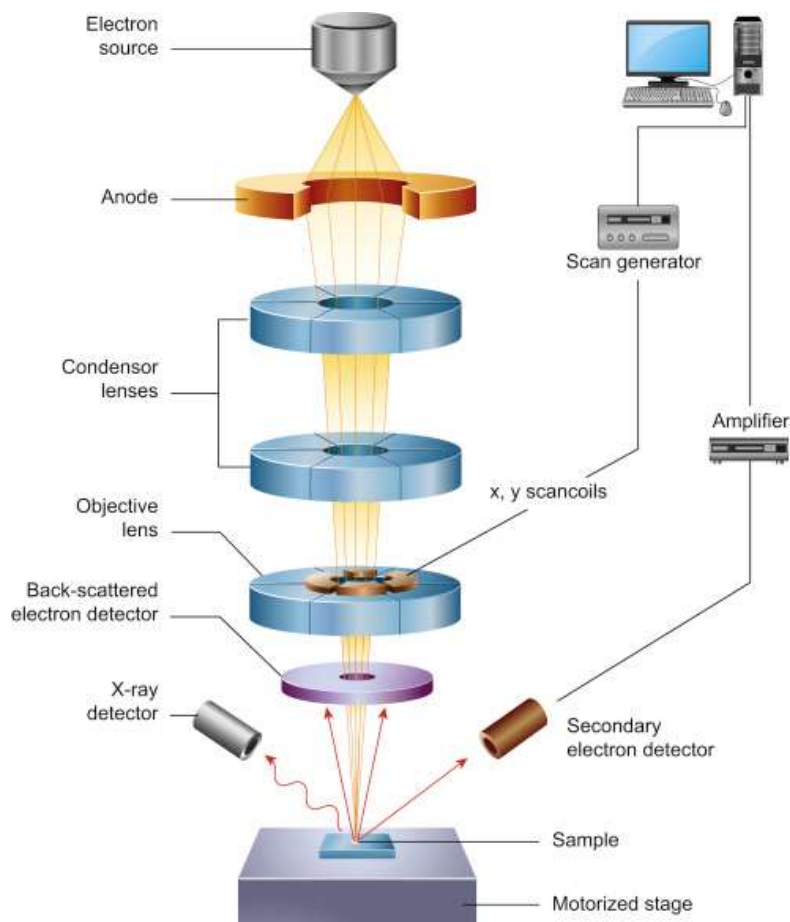


Figura 27|Esquema dos componentes existentes num MEV (Inkson, 2016).

A formação da imagem no MEV está dependente da aquisição dos sinais produzidos a partir da interação do feixe de elétrons com a amostra. A existência de detetores dos diversos sinais emitidos é o que permite a visualização das imagens (Chisholm, 2007).

As análises foram realizadas com recurso ao microscópio do fabricante Tescan do Departamento de Geociências da Universidade de Aveiro, modelo VEJA LMU que opera em alto e baixo vaco, com a capacidade de recolher imagens através de detetores de elétrons secundários e de retro difundidos e tem a capacidade de fazer uma análise química por EDS.



Figura 28|Revolver do microscópio eletrônico de varrimento carregado com fragmentos das amostras.

#### 4.6. Microscopia de luz UV

A microscopia de fluorescência é uma das técnicas de imagem mais utilizadas para o estudo de sistemas biológicos, uma vez que permite diferenciar componentes celulares, subcelulares e moleculares, em simultâneo (Hashimoto *et al.*, 2007; Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005). Esta técnica baseia-se nas propriedades luminescentes de determinados compostos, como pequenas moléculas orgânicas que apresentam afinidade para determinados componentes celulares (Hashimoto *et al.*, 2007; Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005). Devido a estas propriedades fluorescentes, estes compostos são chamados fluoróforos. Uma vez que apenas os componentes celulares ligados aos fluoróforos são detetados por microscopia de fluorescência, obtêm-se um elevado contraste visual (Hashimoto *et al.*, 2007; Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005).

A microscopia de fluorescência tem as suas limitações (Cheung *et al.*, 2014; Gueudré *et al.*, 2012; Marega *et al.*, 2016; Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005). Uma delas é a perda de fluorescência do fluoróforo. À medida que o fluoróforo é exposto à luz de excitação, vai-se degradando e assim perde luminescência (Cheung *et al.*, 2014; Gueudré *et al.*, 2012; Marega *et al.*, 2016; Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005). Este efeito é frequentemente observado em microscopia confocal de fluorescência, que utiliza um feixe laser para excitar as amostras.

A microscopia de fluorescência usa uma lâmpada que permite produzir luz ultravioleta. A luz proveniente do microscópio incide sobre um espelho dicróico, espelho este que reflete um determinado intervalo de c.d.o. e permite que outro intervalo de c.d.o. passe através dele (Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005).

O espelho dicróico reflete a luz ultravioleta até ao espécime. Por sua vez, esta luz excita a fluorescência dentro das moléculas da amostra. A objetiva armazena a luz de c.d.o. fluorescente que foi produzida. Finalmente, esta luz fluorescente passa através do espelho dicróico e de um filtro de barreira (capaz de eliminar outros c.d.o. além do fluorescente), permitindo a formação de uma imagem ocular (Terai *et al.*, 2013; Lichtman *et al.*, 2005).

Para a microscopia de fluorescência de luz UV foram selecionadas previamente três amostras com o objetivo de criar lâminas delgadas, a serem posteriormente analisadas na Faculdade de Ciências do Porto, com a orientação da Professora Dra. Deolinda Flores.

Para a recolha destas imagens foi utilizado um microscópio Leica DM4000 equipado com o software Discus-Fossil system e uma objetiva de 50x com imersão em óleo.

Curiosamente, o Rover Perseverance que se encontra atualmente a analisar e a recolher amostras de Marte utiliza uma tecnologia semelhante no componente apelidado de Sherlock (Saninho Habitable Environments with Raman & Luminescence for Organics & Chemicals). Este equipamento encontra-se acoplado ao braço robótico de Rover e utiliza câmaras, espectrómetros e um laser para procurar compostos orgânicos e minerais que tenham sofrido alteração hidrotermal (Fries, 2022).

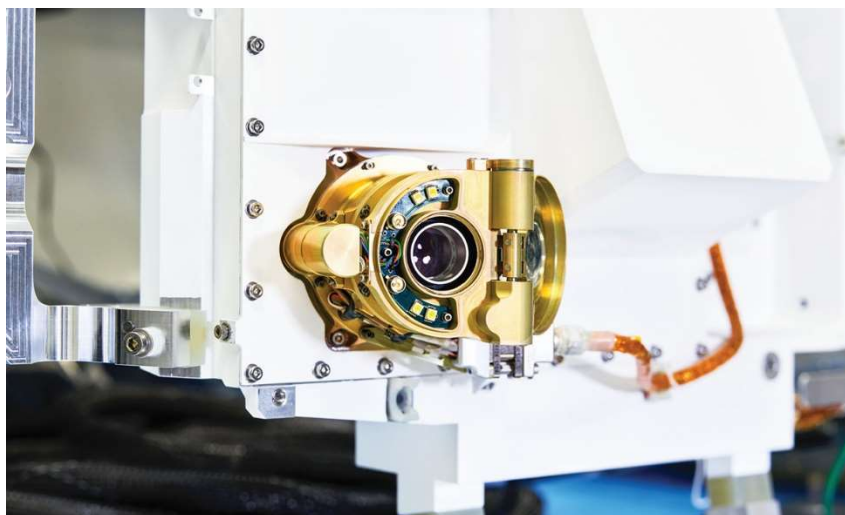


Figura 29|Instrumento SHERLOC do Rover Perseverance (Fonte: NASA/JPL-Caltech).

#### 4.7. Detecção e Análise de Bactérias e Archeas

Para a tentativa de deteção e análise de bactérias e archeas, no primeiro momento dos trabalhos foram selecionadas quatro amostras (da sondagem AC2 as amostras 119,45 e 121,40 e da sondagem AC1 as amostras 146,00 e 171,20) para a tentativa de extração de 16S rRNA.

Com o intuito que as mesmas fossem o menos contaminadas possível, estas amostras foram desde o início dos trabalhos mantidas em ambiente limpo e estéril. Em seguida foram processadas para a realização do ensaio. Foram levadas para o Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro onde contactei com a investigadora doutora Inês Macário e a aluna de doutoramento Telma Veloso que me transmitiram conhecimento e acompanharam o meu trabalho neste ensaio.

Esta análise teve como objetivo analisar e sequenciar o gene 16S rRNA para detetar e analisar bactérias e archeas nas amostras. O gene 16S rRNA é de extrema importância uma vez que se encontra altamente conservado nos genomas bacterianos e arqueanos, pelo que é uma ferramenta fundamental para análises bacterianas. A sua boa preservação torna-se ideal para a identificação e classificação, fornecendo informações sobre a diversidade microbiana e a composição da comunidade. Este gene 16S permite agrupar bactérias e archeas consoante a sua taxonomia a nível de espécie e subespécies (Johnson *et al.*, 2019). Indivíduos que apresentem sequências com identidade >95% representam a mesma subespécie, enquanto sequências com identidade >97%

representam a mesma espécie (Schloss & Handelsman, 2005; Fitz-Gibbon *et al.*, 2013). Ao longo dos anos foi criada uma enorme base de dados onde as espécies e subespécies detetadas são agrupadas com base na sua similaridade. O acesso a esta base de dados permite assim inferir a provável taxonomia de qualquer espécie encontrada através de comparação com os dados já existentes (Johnson *et al.*, 2019).

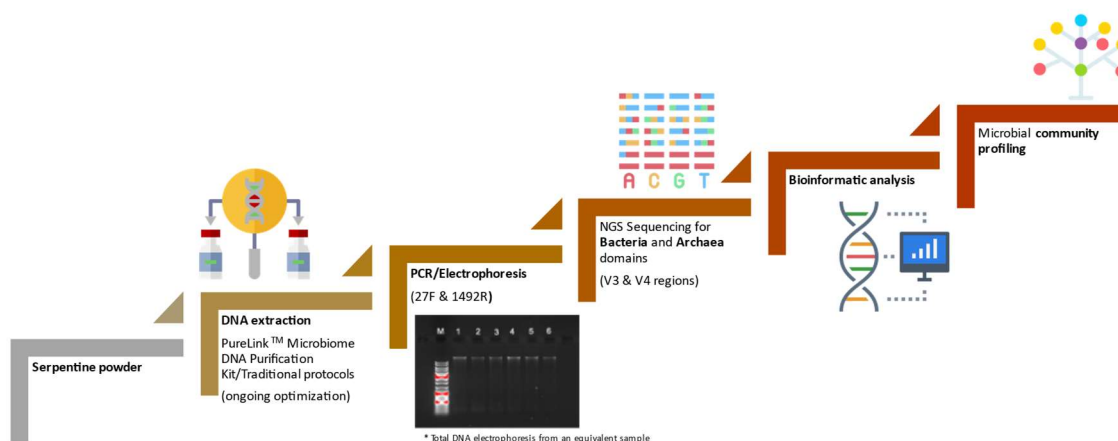
Assim, o gene 16S rRNA é utilizado em aplicações relacionadas com a geologia, uma vez que, esta envolve processos temporalmente longos e a boa preservação deste gene permite a sua identificação a longo prazo (Vetriani *et al.*, 1999).

A análise e o estudo do gene 16S rRNA tem sido crucial no estudo de alguns habitats microbianos subsuperficiais, através da compreensão das vias metabólicas específicas, tais como vias de fixação autotrófica de carbono e ciclos de enxofre e metano (Blazejak *et al.*, 2006; Brazelton *et al.*, 2012; Alfreider *et al.*, 2009). Esta abordagem permite analisar quais as fontes de energia geoquímica que alimentam o ecossistema e quais os processos bioquímicos que sustentam a comunidade microbiana, comprovando assim a ligação entre a energia e os elementos fornecidos da componente inorgânica com a síntese efetuada pela componente orgânica (Nealson *et al.*, 2005; Hoehler *et al.*, 2007; Cardace & Hoehler, 2009).

Já foram desenvolvidos vários trabalhos recorrendo a esta metodologia de classificação taxonómica em Cabeço de Vide nas águas das emergências do complexo de termas da sulfúrea. Este trabalho foi levado a cabo por Marques *et al.* (2018) com a participação de Dr. S.D. Vance do jet Propulsion Laboratory da NASA onde tiveram confirmação da presença da bactéria oxidante de hidrogénio “Serpentinomonas”. A componente bacteriana destas águas foi previamente relatada por Veríssimo (2013).

O presente trabalho destaca-se de todos os já realizados até então pela sua metodologia em ambientes de serpentinização. É importante referir que a tentativa de extração de RNA da amostra rochosa é bastante mais desafiadora relativamente aos tipos de amostras até agora verificadas/recolhidas (realizara-se em tempo em água e, agora, em Rocha) (Vetriani *et al.*, 1999). Em suma, tratando-se de uma primeira vez em que se procura RNA em amostras presentes num ambiente de serpentinização continental e a elevadas profundidades, é de ressaltar a grande dimensão e importância deste trabalho.

Esta análise encontrasse dividida em várias etapas que se encontram representadas esquematicamente no fluxograma da Figura 30. A primeira e a segunda etapas, da redução da amostra a pó e respetiva extração, foram realizadas pelo autor. As restantes, de PCR/ eletrophoresis, sequenciação e Análise bioinformática encontram- se a decorrer e estão a ser realizadas pela Dra. Aidyl Gonzalez-Serricchio, embaixadora da NASA Solar System Exploration, doutorada em genética pelo California Institute of Technology.



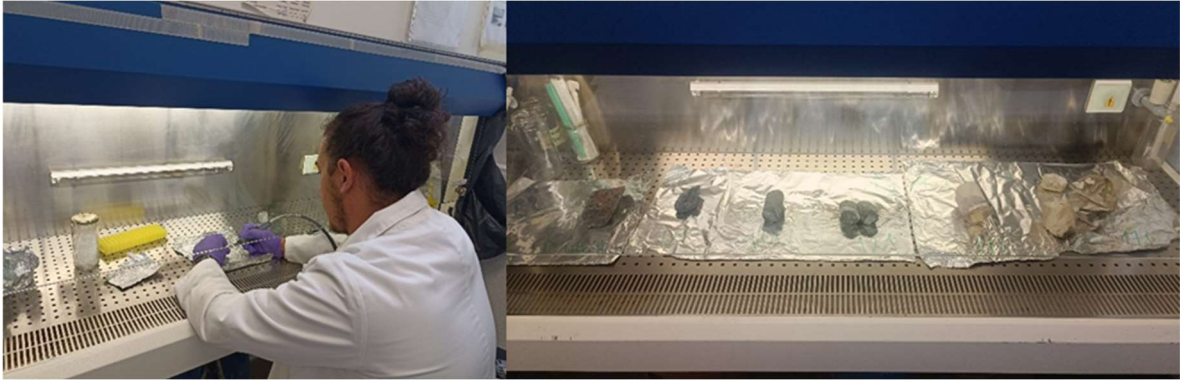
No primeiro estágio, no interior de uma câmara de fluxo, para garantir que não

Figura 30|Fluxograma da Detecção e Análise de Bactérias e Archeas.

ocorriam qualquer tipo de contaminação, a amostra foi reduzida a pó (Figura 31). A amostragem foi sempre realizada na parte interna do testemunho de sondagem para garantir que a amostra estava em condições estéreis.

Em seguida inicia-se o processo de extração no qual foi adotado o protocolo de Vetriani *et al.*, (1999) que permite a extração de 16S rRNA total de elevado peso molecular de amostras de sedimentos e solos. Este protocolo, com pequenas adaptações, pode ser aplicado a outros sólidos, nomeadamente rochas e minerais. Sumariando, a extração de 16S rRNA desenvolve-se em seis etapas: lise celular, extração, precipitação, purificação, ressuspensão e, por último, quantificação e controlo de qualidade. O protocolo completo encontra-se no capítulo de Anexos.





*Figura 31|Processo de amostragem dentro na câmara de fluxo e amostras enviadas para o Instituto de Tecnologia da Califórnia, respetivamente.*

**(Página propositadamente em branco)**

## Capítulo 5: Trabalhos a decorrer e futuros

A realização deste trabalho foi um valente desafio face aos inúmeros imprevistos e obstáculos desafiadores que surgiram.

A atualidade do tema e a escassez de trabalhos desenvolvidos relativamente a Cabeço de Vide, (sendo que a maioria dos estudos focados nesta região incidem sobre as águas) proporcionaram o surgimento de inúmeras questões para as quais foi necessário recorrer a técnicas até então não pensadas para a realização do trabalho. Assim, foram várias as portas que se abriram e ainda não foram fechadas, visto que, em paralelo com a realização da dissertação, procurou-se desenvolver e trabalhar sobre elas. No entanto, o limitado tempo não permitiu dar respostas a todas estas questões, pelo que encontram-se vários trabalhos a decorrer e que parecem ser bastante promissores no contínuo desenvolvimento sobre o estudo de Cabeço de Vide como um análogo de Marte. Além disso, existem também algumas propostas de trabalhos a realizar futuramente.

Com o intuito de complementar a investigação dos minerais argilosos, todas as amostras foram analisadas através de espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Esta técnica analítica é utilizada como método complementar à difração de raios-X. Neste momento, carece o tratamento, análise e discussão dos resultados obtidos.

A oxidação do ferro tem um papel importante na criação de compostos orgânicos, como descrito no estado de arte. Assim, foram enviadas sete amostras para o Mössbauer Spectroscopy Laboratory situado no Campus Tecnológico e Nuclear, do Instituto Superior Técnico de Lisboa para a realização do ensaio de espectroscopia de Mössbauer. Esta permite todas as especiações do ferro, como identificar as fases diamagnéticas e o grau de oxidação do ferro presente nas amostras.

As amostras recolhidas em ambiente estéril para a extração de 16S rRNA serão alvo de um estudo mineralógico de modo a identificar a espécie mineral que preserva o mesmo. A análise destas amostras implica lavagens consecutivas com vista à remoção de qualquer tipo de produto químico utilizado em todo o procedimento de extração do 16S rRNA, nomeadamente o NaCl que é um dos constituintes dos reagentes utilizados no

processo de extração na etapa da lise celular. Este é o único constituinte que apresenta fase cristalina, aparecendo representado no difratograma.

Encontram-se concluídas mais um lote de lâminas delgadas para a análise de microscopia de fluorescência na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, desta vez de um espectro maior de amostras.

Foi submetida uma candidatura ao synchrotron de Soleil para a *beam line PRC6: Ancient materials / Environment and Earth* intitulada “*SR-XRD analysis of serpentine core samples from Cabeço de Vide, Portugal*” para fundamentar e consolidar o estudo do processo de serpentinização em Cabeço de Vide.

O aparecimento de nacrite nas amostras mais profundas, dando lugar a caulinite em direção à superfície antes do aparecimento das serpentinas, sugere a possibilidade deste processo ocorrer previamente à serpentinização, podendo constituir um indicador da mesma. Assim, para o estudo deste fenómeno seria relevante uma análise de Microscopia eletrónica de transmissão de alta resolução, mais conhecida pela sua sigla em inglês *HRTEM*.

## Capítulo6: Análise e Interpretação dos Resultados

Realizada a recolha e análise das amostras pretende-se, neste capítulo, analisar os dados e respetivos resultados, discuti-los e finalmente interpretá-los à luz das questões de investigação formuladas (Fortin, 1999). As abreviaturas dos minerais foram retiradas de Warr (2021) que podem ser consultadas na lista de abreviaturas presente no início deste documento. Recorreu-se a este método com o intuito de tornar as tabelas de resultados mais claras e sucintas visualmente.

### 6.1. Composição mineralógica das amostras

Os resultados foram obtidos a partir da análise por Difração de Raios- X (DRX) de duas tipologias de amostragem- amostra total e amostra parcial. Da amostra total foram retiradas aproximadamente 50 gramas do testemunho da sondagem, sendo posteriormente desfragmentada e reduzida a pó. Esta metodologia permite averiguar o processo de serpentinização ao longo da sondagem, bem como estabelecer comparações e correlações entre amostras de diferentes profundidades. Por outro lado, a metodologia de amostragem parcial tem como objetivo perceber que minerais são responsáveis pelo preenchimento de fraturas e quais estão associados à matriz. Os minerais que se encontram no preenchimento de fraturas são, por norma de cor branca e encontram-se representados nos resultados pela letra W (white). Por sua vez, as amostras com a letra B (black) referem-se à recolha da parte mais escura, isto é, à matriz do testemunho Figura 32.



Figura 32|Exemplo da amostragem parcial, detalhe da amostra AC2: 121,40.

Na amostragem total, através da análise dos difratogramas foi realizado uma caracterização semiquantitativa das espécies minerais. Para a realização desta caracterização foi utilizado o método das áreas dos picos descrito no Capítulo de Métodos e amostragens, bem como a tabela de Poderes refletores (Tabela 4). Por sua vez, na amostragem parcial apenas foi analisada a composição mineralógica, uma vez que, esta amostragem não é representativa da totalidade das amostras. Todos os difratogramas analisados no decorrer do presente trabalho encontram-se no Anexo 1.

Após a apresentação e discussão dos resultados obtidos por DRX, são apresentados e discutidos os resultados obtidos nas análises de microscopia petrográfica e microscopia eletrônica de varrimento, realizadas com o intuito de avaliar a textura e complementar a composição mineralógica. A microscopia eletrônica de varrimento encontra-se analisada no subcapítulo dedicada a mesma.

#### 6.1.1. AC1

A amostragem da sondagem AC1 limita-se apenas a 3 amostras, já que a análise dos carbonatos autogênicos não era um objetivo inicial, ou seja, o estudo e análise destas litologias, aquando da recolha de amostragem em Cabeço de Vide.

Das três amostras recolhidas foram analisadas duas delas através de amostra total, apresentadas na Tabela 5. Estas duas amostras embora separadas por 50 metros de profundidade apresentaram uma composição mineralógica muito semelhante, sendo constituídas essencialmente por dolomite (percentagens > 84% ambas as amostras) e, em menores quantidades, flogopite que apresentou no máximo 15,4% no caso da amostra 94,25 AC1.

Tabela 5|Composição mineralógica semiquantitativa das amostras de AC1.

<b>AC1</b>	<b>Dol (%)</b>	<b>Phl (%)</b>
<b>94,25</b>	84,6	15,4
<b>146,00</b>	96,0	4,0

A amostra 171,21 apresenta dois domínios distintos: - um de cor branca aparentemente de natureza carbonatada; e um domínio esverdeado com laminação, possivelmente de origem metamórfica (Figura 33). Devido a este facto a avaliação da composição mineralógica desta amostra foi efetuada apenas com recurso a amostragem pontual.

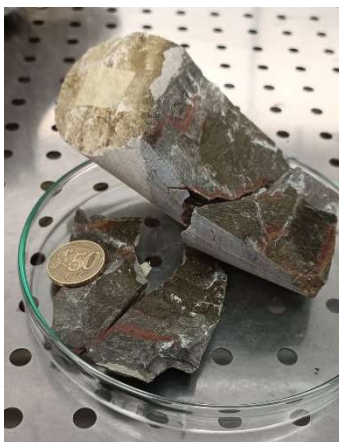


Figura 33| Pormenor dos dois domínios da amostra AC1:171,20.

Foi também analisada segundo esta metodologia a amostra 94,25 (Figura 13) de modo a perceber com mais pormenor a composição mineralógica da mesma.

Tabela 6|Análise mineralógica parcial das amostras AC1.

<b>AC1</b>	<b>Dol</b>	<b>Phl</b>	<b>Or</b>	<b>Kln</b>	<b>Sme</b>	<b>Mca</b>	<b>Vrm</b>
<b>94,25B1</b>	X	X	X				
<b>94,25W1</b>	X						
<b>171,20W1</b>	X		X				
<b>171,20G1</b>			X	X	X	X	
<b>171,20R1</b>	X			X		X	X

Do ponto de vista mineralógico a amostra 171,20 foi dividida em três porções: a porção de cor branca, W, é constituída inteiramente por dolomite, enquanto as correspondentes às frações esverdeada, G e avermelhada, R, apresentam, para além da dolomite também ortóclases, caulinite, esmectite, micas e vermiculite. Estas amostras encontram-se muito próximas do contacto com as litologias ultramáficas, localizadas, no caso desta sondagem, aos 180 metros. Esta associação mineralógica rica em minerais argilosos pode estar associada aos processos de alteração dos constituintes mineralógicos das rochas ultramáficas, de que resultariam esmectites e clorites (maioritariamente resultante da alteração das piroxenas), caulinite (por alteração das ortóclases) e vermiculite (com origem na alteração da flogopite). Por sua vez a amostra 94,25 em adição aos minerais já detetados na fração total, foi possível detetar a presença de ortóclases no domínio mais escuro da amostra (Figura 13).

A análise de microscopia petrográfica da lâmina delgada da amostra 94,25 corrobora com os resultados obtidos na análise dos difratogramas. A análise desta através do microscópio permite a visualização de um predomínio de dolomite acompanhada por flogopite (Figura 34).



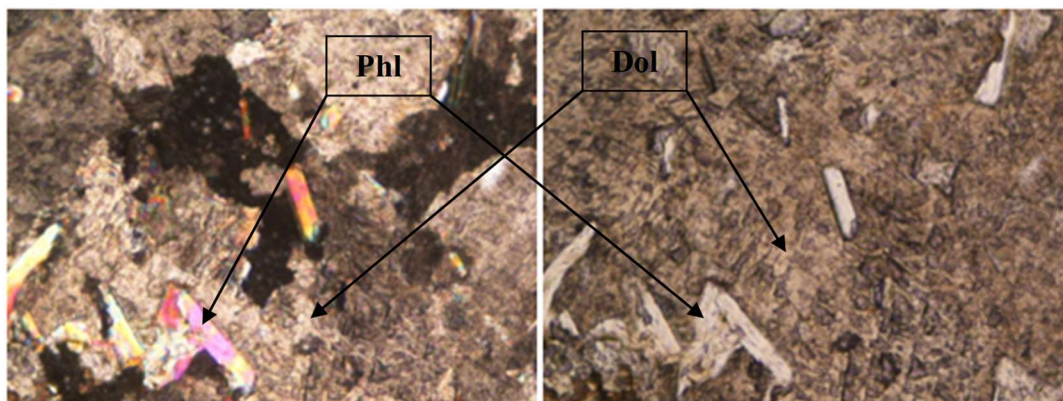


Figura 34| Amostra AC1: 94,25 obtida através do microscópio petrográfico. À esquerda N// e à direita NX, ambas com ampliação de 40 vezes.

### 6.1.2. AC2

Tabela 7| Composição mineralógica semiquantitativa da amostra total da sondagem AC2 (30,05 a 81,665).

AC2	Lz (%)	Atg (%)	Ctl (%)	Cal (%)	Mag/Mgh (%)	Sep (%)	Zeol (%)	Sme (%)	Chl (%)	Vrm (%)	Pl (%)	Px (%)	Amp (%)	Phl (%)
30,05	-	-	-	-	-	-	-	7,7	-	-	8,9	-	-	83,4
35,10	49,5	33,7	-	5,1	11,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44,20	90,4	-	-	-	9,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51,10	-	-	-	-	-	-	-	-	29,6	-	-	-	26,3	44,1
58,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49	-	-	30,5	20,5
60,60	66,9	-	30,5	-	-	-	-	-	-	2,6	-	-	-	-
62,80	90,1	-	-	-	8,7	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-
65,95	91,3	-	-	-	8,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67,05	68,3	27,5	-	-	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71,00	90,3	-	-	-	6,7	-	-	-	3	-	-	-	-	-
81,65	92,4	-	-	-	-	-	-	-	-	7,6	-	-	-	-

Tabela 8| Composição mineralógica semiquantitativa da amostra total da sondagem AC2 (86,10 a 124,00).

AC2	Lz (%)	Atg (%)	Ctl (%)	Cal (%)	Mag/Mgh (%)	Sep (%)	Zeol (%)	Sme (%)	Chl (%)	Vrm (%)	Pl (%)	Px (%)	Amp (%)	Phl (%)
86,10	70	-	-	12	-	-	-	-	11,6	-	-	-	6,4	-
93,35	86,2	-	-	-	-	-	-	-	4,3	-	-	-	-	9,5
96,10 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	37	-	-	44,3	18,7	-
96,10 (2)	38,3	41,7	19,2	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
101,15	37,4	35,9	25,1	-	-	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-
105,85	89,6	-	-	-	9	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-
117,05	64,1	-	35,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
119,45	-	-	-	-	-	-	-	-	9,7	23,5	-	-	66,8	-
121,40	-	-	-	-	-	18,6	1,6	-	10,8	-	-	-	16,5	52,5
124,00	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	29,9	-	5,8	63,1

Tendo em conta os resultados apresentados nas tabelas 7 e 8 é possível afirmar que existem dois grandes domínios de amostras, sendo o primeiro caracterizado por amostras fortemente serpentinizadas com os minerais de serpentina a representar a quase totalidade da amostra, nomeadamente a amostra 71,00 e 67,05. O outro grande domínio caracteriza-se por amostras onde o teor em serpentinas é nulo, tal como as amostras mais profundas da sondagem (119,45; 121,40 e 124,00).

As amostras fortemente serpentinizadas apresentam como mineral predominante a lizardite, sendo este o mineral do grupo das serpentinas característico por se formar em ambientes com temperaturas inferiores a 300°C. Este resultado corrobora com a bibliografia sobre a geologia de Cabeço de Vide (Evans, 2004; Rocha, 2017).

Além disso, foram detetados outros minerais do grupo das serpentinas, tais como, antigorite e crisólito. A antigorite encontra-se sobretudo nas amostras próximas ao domínio que conserva a mineralogia primária. Isto sugere que a antigorite tenha sido formada em ambiente de maior temperatura e neste momento encontra-se a sofrer lizarditização, ou seja, alteração polimórfica para as serpentinas de baixa temperatura (Reynard, 2013).

Foi ainda detetado algum crisólito. Esta metodologia de análise (DRX) deve ser completada para garantir a exatidão dos resultados dos minerais argilosos. Para tal já se encontram em curso a análise das mesmas amostras por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

No domínio serpentinado como minerais acessórios existe maioritariamente magnetite/maghemite e calcite, sendo estes produtos secundários do processo de serpentinação. Pontualmente ocorre vermiculite, clorite, anfíbolas e flogopite, vermiculite e esmectite.

O segundo domínio de amostras não apresenta serpentinação, isto deve-se possivelmente à ausência de fraturas próximas, não permitindo a presença de água fundamental para este processo. Este domínio encontra-se fortemente representado nas três amostras mais profundas. No entanto, existem amostras com a mesma composição ao longo da sondagem, tais como, a amostra 30,05, sendo esta a amostra mais superficial

e próxima ao contacto com as rochas carbonatadas.

Nesta tipologia de amostras existe um predomínio de flogopite, anfíbulas e piroxenas. Como minerais acessórios existem esmectite, clorite, vermiculite. A presença dos altos teores de flogopite deve-se ao elevado gasto de Magnésio e água. Os processos de alteração posteriores quando atuam na flogopite provocam um zonamento bimodal de flogopite e vermiculite (Sharp *et al.*, 1990; Yalcin & Bozkaya, 2016). Este fenómeno é possível observar nas amostras, sendo que a amostra 58,55 apresenta em simultâneo flogopite e vermiculite. Por sua vez, as anfíbulas e piroxenas provêm da mineralogia primária que ainda não se encontra totalmente alterada. As piroxenas são entre os minerais primários os mais resistentes a alteração. No entanto, é mais comum encontrarmos os seus produtos de alteração, tais como clorites e esmectites. A esmectite pode ainda resultar da alteração de plagioclases, no entanto, estas encontram-se alteradas para zeólitos. Estes estão presentes pontualmente na amostragem, tal como, por exemplo, na amostra 121,40. Finalmente, a vermiculite surge da alteração hidrotermal da biotite e da flogopite.

De um modo geral, a sondagem AC2 é caracterizada por rochas altamente serpentinizadas, apresentando teores totais de serpentinas nas rochas alteradas de 70% a 100% (Tabela 9 e Tabela 10), demonstrando assim o avançado processo de alteração. Além disso, a escassez de minerais de serpentina formados a temperaturas mais elevadas (crisólito e antigorite) aliado ao facto de não ter sido detetada a existência de brucite (mineral acessório característico do processo de serpentinização) são um indicador de um elevado estado evolutivo do processo de alteração, uma vez que, segundo as reações descritas por O'Hanley (1996) o crisólito e a brucite associam-se dando origem ao mineral de serpentina mais estável, às condições atmosféricas. A não deteção de brucite pode também estar associada à baixa ordem estrutural da mesma e à pequena quantidade tornando difícil detetar a mesma por difração de raios-X.

Existem, no entanto, alguns locais da sondagem onde não se verifica o processo de alteração. Porém, como é analisado um campo de alteração hidrotermal, em poucos centímetros podem ocorrer alterações bruscas na composição mineralógica e química, tal como se verifica na amostra 96,10 que foi dividida devido ao dimorfismo da sua composição. Para uma análise mais detalhada da evolução do processo de serpentinização

ao longo do testemunho seria útil repetir a mesma metodologia, mas recorrendo a uma amostragem maior.

Tabela 9|Teor de minerais de serpentina nas amostras totais da sondagem AC2(30,05 a 81,65).

AC2	Serpentina (%)
30,05	0
35,10	83,2
44,20	90,4
51,10	0
58,55	0
60,60	97,4
62,80	90,1
65,95	91,3
67,05	95,8
71,00	90,3
81,65	92,4

Tabela 10|Teor de minerais de serpentina nas amostras totais da sondagem AC2(86,10 a 124,0).

AC2	Serpentina (%)
86,10	70
93,35	86,2
96,10 (1)	0
96,10 (2)	99,2
101,15	98,4
105,85	89,6
117,05	100
119,45	0
121,40	0
124,00	0

Em relação à análise parcial, apresentada na tabela 11, podemos afirmar que as fraturas encontram-se preenchidas maioritariamente por minerais de serpentina, predominantemente lizardite, embora os mesmos estejam presentes em ambas as frações amostradas (W e B). Surge também no preenchimento de fraturas a calcite, devido à precipitação de cálcio presente no fluido hidrotermal. A restante associação mineralógica encontra-se na matriz das amostras.

Foi com esta metodologia possível detetar, pela primeira vez a presença de olivinas, principal mineral precursor dos minerais de serpentina (Holm *et al.*, 2015). A

escassa presença deste mineral deve-se ao facto do grau de serpentinização estar muito evoluído, tendo a olivina sido praticamente toda alterada. Foi também detetado nas amostras mais profundas a presença de caulinite e do seu polimorfo de elevadas temperaturas, a nacrite. Estes minerais parecem surgir num estágio inicial ou prévio ao processo de serpentinização. Assim levanta-se uma questão que irá ser analisada em trabalhos futuros.

Em algumas amostras parciais não foi possível detetar minerais máficos identificados anteriormente na amostra total, como o caso da amostra 96,10. Este facto pode estar patente com dois motivos, a heterogeneidade, nomeadamente o facto de piroxenas e anfíbulas ocorrerem em fenocristais e a influência do processo de separação/fracionamento na ordem estrutural (reduzindo-a).

Tabela 11|Análise mineralógica da amostragem parcial da sondagem AC2.

AC2	Lz	Atg	Ctl	Cal	Mag/Mgh	Sep	Zeo	Sme	Chl	Vrm	Pl	Px	Amp	Phl	Ol	Bau	Kln	Ncr
30,05W1							X	X			X							
30,05W2								X			X							
30,05B								X			X			X				
35,10W1	X			X														
35,10B1	X		X	X														
51,10W1	X									X								
51,10W2	X	X		X														
51,10B1			X							X								
58,55W1	X								X	X								
58,55W2	X									X								
58,55B1		X											X					
60,60W1	X		X		X													
60,60B1	X		X		X				X									
AC2	Lz	Atg	Ctl	Cal	Mag/Mgh	Sep	Zeo	Sme	Chl	Vrm	Pl	Px	Amp	Phl	Ol	Bau	Kln	Ncr
62,80W1	X			X														
62,80W2	X			X	X					X						X		
62,80B1	X		X		X													
65,95W1	X		X	X	X													
65,95B1	X				X				X	X								
67,05W1	X	X		X	X													
67,05B1	X	X			X				X						X			
71,00W1	X	X	X	X														
71,00W2	X		X	X														
71,00B1	X	X			X													
81,65W1			X	X	X													
81,65W2		X	X	X						X								
81,65B1	X		X	X	X				X									
AC2	Lz	Atg	Ctl	Cal	Mag/Mgh	Sep	Zeo	Sme	Chl	Vrm	Pl	Px	Amp	Phl	Ol	Bau	Kln	Ncr
86,10W1	X		X	X														
86,10W2	X			X														
86,10B1	X				X				X				X					
93,35W1	X		X	X				X										
93,35W2	X			X						X								
93,35B1	X				X	X				X								
96,10W1			X							X								
96,10W2			X	X												X		
96,10B1	X		X						X	X								
96,10B2	X	X	X		X													
101,15W1			X	X						X								
101,15W2	X		X	X						X								
101,15B1	X	X			X				X	X								
AC2	Lz	Atg	Ctl	Cal	Mag/Mgh	Sep	Zeo	Sme	Chl	Vrm	Pl	Px	Amp	Phl	Ol	Bau	Kln	Ncr
105,85W1	X			X													X	
105,85W2	X		X		X													
105,85B1	X				X				X									X
117,05W1	X			X													X	
117,05W2			X	X														
117,05B1	X											X						X
124,00W1								X		X	X		X					
124,00B1											X		X	X				

Nas imagens recolhidas através do microscópio petrográfico é possível observar

o predomínio de serpentinas (Figura 35). Do ponto de vista textural verifica-se uma textura pseudomórfica interpenetrante. Este tipo de textura é marcado pela presença de lâminas alongadas de lizardite com uma cor avermelhada, o que sugere a possível alteração isomórfica de magnésio e ferro. Seria interessante analisar esta amostra no MEV e fazer uma análise química pontual por EDS numa destas lâminas de antigorite com o intuito de determinar a espécie. Esta abordagem é difícil de conseguir em amostra total, uma vez que o microscópio eletrónico não apresenta as mesmas características óticas de um microscópio petrográfico, o que dificulta a identificação precisa destas lâminas.

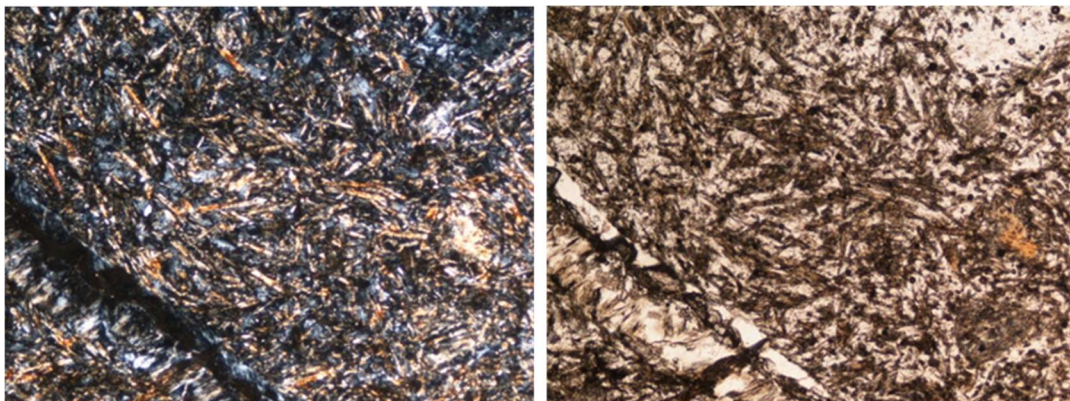


Figura 35|Amostra AC2: 86,10: à esquerda NX; à direita N// 40 x.

## 6.2. Composição Química das amostras

Com o intuito de perceber o comportamento e a evolução dos teores em elementos químicos ao longo do processo de serpentinização, foram realizadas análises relativamente a estes através de espectrometria de fluorescência de raios-X.

Importante referir que os resultados aqui analisados são relativos às amostras totais da sondagem AC2. Contudo, esta metodologia de análise foi também aplicada nas amostras totais da sondagem AC1 e ainda nas amostras parciais de ambas as sondagens. No entanto, a análise dos dados obtidos serviram apenas como ferramenta de suporte à análise mineralogia. A não representatividade das amostras parciais, bem como o reduzido volume de amostras da sondagem AC1 não permite retirar elações concisas sobre a variação dos teores químicos. Assim, estas foram analisadas como ferramenta de suporte na identificação mineralógica. As tabelas de resultados da análise química podem ser consultadas no Anexo 3.

Em geoquímica, os elementos são classificados de acordo com a sua abundância na crosta terrestre em (Hancock & Skinner, 2000):

- elementos maiores, quando a sua concentração é superior a 1,0 % (> 10000 ppm);
- elementos menores, quando a sua concentração está compreendida entre 1,0 e 0,1 %;
- elementos vestigiais ou traço, quando a sua concentração é inferior a 0,1 % (< 1000 ppm).

Os limites classificativos variam um pouco de autor para autor. Na análise química de rochas e sedimentos, a concentração dos elementos maiores é normalmente apresentada em percentagem em peso do respectivo óxido (wt %, weight percents) enquanto que para os elementos menores e vestigiais é vulgar apresentar a sua concentração em partes por milhão (ppm).

#### 6.2.1. Análise de elementos maiores

Através da análise dos elementos maiores ( Tabela 12) é notório que as amostras onde existe um predomínio de minerais de serpentina (ver Tabela 9 e Tabela 10), apresentam teores de magnésio e valores de LOI mais elevados relativamente às restantes amostras. Em relação ao silício, ao enxofre e ao manganês os teores dos mesmos não apresentam grandes variações ao longo das amostras. Por outro lado, os teores em sódio, alumínio, fósforo, cloro, potássio, cálcio, titânio e ferro são menores quanto maior a concentração de minerais de serpentina.

Tabela 12|Teores em elementos maiores das amostras da sondagem AC2.

AC2	Na <sub>2</sub> O wt (%)	MgO wt (%)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> wt (%)	SiO <sub>2</sub> wt (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> wt (%)	SO <sub>3</sub> wt (%)	K <sub>2</sub> O wt (%)	CaO wt (%)	TiO <sub>2</sub> wt (%)	MnO wt (%)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> wt (%)	LOI wt (%)
30,05	1,612	12,778	10,505	46,302	0,675	0,085	3,888	7,401	1,088	0,078	9,518	5,270
35,10	0,071	36,815	1,398	36,825	0,011	0,227	0,014	3,478	0,072	0,072	5,240	15,090
44,20	0,074	38,864	1,363	37,019	0,046	0,115	0,014	0,315	0,136	0,138	9,409	12,070
51,10	0,119	26,358	10,927	34,578	0,040	0,081	0,665	3,752	2,089	0,221	12,738	8,020
58,55	0,288	26,199	11,754	36,702	0,121	0,017	0,579	4,712	0,683	0,248	9,559	8,800
60,60	n. d.	37,451	3,031	36,269	0,030	0,201	0,022	0,376	0,176	0,125	10,400	11,360
62,80	n. d.	40,285	1,130	37,475	0,010	0,247	0,005	0,266	0,060	0,081	9,512	10,390
65,95	0,058	39,906	1,166	36,582	0,014	0,250	0,005	0,297	0,115	0,112	8,618	12,370
67,05	n. d.	39,625	1,602	37,035	0,014	0,352	0,008	0,272	0,149	0,111	7,826	12,590
71,00	0,072	37,855	2,216	36,943	0,021	0,141	0,009	0,707	0,136	0,165	8,211	12,820
81,65	0,060	34,943	3,336	33,634	0,136	0,192	0,007	4,057	0,535	0,247	8,875	13,360
86,10	0,161	27,856	7,475	32,021	0,028	0,197	0,066	8,533	0,717	0,313	10,139	11,930
93,35	0,073	34,013	5,096	35,046	0,129	0,129	0,307	0,754	0,724	0,221	10,182	12,840
96,10 (1)	0,410	16,823	14,681	37,822	0,023	0,061	0,441	14,383	0,929	0,310	8,865	4,810
96,10 (2)	0,057	35,240	3,553	35,827	0,045	0,144	0,022	1,029	0,191	0,129	10,207	13,080
101,15	n. d.	37,627	3,010	36,125	0,049	0,137	0,016	0,345	0,244	0,166	9,079	12,710
105,85	n. d.	38,768	1,779	36,037	0,017	0,142	0,006	0,212	0,180	0,151	10,180	11,740
117,05	0,065	37,187	0,867	37,833	0,008	0,798	0,006	1,800	0,047	0,076	7,182	13,610
119,45	1,086	15,058	10,908	39,723	0,506	0,105	3,102	10,090	2,171	0,245	15,156	1,060
121,40	1,038	5,744	13,637	37,189	0,960	0,022	2,186	15,021	2,639	0,204	13,558	6,770
124,00	2,986	6,113	14,765	42,024	1,254	0,025	3,069	7,197	3,075	0,245	16,240	2,090

#### 6.2.1.1. Análise de componentes principais

A análise de componente principais surge para auxiliar a interpretação dos dados químicos. Este estudo debruçou-se sobre os elementos maiores das amostras totais da sondagem AC2. Inicialmente, esta análise inicia-se com o estudo da correlações dos diferentes teores em elementos químicos, apresentados na Tabela 13. O relatório completo desta análise no software SPSS pode ser consultado na íntegra no anexo 3.



Tabela 13|Coeficientes de correlação da análise de componentes principais.

		P2O5	Na2O	Al2O3	SiO2	LOI	MnO
Correlação	P2O5	1,000	,937	,673	,619	-,722	,209
	Na2O	,937	1,000	,689	,723	-,787	,228
	Al2O3	,673	,689	1,000	,357	-,853	,667
	SiO2	,619	,723	,357	1,000	-,612	-,305
	LOI	-,722	-,787	-,853	-,612	1,000	-,440
	MnO	,209	,228	,667	-,305	-,440	1,000
	SO3	-,392	-,363	-,585	-,114	,486	-,499
	Fe2O3	,730	,685	,671	,240	-,775	,485
	TiO2	,841	,789	,848	,341	-,821	,516
	K2O	,867	,878	,703	,791	-,845	,150
	CaO	,575	,528	,842	,255	-,708	,597
	MgO	-,855	-,834	-,933	-,534	,873	-,491
		SO3	Fe2O3	TiO2	K2O	CaO	MgO
Correlação	P2O5	-,392	,730	,841	,867	,575	-,855
	Na2O	-,363	,685	,789	,878	,528	-,834
	Al2O3	-,585	,671	,848	,703	,842	-,933
	SiO2	-,114	,240	,341	,791	,255	-,534
	LOI	,486	-,775	-,821	-,845	-,708	,873
	MnO	-,499	,485	,516	,150	,597	-,491
	SO3	1,000	-,504	-,483	-,386	-,381	,491
	Fe2O3	-,504	1,000	,872	,663	,452	-,702
	TiO2	-,483	,872	1,000	,773	,697	-,894
	K2O	-,386	,663	,773	1,000	,600	-,863
	CaO	-,381	,452	,697	,600	1,000	-,872
	MgO	,491	-,702	-,894	-,863	-,872	1,000

Da análise da tabela anterior (Tabela 13) podemos afirmar que o sódio e o fósforo apresentam uma correlação positiva muito forte, isto é  $>0,9$ . Por outro lado, o magnésio e o alumínio apresentam uma correlação negativa muito forte. A primeira correlação forte (sódio e o fósforo) pode ser explicada pela coexistência de ambos na mesma espécie de mineral, isto é, na flogopite. Por sua vez, a segunda correlação está associada ao facto de que nem as olivinas, nem as piroxenas, bem como os seus produtos de alteração, ou seja, as serpentinas, não apresentam alumínio na sua constituição.

Desta análise conclui-se a existência de duas componentes principais. Através da análise da variação dos teores químicos foi possível agrupar os mesmos em duas componentes principais, sendo estas apresentadas na Tabela 14. Nesta tabela é possível

constatar que a componente 1 é mais forte que a componente 2, uma vez que esta apresenta correlações mais elevadas face à componente 2.

Tabela 14|Coorrelação entre os elementos químicos e as componentes principais.

	Componente	
	1	2
MgO	-,974	
TiO2	,929	-,120
LOI	-,927	
Al2O3	,911	-,272
K2O	,894	,370
P2O5	,887	,274
Na2O	,886	,331
Fe2O3	,811	-,146
CaO	,778	-,281
SO3	-,562	,380
MnO	,494	-,805
SiO2	,561	,760

Método de Extração: análise de Componente Principal.

a. 2 componentes extraídos.

De modo a interpretar de forma mais fácil estes dados recorreu-se a uma representação gráfica dos mesmos (Figura 36).

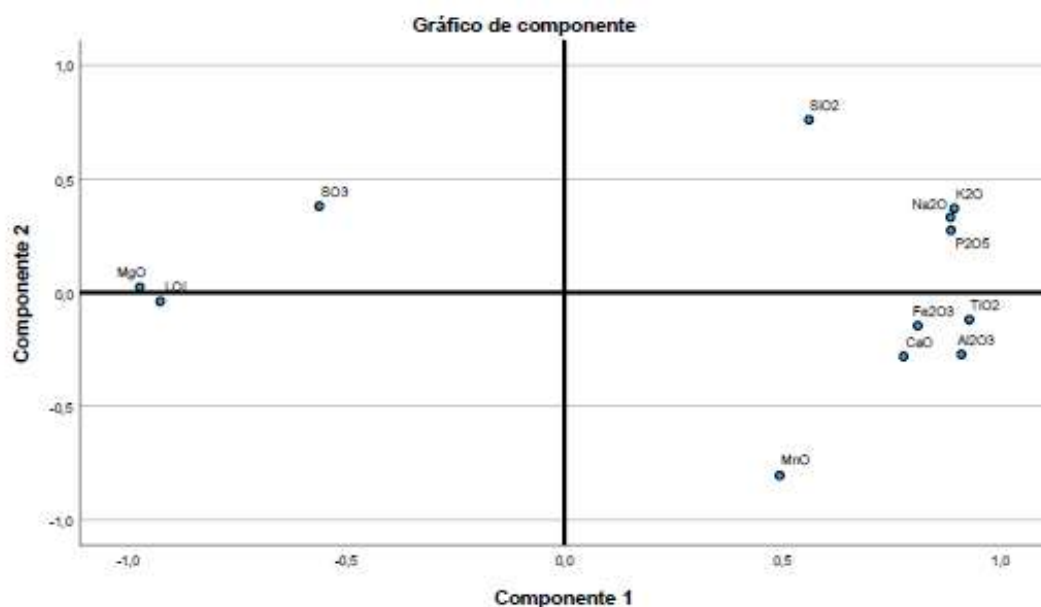


Figura 36|Representação das variáveis no primeiro plano fatorial

Através da representação das variáveis no primeiro plano fatorial (Figura 36) é possível concluir que a componente 1 separa as variáveis Mg e LOI na parte negativa em oposição às variáveis Al, Ti, Ca, Fe, P, K e Na que encontram-se representadas na parte positiva desta componente. É possível ainda concluir que a componente 2, embora com menor força, separa o Na, o K, o P e o Si na parte positiva desta em oposição ao Fe, Ti, Ca, Al e Mn que encontram-se projetados com valores negativos.

É notória a associação existente entre o magnésio e o LOI, o que se pode explicar pelo processo de desidratação e hidroxilação das serpentinas aquando da sua queima para a determinação da massa perdida por ignição. Os restantes elementos químicos aparecem no gráfico no primeiro e segundo quadrante do lado oposto ao magnésio e ao LOI, demonstrando assim a semelhança de comportamentos destes elementos. Estes resultados podem ser explicados pelo facto de que os minerais de serpentina apresentam na sua constituição maioritariamente magnésio, sílica e oxigénio, pelo que os restantes elementos químicos serão encontrados em outros minerais. Com o decorrer do processo de serpentinização, o aumento dos minerais de serpentina encontra-se explicado pela alteração extensiva da mineralogia primária. Os elementos químicos que não entram na constituição dos minerais de serpentina, nomeadamente o sódio e o cálcio, acabam por ser lixiviados pelo fluído hidrotermal. Além disso, em fases tardias de serpentinização pode existir outros processos metassomáticos devido a precipitação destes elementos (Szponar, 2013).

Tabela 15| Representatividade de cada componente em cada amostra (a componente com maior peso em cada amostra encontra-se realçada a azul).

<b>Amostra</b>	<b>Componente 1</b>	<b>Componente 2</b>
<b>30,05</b>	1,31937	2,47019
<b>35,10</b>	-0,88826	0,65961
<b>44,20</b>	-0,59803	0,18395
<b>51,10</b>	0,4008	-1,15744
<b>58,55</b>	0,25931	-0,89858
<b>60,60</b>	-0,5599	0,15472
<b>62,80</b>	-0,69004	0,7141
<b>65,95</b>	-0,75847	0,44626
<b>67,05</b>	-0,82128	0,63385
<b>71,00</b>	-0,62907	0,03636
<b>81,65</b>	-0,44375	-0,96709
<b>86,10</b>	-0,07022	-1,87721
<b>93,35</b>	-0,3057	-0,65002
<b>96,10 (1)</b>	0,77666	-1,44808
<b>96,10 (2)</b>	-0,53727	-0,02056
<b>101,15</b>	-0,58371	-0,13621
<b>105,85</b>	-0,58966	-0,05633
<b>117,05</b>	-1,03876	1,48698
<b>119,45</b>	1,60641	0,00764
<b>121,40</b>	1,69066	-0,44173
<b>124,00</b>	2,46091	0,85961

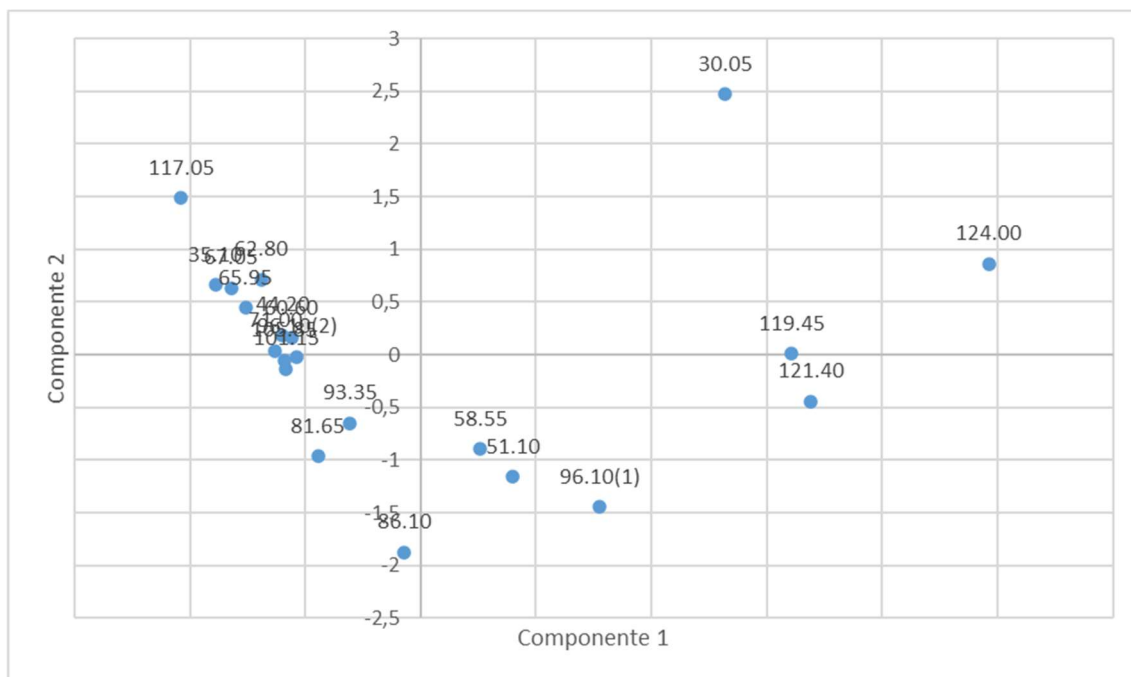


Figura 37 | Representação dos indivíduos no primeiro plano fatorial

Na representação dos indivíduos no primeiro plano fatorial, apresentado na Figura 37, é notório que as amostras serpentinizadas representam uma projeção próxima no lado negativo da componente 1. Em oposição a estas encontram-se as amostras que conservam a mineralogia máfica/ ultramáficas, tais como as amostras 119,45 e 121,40. É possível concluir que as amostras com minerais argilosos na sua constituição, que não serpentinas, como por exemplo as amostras 51,10 e 86,10. Nestas amostras verifica-se uma forte percentagem de clorite entre os 11 e os 30% aproximadamente, que encontram-se representadas no eixo negativo da componente 2. Por sua vez, no lado oposto a estas encontram-se as amostras com maior percentagem em plagioclase na sua constituição, como é o caso das amostras 30,05 e 124,00.

Em suma podemos assim afirmar que a componente 1 encontra-se associada ao processo de serpentinização e a componente 2 ao processo de alteração das plagioclases e à formação de minerais argilosos, que não serpentinas, como por exemplo a clorite e a vermiculite.

## 6.2.2. Análise de elementos menores

Quanto aos elementos menores nas amostras fortemente serpentinizadas, apenas os teores em crómio e níquel são maiores face às restantes amostras, à exceção do teor em zinco que não apresenta grande variação e ao teor em flúor que apresenta um comportamento pontual presente na amostra 30,05 (Tabela 16).

Tabela 16|Teores em elementos menores das amostras da sondagem AC2.

AC2	Cl (ppm)	F (ppm)	V (ppm)	Co (ppm)	Ni (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Rb (ppm)	Sr (ppm)	Y (ppm)	Zr (ppm)	Nb (ppm)	Ba (ppm)	Pb (ppm)	Cr (ppm)
30,05	1920	2290	140	190	60	260	60	260	740	15	330	13	1370	15	430
35,10	400	n. d.	30	160	1810	n. d.	80	3	30	2	1	n. d.	12	23	4300
44,20	390	n. d.	40	180	2010	8	40	4	10	2	8	1	n. d.	11	1700
51,10	1140	n. d.	160	210	1060	210	70	30	210	9	33	8	180	11	970
58,55	780	n. d.	130	120	480	40	90	30	70	19	150	7	140	61	1140
60,60	600	n. d.	40	240	2200	120	140	4	20	1	5	n. d.	11	33	2260
62,80	450	n. d.	20	240	2420	11	70	3	6	n. d.	1	n. d.	n. d.	24	2210
65,95	440	n. d.	50	220	2200	8	80	4	6	2	6	n. d.	n. d.	16	2090
67,05	340	n. d.	20	220	2260	5	100	4	6	2	6	n. d.	8	17	1210
71,00	500	n. d.	40	160	1710	5	70	4	20	5	7	1	11	170	4280
81,65	590	n. d.	80	190	1630	6	80	3	40	5	21	4	n. d.	29	3580
86,10	1670	n. d.	190	210	1380	140	90	5	430	7	2	n. d.	36	16	1520
93,35	1240	n. d.	70	220	1500	20	60	8	70	9	110	14	43	27	1540
96,10 (1)	1730	n. d.	220	140	340	310	90	10	470	9	15	n. d.	320	50	700
96,10 (2)	660	n. d.	40	240	1840	9	60	4	30	3	15	2	12	12	1860
101,15	510	n. d.	30	240	1990	5	60	4	20	3	9	1	9	29	2050
105,85	520	n. d.	50	240	1910	3	100	4	10	n. d.	2	n. d.	n. d.	86	4940
117,05	460	n. d.	20	220	2340	30	100	4	20	1	1	n. d.	12	20	2060
119,45	4550	n. d.	220	270	530	100	110	70	510	20	190	50	750	24	710
121,40	3540	n. d.	130	200	6	90	90	90	2080	40	250	60	4100	22	2
124,00	5610	n. d.	140	250	4	100	80	60	1200	50	460	70	1220	29	3

Este comportamento do crómio e do níquel poderá estar relacionado com o facto de que estes elementos podem surgir em substituição do magnésio no preenchimento das camadas tetraédricas na estrutura cristalina dos minerais de serpentina (Wicks & O'Hanley, 1988). Além disso, a presença do crómio nas rochas mais alteradas pode estar associada à presença de espinelas(óxidos) que podem não ter sido detetados por DRX. Isto justifica-se pela reduzida quantidade deste mineral na amostra.

## 6.2.3. Análise de elementos traço

Da análise dos elementos traço é perceptível um teor de tântalo e tungsténio superior nas amostras que apresentam na sua composição mineralógica minerais de serpentina.

Em oposição, às amostras com maior composição máfica apresentam teores mais elevados em gálio, cádmio, lantânio, háfnio, titânio, tório e urânio. Finalmente, em relação aos teores de molibdênio e céσιο não é possível retirar conclusões, já que os mesmos apresentam variação quase nula ao longo da sondagem.

Tabela 17|Teores em elementos traço das amostras da sondagem AC2.

AC2	Sc (ppm)	Ga (ppm)	Ce (ppm)	Br (ppm)	Mo (ppm)	Ta (ppm)	W (ppm)	Tl (ppm)	Cd (ppm)	Th (ppm)	U (ppm)	As (ppm)	La (ppm)	Nd (ppm)	Cs (ppm)	Hf (ppm)	Sm (ppm)	Se (ppm)	Ag (ppm)	Sn (ppm)
30.05	17	15	65	n.d.	4	n.d.	n.d.	3	n.d.	25	11	n.d.	31	30	9	5	n.d.	1	n.d.	4
35.10	4	2	44	n.d.	1	6	18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
44.20	3	2	25	n.d.	1	4	25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
51.10	9	10	34	2	2	n.d.	10	2	5	3	2	n.d.	13	13	5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
58.55	17	11	39	2	2	n.d.	n.d.	n.d.	4	6	4	n.d.	11	16	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
60.60	n.d.	4	26	3	1	6	26	3	6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
62.80	n.d.	2	24	n.d.	1	7	30	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
65.95	4	2	26	n.d.	1	7	29	2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
67.05	3	3	n.d.	n.d.	1	6	27	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
71.00	5	4	54	1	3	6	23	3	n.d.	n.d.	2	66	n.d.	n.d.	5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
81.65	7	6	50	1	1	6	19	n.d.	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
86.10	16	8	50	3	2	n.d.	14	2	6	5	3	n.d.	24	17	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
93.35	n.d.	7	28	10	2	5	13	3	5	n.d.	n.d.	n.d.	11	9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
96.10 (1)	46	10	22	2	2	n.d.	6	n.d.	n.d.	6	2	n.d.	n.d.	11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
96.10 (2)	6	4	14	5	2	4	19	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
101.15	5	3	20	3	2	7	26	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
105.85	3	4	59	n.d.	2	4	26	3	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
117.05	4	1	23	1	2	6	23	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
119.45	14	15	47	2	4	n.d.	n.d.	3	6	8	3	n.d.	21	20	9	4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
121.40	9	19	85	n.d.	5	n.d.	n.d.	3	8	30	8	n.d.	40	38	n.d.	5	n.d.	n.d.	6	n.d.
124.00	8	23	96	1	4	6	n.d.	2	8	19	5	n.d.	44	47	n.d.	7	7	n.d.	n.d.	n.d.

### 6.3. Microscópio Eletrónico de Varrimento

O uso conjunto do microscópio eletrónico de varrimento com o EDS (Espectroscopia de raios X por dispersão em energia) é de grande importância nos estudos mineralógicos/geoquímicos por conciliarem a imagem fornecida pelo microscópio com a análise química obtida pelo EDS, tornando este um acessório indispensável do MEV. Devido ao EDS é possível obter a composição química pontual das fases minerais que constituem a amostra. Se aliarmos esta capacidade com a capacidade de varrimento do microscópio consegue-se assim analisar pequenas áreas e ainda criar um mapa que permite analisar a caracterização e distribuição espacial de elementos químicos na amostra. É de realçar que, embora a amostragem seja pontual, não há garantias de que a análise química não seja influenciada por mais que um mineral.

A possibilidade desta técnica em fornecer uma ligação direta da componente mineralógica (imagem) com a composição química das amostras (EDS) é o motivo pelo qual o microscópio eletrónico de varrimento tem um subcapítulo dos resultados dedicado ao mesmo. Esta técnica permite assim um confronto direto entre os dados químicos e os mineralógicos, obtendo-se assim a validação dos mesmos. Foram selecionadas algumas imagens com análises pontuais, bem como alguns mapas que serão analisados em seguida. As imagens analisadas foram obtidas no modo de elétrons retro difundidos.

### 6.3.1. AC1

Da sondagem AC1 foram selecionadas duas amostras: a 146,00 (Figura 38) e a 171,20 (Figura 39). As análises mineralógicas da amostra 146,00 demonstraram que a sua composição mineralógica é constituída por dolomite e flogopite. As análises químicas pontuais corroboraram estes resultados. Nos 6 pontos amostrados a análise química apresenta percentagens atómicas médias de 9% de cálcio, 32% de carbono, 9% de magnésio e o restante de oxigénio, validando assim a presença de dolomite na amostra.

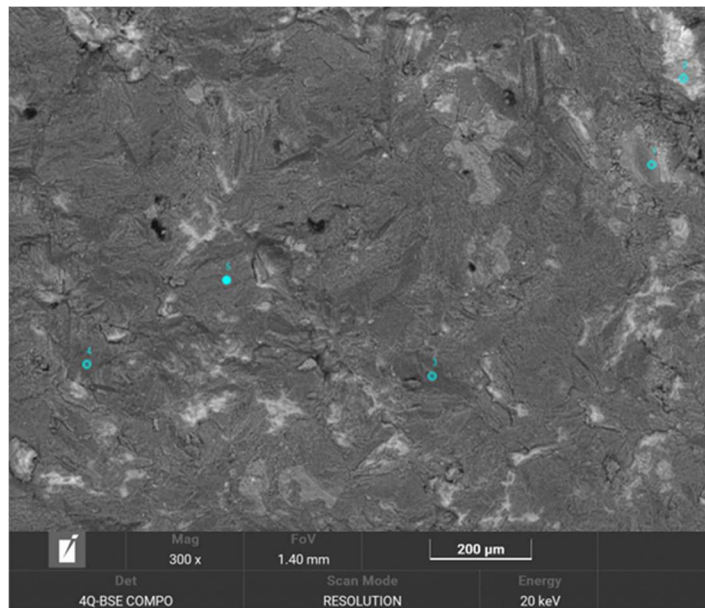


Figura 38| MEV da amostra AC1: 146,00.

A amostra 171,20 foi escolhida para analisar microscopicamente devido à sua singularidade no seu espectro (Figura 33). A análise mineralógica da mesma demonstrou a presença de dolomite, ortóclase, micas e minerais de argila na sua constituição. Da análise pontual da amostra 171,20 os pontos 1,5 e 6 apresentam análises químicas típicas de uma mica (Figura 39). Por sua vez, os pontos 2,3, 4 e 7 apresentam maior percentagem de carbono e oxigénio seguida da presença de magnésio, ou seja, confirmando a presença de dolomite.



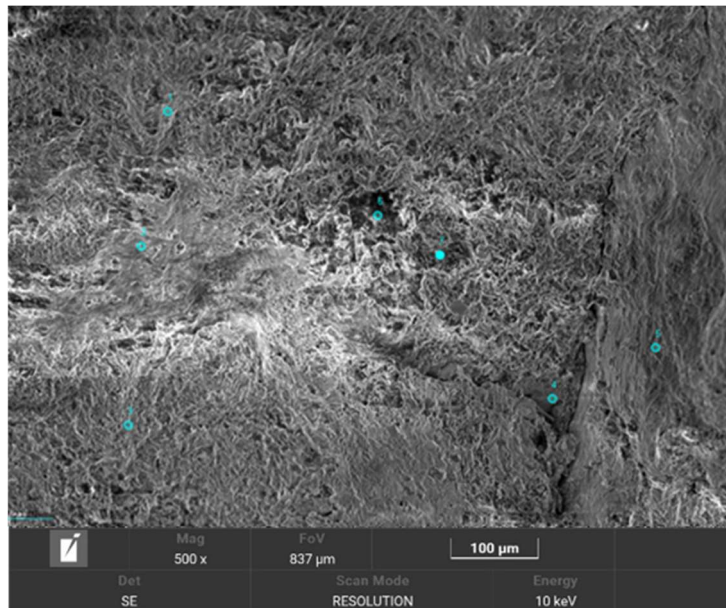


Figura 39|MEV da amostra AC1: 171,20.

### 6.3.2. AC2

Através da análise química pontual da amostra 51,10 foi possível detetar o predomínio da existência de carbonatos nesta secção da amostra. No entanto, a análise mineralógica da amostra total não reflete a presença de carbonatos na mesma. Porém, os carbonatos, nomeadamente calcite, foram detetados no preenchimento de falhas contidas na amostra, tendo em conta a amostragem parcial. Podemos presumir assim que a imagem obtida ao microscópio eletrónico é de um preenchimento de falha (Figura 40).

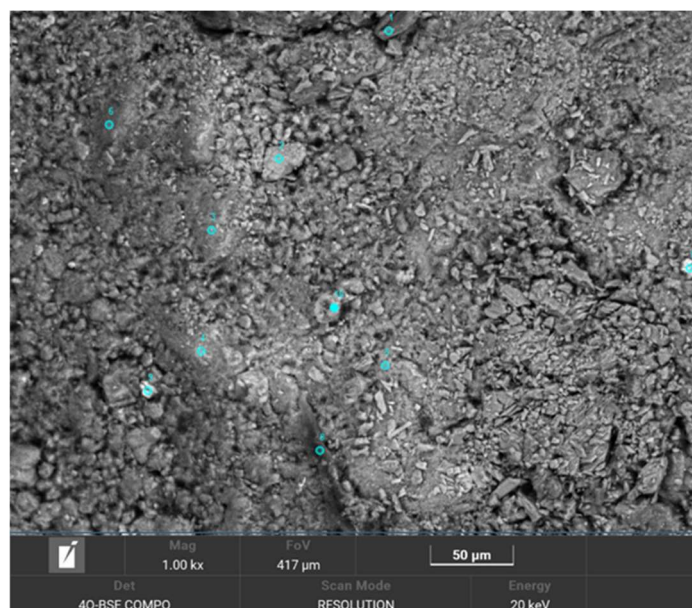


Figura 40| MEV da amostra AC2: 51,10.

A análise mineralógica (DRX) da amostra 71,00 apresentou uma constituição maioritariamente de lizardite. Através da análise de 4 áreas da amostra visíveis na Figura 41 ao microscópio eletrónico de varrimento verificou-se que estas apresentam em média uma composição química a rondar os 22 % de magnésio, 63 % de oxigénio e 15% de sílica em percentagem atómica.

Assim, o MEV corrobora os dados da DRX, pelo que está validada a existência de serpentinas ( $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$ ) na amostra em estudo.

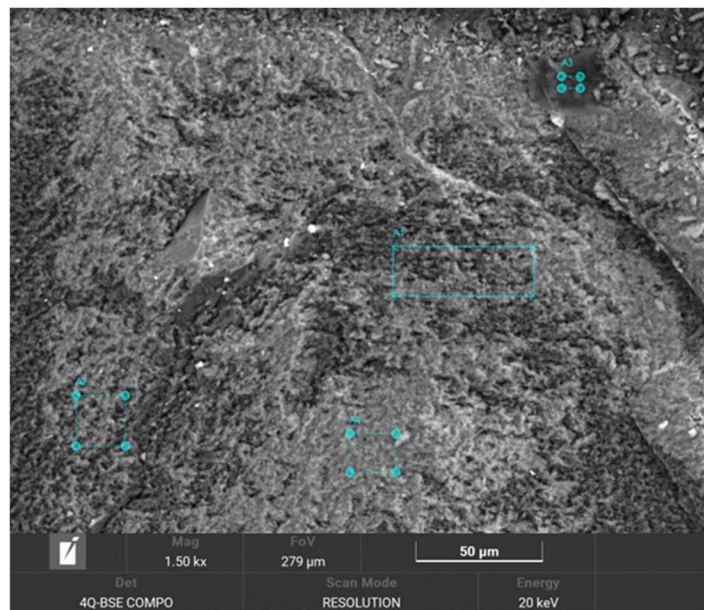


Figura 41 | MEV da amostra AC2: 71,00.

A análise da amostra 96,10(2) (Figura 42) ao microscópio eletrónico permite concluir que a presença do crisótilo na análise mineralógica estava correta, uma vez que, a observação da amostra no MEV permitiu observar a presença das fibras características deste mineral. Devido às pequenas dimensões das fibras observadas não foi possível a realização da análise química pontual.

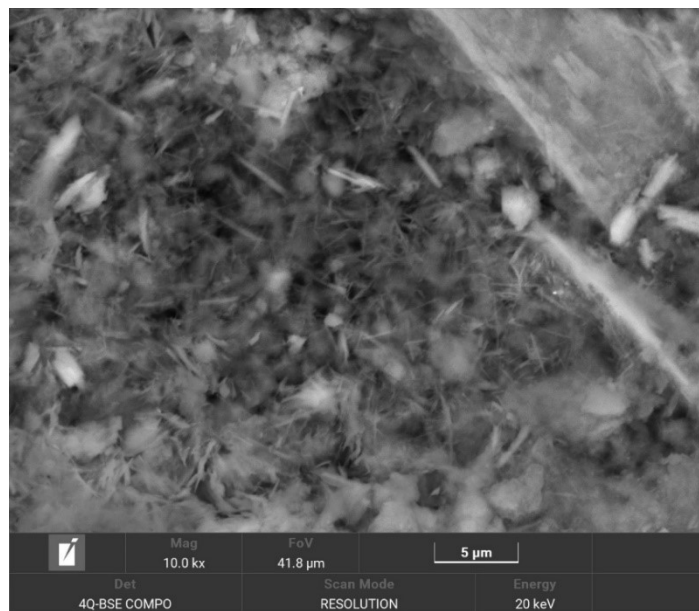


Figura 42| MEV da amostra AC2: 96,10(2).

A amostra 124,00 (Figura 43) apresentou uma composição mineralógica dominada por esmectite, plagioclase, anfíbola e piroxenas. Através da análise química foi possível constatar que o primeiro ponto estaria associado à flogopite e os restantes a um silicato contendo na parte catiónica proporções variáveis de cálcio, magnésio, ferro, alumínio, sódio e titânio, pelo que estaremos provavelmente perante trata-se de uma anfíbola.

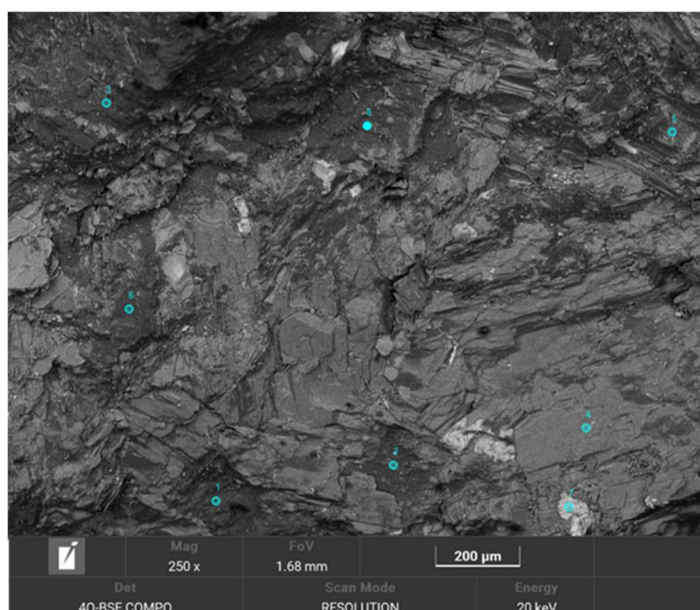


Figura 43| MEV da amostra AC2: 124,00.

### *6.3.3. Mapas de Varrimentos de microscópio eletrónico*

Através da análise dos mapas criados pelo varrimento da análise química elementar realizada por EDS é possível analisar quais os elementos químicos que se encontram associados numa dada espécie mineral. Além disso, esta é uma ferramenta útil na análise mineralógica. A criação destes mapas permite analisar a distribuição e concentração espacial dos elementos nas amostras permitindo assim interpretar o seu comportamento.

No primeiro mapa (Figura 44) é notória a abundância de minerais silicatados. Além disso, é possível observar que esta espécie mineral é constituída essencialmente por magnésio, podendo aparecer associado a este o cálcio e o alumínio. Apoiados pela análise mineralógica podemos afirmar que se trata de uma esmectite.

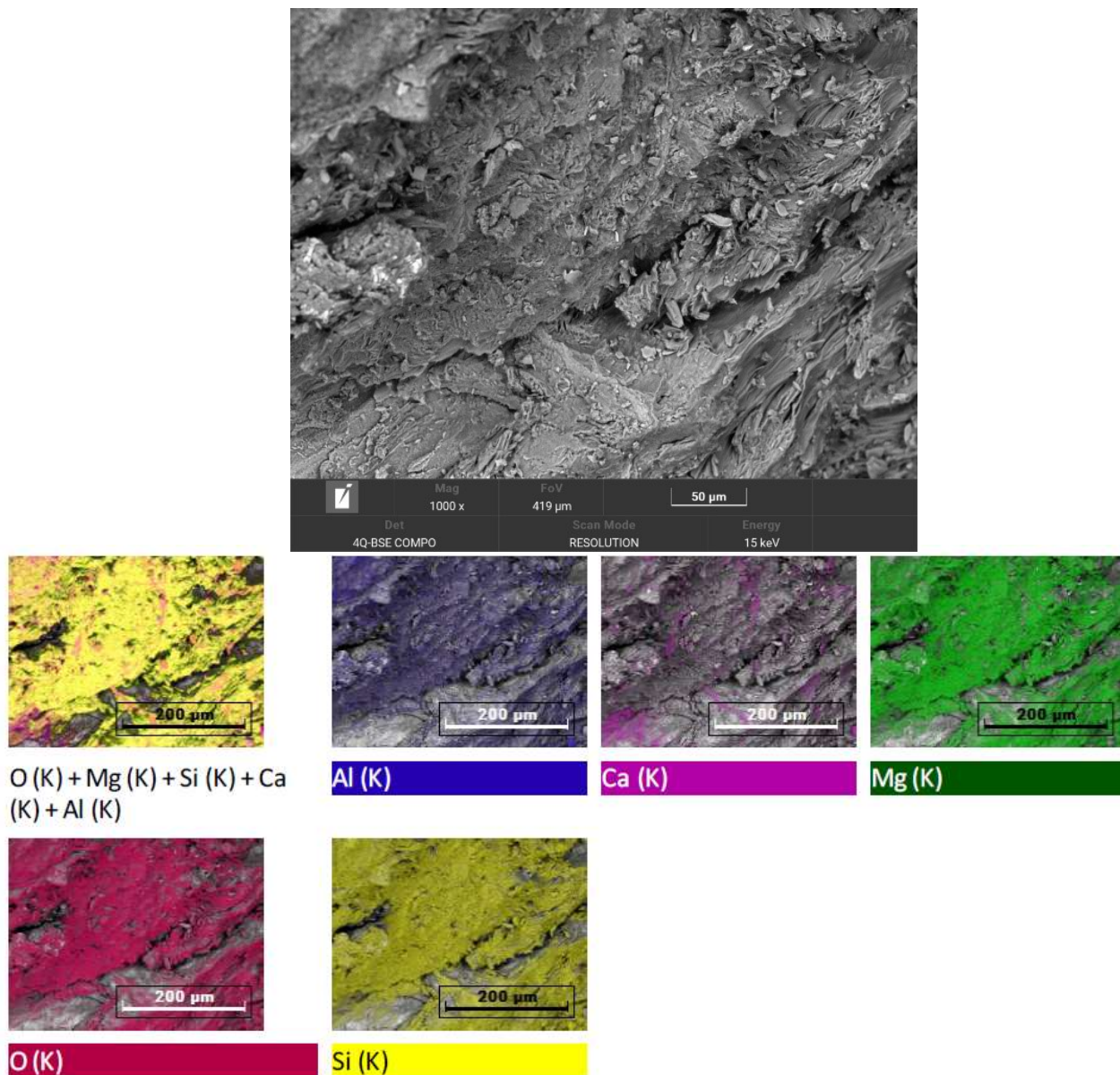


Figura 44| Fotografia do MEV e respetivo mapa da amostra AC2: 30,05.

A amostra 81,65 (Figura 45) foi escolhida para analisar por apresentar na sua composição mineralógica uma constituição maioritariamente de minerais de serpentina e uma quantidade vestigial de vermiculite. No mapa relativo à amostra é notório a forte associação de magnésio, sílica e oxigénio validando assim o predomínio de minerais de serpentina na amostra.

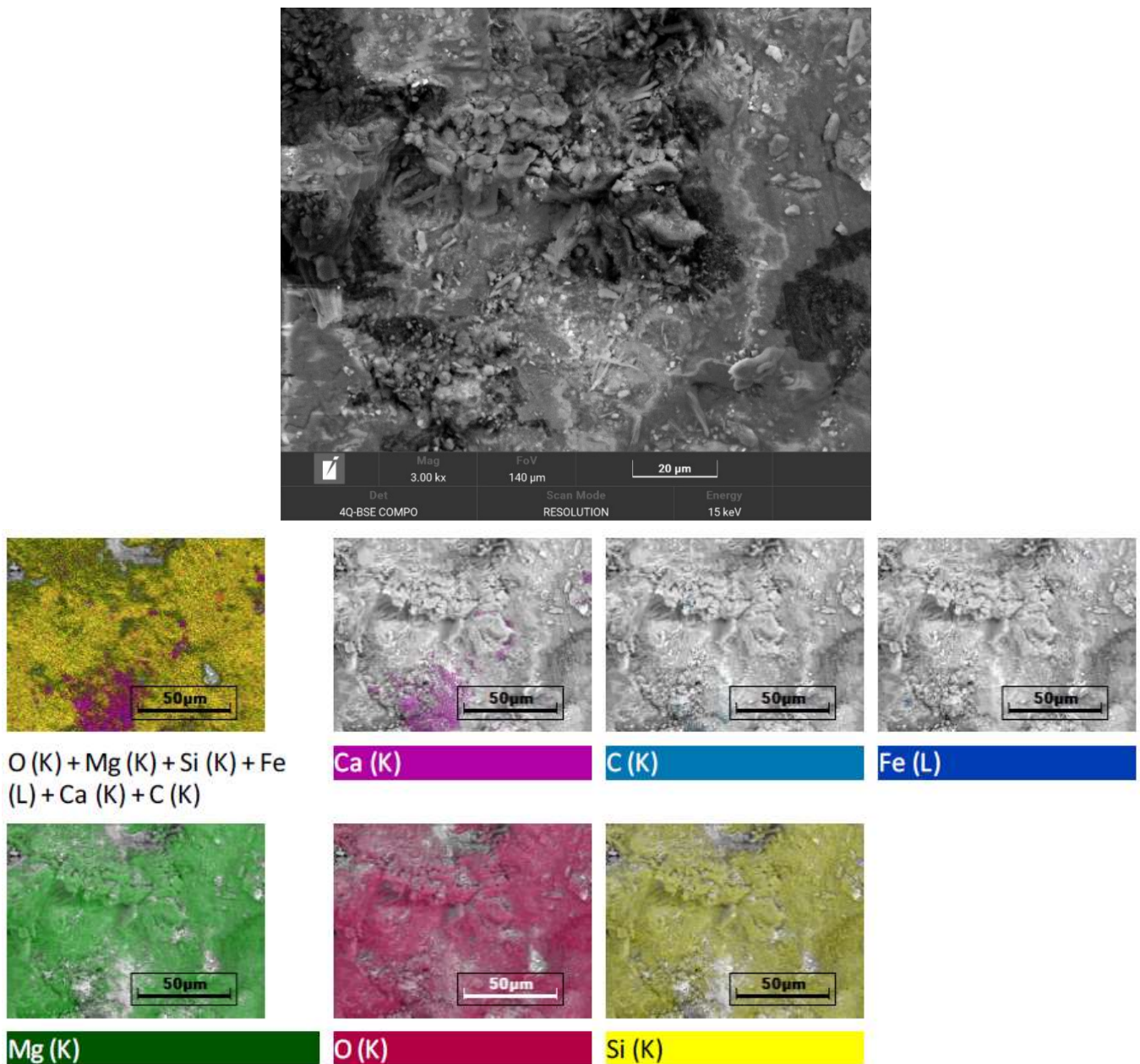


Figura 45 | Fotografia do MEV e respetivo mapa da amostra AC2: 30,05.

O microscópio eletrónico consegue também analisar a superfície das lâminas delgadas. Este aspeto é facilmente identificado pelo aspeto polido dos minerais na imagem do microscópio, sendo contrastante com todas as outras até agora apresentadas. Assim sendo foi analisada em forma de teste uma porção da lâmina delgada da amostra 96,10 (1) (Figura 46).

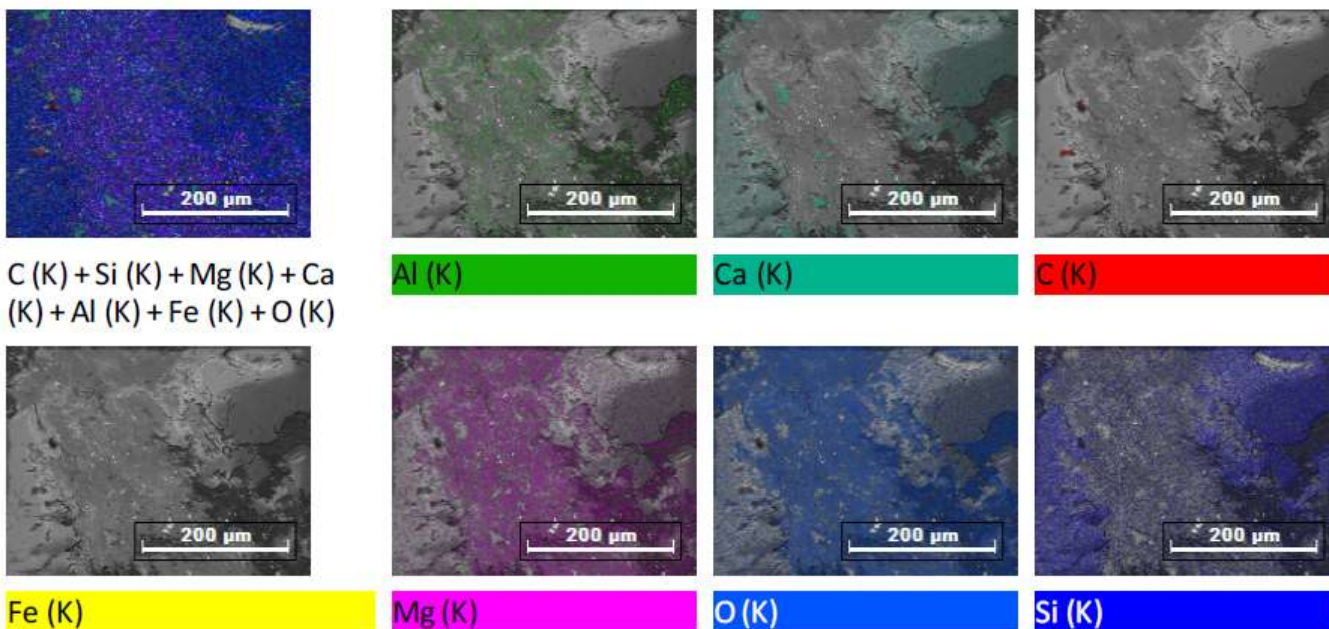
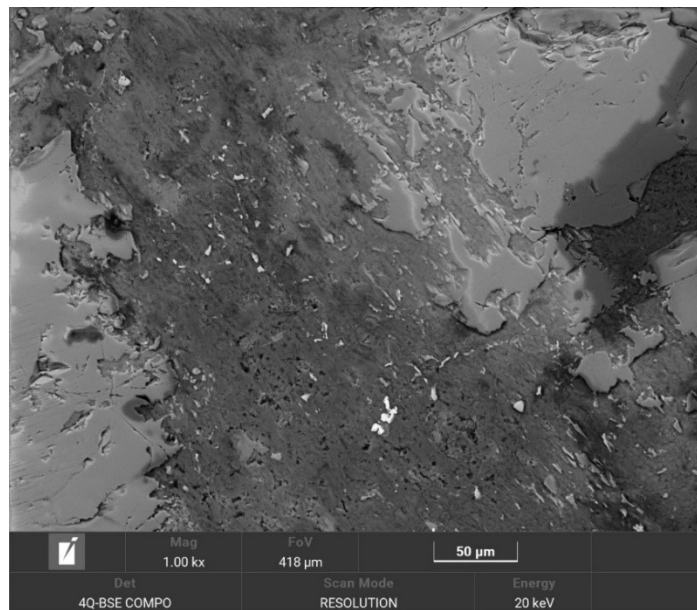


Figura 46|Fotografia do MEV e respetivo mapa da lâmina delgada da amostra AC2: 96,10(1).

Através dos mapas criados pela análise química EDS da amostra é possível constatar na amostra a coexistência de alumínio, magnésio e oxigénio possivelmente relacionada com a presença de flogopite. Além disso, verifica-se a associação de sílica e cálcio com quantidades menores de magnésio e oxigénio com a existência de piroxenas nas amostras (Tabela 5).

## 6.4. Componente Orgânica das amostras

Com o intuito de procurar bioassinaturas foram realizados dois ensaios, a microscopia de fluorescência e a extração e identificação das comunidades microbiológicas presentes nestas amostras.

A microscopia de fluorescência foi realizada na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto com a orientação da Professora Doutora Deolinda Flores. Com esta técnica foram analisadas 3 lâminas delgadas com emersão em óleo. A análise das bactérias e archeas realizou-se através de um processo de análise e extração do gene 16S rRNA. Inicialmente, o processo teve lugar no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e, posteriormente a segunda etapa destas análises estão a decorrer (durante a redação desta dissertação), no California Institute of Technology ao cuidado da Doutora Aidyl Gonzalez-Serricchio.

### 6.4.1 Microscopia de fluorescência

Da totalidade de amostras, apenas 3 amostras foram analisadas através de microscopia de fluorescência (AC2 86,10 e AC2 96,10 e AC1 94,25.). Por sua vez, destas amostras apenas uma apresentou resultados positivos (Figura 47), isto é, foi possível detetar componente orgânica (AC1 94,25).

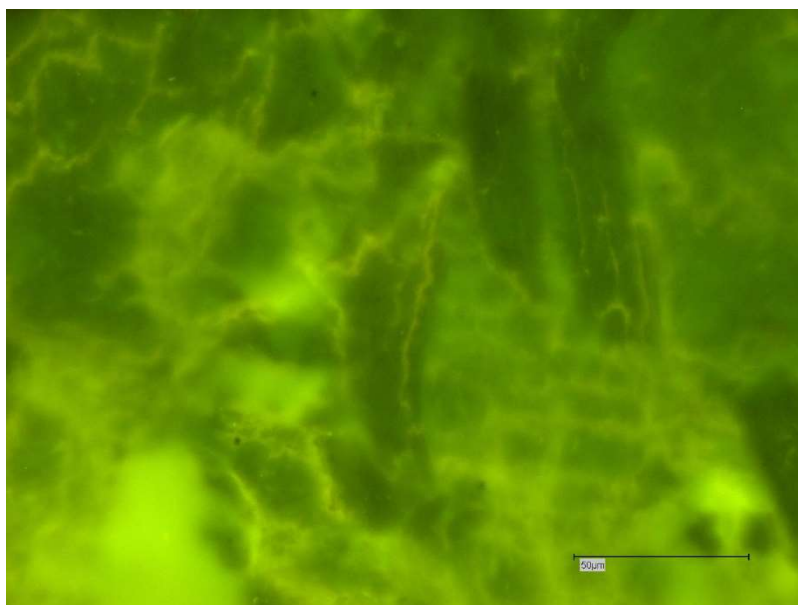


Figura 47|Fluorescência da amostra 94,25, onde se observa matéria orgânica em secções amareladas e alongadas.



Nesta imagem (Figura 47) é possível observar linhas num tom amarelado, o que corresponde a compostos orgânicos. Por outro lado, a componente inorgânica da amostra é apresentada por um tom verde-escuro.

Importante salientar que as observações referidas anteriormente são relativas quer ao olho do observador, quer relacionado com o equipamento, uma vez que, não existe ligação direta entre a cor da imagem e a composição do elemento analisado.

Assim, as conclusões desta técnica são essencialmente baseadas no contraste e na forma dos elementos. Com isto, a metodologia de análise adotada é meramente qualitativa, pelo que é possível quantificar o teor em matéria orgânica. Esta quantificação é normalmente realizada na avaliação de jazigos de hidrocarbonetos, sendo necessário para tal que a amostra passe por um ataque químico. O objetivo do mesmo é remover a componente inorgânica, deixando assim a componente orgânica concentrada.

A presença de quantidades visíveis de compostos orgânicos nas rochas carbonatadas pode estar relacionado com o elevado potencial de preservação de bioassinaturas dos carbonatos de ferro e magnésio. Embora não tão aprimorada, os filossilicatos de ferro e magnésio, possuem também capacidade de preservação da componente orgânica.

O facto de não ter sido encontrada evidências de matéria orgânica nas amostras serpentinizadas através da técnica utilizada pode estar relacionado com o facto de que a matéria orgânica está presente em pequenas quantidades dentro da estrutura dos minerais.

Estes resultados comprovam que os minerais alterados hidrotermalmente em ambientes de serpentinação continental podem preservar compostos orgânicos. Além disso, sugerem também que os elementos gerados no processo de serpentinação ficaram disponíveis nos fluídos hidrotermais e a matéria orgânica começou a desenvolver-se nas etapas finais da serpentinação.

A matéria orgânica visível encontrada nos carbonatos a 94 metros de profundidade comprovam a excelente capacidade dos mesmo em conservar matéria orgânica que pode ser utilizada como bioassinatura.

#### 6.4.2. Detecção e análise de Bactérias e Archeas

A primeira tentativa de extração de material genético realizada no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro consistiu na análise de 4 amostras, como já descrito anteriormente no capítulo 4, intitulado como materiais e métodos.

Numa primeira abordagem, aquando da quantificação do material genético extraído, apenas uma das quatro amostras (AC1 146,00) apresentou valores acima do limite mínimo de deteção do equipamento (Figura 48).



Figura 48|Análise quantitativa de material genético extraído da amostra AC1: 146,00.

Embora os resultados obtidos anteriormente tenham sido apenas positivos para uma amostra, durante o processo de extração, no decorrer da etapa de precipitação e ressuspensão, foi possível observar evidências de material extraído em várias amostras. Além disso, na etapa de purificação foi possível observar por comparação de cores quais as amostras que possuíam maior quantidade de material genético, Figura 49. As amostras que apresentam tonalidades mais carregadas / acentuadas são representativas de maior quantidade de material genético.

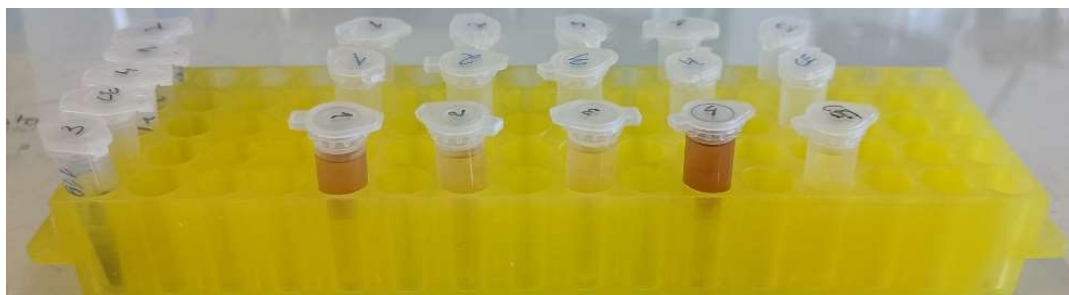


Figura 49|Purificação do material genético durante o processo de extração.

Tendo em conta a comparação das diferentes tonalidades correspondente a cada amostra, verificou-se que existe amostras cuja tonalidade é mais acentuada quando comparada com a tonalidade da amostra que até então apresentava valores positivos. Então, seria de esperar que também estas amostras, cuja tonalidade se assemelha à amostra com valor positivo, apresentassem alguma quantidade de material genético, o que não se verificou.

Não conformados com estes resultados, foram enviadas 6 amostras (adição das amostras 44,20 e 65,95) para o California Institute of Technology onde estão a ser analisadas (durante a redação desta dissertação) pela Doutora Aidyl Gonzalez-Serricchio, embaixadora da NASA Solar System Exploration, especialista neste tipo de trabalhos. A terceira etapa deste conjunto de procedimentos passou por eletroforese, permitindo assim confirmar a presença do gene 16S rRNA. Assim, de momento já é possível afirmar que das 6 amostras enviadas, 5 apresentaram valores de 16S rRNA que permitindo a continuação dos estudos até à determinação da espécie e subespécie das bactérias e ou Archeas presentes nas amostras.

Pela primeira vez foi possível detetar e extrair o gene 16S rRNA em amostras rochosas presentes num ambiente de serpentinização continental, a elevadas profundidades. Assim, justifica-se a aplicação desta mesma metodologia nas amostras recolhidas em Marte aquando da sua chegada ao planeta Terra.

Os resultados das análises em curso prometem informações valiosas sobre as funções ecológicas, a diversidade microbiana e a estrutura destas comunidades em ambientes de serpentinização continental, permitindo a evolução do conhecimento de ecossistemas microbianos em ambientes extremos. Estes resultados são relevantes não só para a astrobiologia como para o estudo e compreensão da origem da vida.

(Página propositadamente em branco)

## Capítulo 7: Conclusões

A presente dissertação tem como principal objetivo o estudo da serpentinização terrestre em Cabeço de Vide.

As recentes missões dos “rovers” em Marte permitem estudar, pela primeira vez, as condições de habitabilidade e a possibilidade de vida em outro planeta com dados *in situ*. Devido à importância do processo de serpentinização e o seu papel singular de possível impulsionador da origem de vida é crucial o conhecimento detalhado deste processo para a interpretação dos dados obtidos em Marte, contribuindo assim para a pesquisa da existência de vida passada ou atual nesse planeta. O conhecimento detalhado da mineralogia das serpentinas terrestres é crucial para a interpretação dos dados adquiridos em Marte e para contribuir para a pesquisa da existência de vida passada ou presente em Marte. É no seguimento desta necessidade que surge a presente dissertação que assenta essencialmente em três objetivos, com a recolha de 24 amostras de testemunhos das sondagens CdV AC1 e AC2 (entre 30 e 171 metros de profundidade) do complexo das termas da sulfúrea.

Com vista a dar resposta ao objetivo inicial foram definidas 3 áreas de atuação: Análise mineralógica com o intuito de estudar detalhadamente o processo de serpentinização e a sua evolução; análise química para perceber o comportamento e a evolução dos teores em elementos químicos no desenrolar do processo de serpentinização; investigação de bioassinaturas possivelmente contidas nas rochas serpentinizadas de Cabeço de Vide.

Do ponto de vista mineralógico a área de estudo é caracterizada por serpentinitos em alto estado de evolução com as suas amostras a apresentarem percentagens elevadas de minerais de serpentina. O predomínio de lizardite é um indicativo do elevado estado de alteração, devido ao facto de se tratar do mineral de serpentina mais estável às condições ambientais. A não deteção de brucite é também um indicador desse elevado estado da serpentinização, uma vez que, a mesma associa-se ao crisótilo para formar a lizardite, mais estável.

Como minerais acessórios nestas rochas são comumente encontrados óxidos de ferro (produto secundário do processo de serpentinização), alguma calcite e clorite e, em menor quantidade, outros minerais argilosos, tais como esmectite e vermiculite, provenientes da alteração dos minerais primários que não conduzem à formação de minerais de serpentina. Além disso, localmente são encontradas algumas zonas que não sofreram alteração tão acentuada. Este facto pode estar relacionado com a inexistência de fraturas, uma vez que estas permitem a circulação do fluido hidrotermal fundamental para o processo de serpentinização. Estas zonas podem conservar parte da mineralogia primária, tal como anfíbola, piroxena, olivina e flogopite. Foi possível concluir que o preenchimento das fraturas nas amostras recolhidas é maioritariamente composto por minerais de serpentina, encontrando-se, por vezes, calcite proveniente da precipitação de cálcio do fluido hidrotermal. Através do recurso ao microscópio petrográfico foi possível observar que as rochas serpentinizadas apresentam, do ponto de vista estrutural, uma textura não pseudomórfica interpenetrante caracterizada pela presença de lâminas alongadas de lizardite com uma cor avermelhada, o que sugere a possível alteração isomórfica de magnésio por ferro nas camadas octaédricas.

Do ponto de vista químico é notório o elevado teor de magnésio correspondente aos minerais de serpentina. Através da análise dos componentes principais verificou-se que o elemento químico que mais se correlaciona com magnésio é o teor de perda por ignição seguido da sílica, o que se encontra relacionado com o facto de esta ser um dos constituintes químicos dos minerais de serpentina e o teor de perda por ignição com a desidratação e desidroxilação dos minerais de serpentina, uma vez que, estes estão comumente hidratados. Não é notório uma influência da profundidade nos teores químicos, já que as amostras apresentam uma alteração uniforme em toda a sondagem.

O microscópio eletrónico de varrimento corroborou com as conclusões da análise mineralógica e química. O MEV demonstrou ser uma ferramenta imprescindível para confrontar as conclusões obtidas nas análises anteriores. Embora a mineralogia detetada nem sempre estivesse expressa na mineralogia total, os minerais em questão estavam representados na amostragem parcial o que demonstra a capacidade singular deste equipamento em realizar análises à microescala. Seria relevante como trabalho futuro a realização da identificação precisa dos minerais de serpentina, de modo a perceber a evolução crisólito, antigorite e lizardite ao longo da sondagem, uma vez que estes podem

ser um indicador de maturação do processo de alteração.

É também sugerido como trabalho futuro o estudo do aparecimento de nacrite nas amostras mais profundas, dando lugar a caulinite em direção à superfície antes do aparecimento das serpentinas, sugere a possibilidade deste processo ocorrer previamente à serpentinização, podendo constituir um indicador da mesma. Assim, para o estudo deste fenómeno seria relevante uma análise de Microscopia eletrónica de transmissão de alta resolução, mais conhecida pela sua sigla em inglês *HRTEM*.

Por último, relativamente à componente orgânica das amostras pode-se afirmar que esta está presente nas amostras mais profundas. Os resultados mais promissores foram obtidos nas rochas carbonatadas demonstrando assim a capacidade aprimorada dos carbonatos autigénicos em conservar bioassinaturas. Foi possível realizar, pela primeira vez, a extração do gene 16S rRNA que permite detetar e analisar bactérias e archaea. Esta análise encontra-se em curso no momento da redação deste documento. No entanto, a identificação e classificação da componente microbiana irá certamente fornecer informações valiosas sobre as funções ecológicas, a diversidade microbiana e a estrutura destas comunidades em ambientes de serpentinização continental, permitindo a evolução do conhecimento de ecossistemas microbianos em ambientes extremos. Estes resultados são relevantes não só para a astrobiologia como para o estudo e compreensão da origem da vida.

É importante referir que é a primeira vez que alguém tenta extrair RNA de amostras rochosas que se encontram a grandes profundidades em ambientes de serpentinização continental. Assim, este trabalho além de essencial para completar todo o conhecimento existente sobre a origem da vida é também inovador no que toca à técnica utilizada e em específico em locais com as características da área de estudo.

Em conclusão, este trabalho confirmou as semelhanças relativamente às características litológicas entre Cabeço de Vide e a cratera Jezero, ambos compostos por rochas ultramáficas serpentinizadas e carbonatos. Além disso, a similaridade na mineralogia de Cabeço de Vide e cratera Jezero, ambos contendo serpentinas, piroxenas, carbonatos ricos em Mg, Fe/Mg-esmectites e óxidos de Fe e ainda presença de matéria orgânica preservada em rochas de carbonato em ambos. A exploração de ambientes de

serpentinização continental como Cabeço de Vide é fundamental para a compreensão dos dados obtidos pelos “rovers” para além de enfatizar a importância de compreender o papel da serpentinização na formação de compostos orgânicos e o seu potencial suporte à vida microbiana.



## Bibliografia

### A

Alfreider, A., Vogt, C., Geiger-Kaiser, M., and Psenner, R. (2009), Distribution and diversity of autotrophic bacteria in groundwater systems based on the analysis of RuBisCO genotypes. *Syst Appl Microbiol* **32**: 140–150.

Amador, E. S., Bandfield, J. L., & Thomas, N. H. (2018), A search for minerals associated with serpentinization across Mars using CRISM spectral data. *Icarus*, *311*, 113–134. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2018.03.021>.

Anderson, R. B. (1984), The Fischer–Tropsch Synthesis, 301 pp., *Academic Press*, London.

Andrade, A. (1990), Aspetos práticos da determinação quantitativa dos elementos maiores em rochas, por espectrometria de fluorescência de raios X. *Geociências, Revista da Universidade de Aveiro*, *5* (2), pág. 91 – 118.

### B

Bailey, S.W., chairman (1980), Summary of recommendations of AIPEA (Association International Pour l'étude des Argiles) nomenclature committee on clay. *Am Mineral*, *65*: 1-7.

Banerdt, W. W. B. Banerdt, S. Smrekar, K. Hurst, P. Lognonné, T. Spohn, S. Asmar, D. Banfield, L. Boschi, U. Christensen, V. Dehant, W. Folkner, D. Giardini, W. Goetz, M. Golombek, M. Grott, T. Hudson, C. Johnson, G. Kargl, N. Kobayashi, J. Maki, D. Mimoun, A. Mocquet, P. Morgan, M. Panning, W. T. Pike, J. Tromp, T. van Zoest, R. Weber, M. Wicczorek (2013), InSight: a discovery mission to explore the interior of Mars. In *Lunar and Planetary Science Conference* vol. 44.

Barbato, A.B., Karunatilake S.K., Hood D.H., Vithanage, M.V. (2019) Variations in Serpentine Along the HC-VC Suture Zone of Sri Lanka: An Analogue for Studying Martian Serpentes. *50th Lunar and Planetary Science Conference*, held 18-22 March, 2019 at The Woodlands, Texas. LPI Contribution No. 2132, id.3143.

Baronnet, A., Andréani, M., Grauby, O., Devouard, B., Nitsche, S. & Chaudanson, D. (2007), Onion morphology and microstructure of polyhedral serpentine. *American Mineralogist*, *92*(4), 687–690. <https://doi.org/10.2138/am.2007.2388.b>

Black, B. A., and Manga, M. (2016), The eruptibility of magmas at Tharsis and Syrtis Major on Mars, *J. Geophys. Res. Planets*, *121*, 944–964, doi:10.1002/2016JE004998.

Blazejak, A., Kuever, J., Erséus, C., Amann, R., and Dubilier, N. (2006), Phylogeny of 16S rRNA, ribulose 1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase, and adenosine 5-phosphosulfate reductase genes from gamma and alphaproteobacterial symbionts in gutless marine worms (*Oligochaeta*) from Bermuda and the Bahamas. *Appl Environ Microbiol* *72*: 5527–5536.

Bloss, F. D. (1981), The Spindle Stage: Principles and Practice. *Cambridge University Press*, Cambridge, 340 p.

Brazelton, W.J., Nelson, B., and Schrenk, M.O. (2012), Metagenomic evidence for h(2) oxidation and h(2) production by serpentinite-hosted subsurface microbial communities. *Front Microbiol* *2*: 268.

Breuer, D., Spohn, T. (2003), Early plate tectonics versus single-plate tectonics on Mars: evidence

from magnetic field history and crust evolution. *J. Geophys. Res. Planets* 108, 5072. (doi:10.1029/2002JE001999).

Brindley, G. W. and Brown, G. (1980), Crystal Structures of Clay Minerals and Their X-Ray Identification. *Mineralogical Society Monograph No. 5*, London, Chapter 6. <https://doi.org/10.1180/mono-5>.

Brown, A. J., Viviano, C. E., Goudge, T. A. (2020), Olivine-Carbonate Mineralogy of the Jezero Crater Region. *Journal of Geophysical Research: Planets*, 125(3). <https://doi.org/10.1029/2019JE006011>.

Broz, A., Horgan, B., Kalucha, H., Garczynski, B., Haber, J., Dehouck, E., Hurowitz, J., Johnson, J., Bell, J., Mastcam-Z team (2023), *Diagenetic alteration of hogwallow flats, jezero crater, Mars*. 54th Lunar and Planetary Science Conference.

Bultel, B., Quantin-Nataf, C., Andréani, M., Clénet, H., Lozac'h L. (2015), Deep alteration between Hellas and Isidis Basins. *Icarus* 260, 141–160. (doi:10.1016/j.icarus.2015.06.037)

## C

Campos Júnior, L. M. (2014), Síntese e caracterização de óxidos magnéticos diluídos nanoestruturados preparados por moagem mecânica. *Universidade Federal de Alfnas*. <https://doi.org/10.13140/rg.2.2.21463.73127>.

Cardace, D., and Hoehler, T. M. (2009), Serpentinization fluids craft microbial habitat. *Soil and Biota of Serpentine: A World View Northeastern* 16 (Special Issue 5) **272**: 284.  
Hoehler, T.M. (2007) An energy balance concept for habitability. *Astrobiology* **7**: 824–838.

Carvalho, A. (2005), *Geologia Sedimentar: Sedimentologia* (1.a ed., Vol. 2). Lisboa: Âncora Editora.

Chacón, J., Oliveira, V., Ribeiro, A., Oliveira, J. T. (1983), La estructura de la Zona de Ossa Morena. Livro Jubilar J. M. Rios, *Geologia de España I*, 490-504.

Cheung, O., Hedín, N. (2014), Zeolites and related sorbents with narrow pores for CO<sub>2</sub> separation from flue gas. *Rsc Advances*, 4(28), 14480-14494.

Chisholm, M. F., (2007), *Scanning Microscopy for Nanotechnology*. New York, NY: Springer New York.

Christidis, G. (2011), Industrial clays. In G. Christidis (Ed.), *Advances in the characterization of industrial minerals* (pp. 341–414). *Mineralogical Society of Great Britain and Ireland*.

Comellas, J. M., Sharma, S. K., Gasda, P. J., Cousin, A., Mayhew, L., Brown, A. J., Acosta-Maeda, T. E., Dehouck, E., Veneranda, M., Connell, S., Cloutis, E., Ollila, A., Lanza, N., Clegg, S., Delapp, D., Maurice, S., & Wiens, R. C. (2023), The identification of serpentinization on mars with mars2020 supercam instrument. *54th Lunar and Planetary Science Conference*.

Connerney, J, Acuña M, Ness N, Kletetschka G, Mitchell D, Lin R, Reme H. (2005), Tectonic implications of Mars crustal magnetism. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 102, 14 970–14 975. (doi:10.1073/pnas.0507469102).

Costa, I. R., Barriga F, Mata J, Munhá J. M. (1993), Rodingitization and serpentinization processes in Alter-do-Chão Massif (NE Alentejo). In: Noronha F, Marques M, Nogueira P (Eds.). *Actas da IX Semana de Geoquímica* [Proc. IX Geochemical Week]. Universidade do Porto.

Faculdade de  
Ciências. Museu e Laboratório Mineralógico e Geológico, 27–31.

## D

Dana, J. D. and Hurlbut J. R. (1976), *Manual de Mineralogia*, Livros Técnicos e Científicos Editora, Rio de Janeiro. 2, 641.

Dehouck, E., Forni, O., Quantin-Nataf, C., Beck, P., Mangold, N., Royer, C., Clavé, E., Beyssac, O., Johnson, J. R., Mandon, L., Poulet, F., le Mouélic, S., Caravaca, G., Kalucha, H., Gibbons, E., Dromart, G., Gasda, P., Meslin, P.-Y., Schroeder, S., ... Wiens, R. C. (2019), Overview of the bedrock geochemistry and mineralogy observed by supercam during perseverance's delta front campaign. *54th Lunar and Planetary Science Conference*.

Dias, P. e Leal Gomes, C. (2005), Petrologia, geoquímica e análise paragenética em testemunhos da sondagem de Cabeço de Vide 2 – estudo das mineralizações de Ni, Cu, Co e P. G. E. *Relatório inédito para a Rio Narcea Gold Mines*, S. A., 34 pp.

Dobrea, E. Z. N. and Clark R. (2019), Detection of Serpentine at Jezero Crater. *50th Lunar and Planetary Science Conference*, 18-22 March, 2019 at The Woodlands, Texas. LPI Contribution No. 2132, id.1249.

## E

Egerton, R. F. (2005), *Physical Principles of Electron Microscopy*. Boston, MA: Springer US.

Ehlmann, B. L., Mustard JF, Murchie SL. (2010), Geologic setting of serpentine deposits on Mars. *Geophys. Res. Lett.* **37**, L06201. <https://doi.org/10.1029/2010GL042596>.

Ehlmann, B. L., Kelemen P.B., Pinet P., Mustard J.F., Launeau P., Ceuleneer G. (2012), Aqueous Alteration of Ultramafic Rocks in Oman: An Analog for Understanding Carbonate and Serpentine on Mars. *43rd Lunar and Planetary Science Conference*, March 19-23, 2012 at The Woodlands, Texas. LPI Contribution No. 1659, id.1471.

Etiopie, G., Sherwood Lollar, B. (2013), Abiotic methane on Earth. *Rev. Geophys.* **51**, 276–299.

Evans, B. W. (2004), The Serpentine Multisystem Revisited: Chrysotile Is Metastable. *International Geology Review*, **46**(6), 479–506. <https://doi.org/10.1080/00206814.2010.494384>.

## F

Ferris, J. P. (1992), Chemical markers of prebiotic chemistry in hydrothermal systems. *Orig Life Evol Biosph* **22**:109–134.

Fitz-Gibbon, S., Tomida, S., Chiu, B. H., Nguyen, L., Du, C., Liu, M., Elashoff, D., Erfe, M. C., Loncaric, A., Kim, J., Modlin, R. L., Miller, J. F., Sodergren, E., Craft, N., Weinstock, G. M., & Li, H. (2013), Propionibacterium acnes strain populations in the human skin microbiome associated with acne. *The Journal of investigative dermatology*, **133**(9), 2152–2160. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.21>.

Fortin, M. F. (1999), *O Processo de Investigação: da Conceção à Realização*. Loures: Lusociência.

Freissinet, C., Glavin, D. P., Mahaffy, P. R., Miller, K. E., Eigenbrode, J. L., Summons, R. E.,

Brunner, A. E., Buch, A., Szopa, C., Archer, P. D., Franz, H. B., Atreya, S. K., Brinckerhoff, W. B., Cabane, M., Coll, P., Conrad, P. G., Des Marais, D. J., Dworkin, J. P., Fairén, A. G., François, P., Zorzano, M. P., (2015), Organic molecules in the Sheepbed Mudstone, Gale Crater, Mars. *Journal of geophysical research. Planets*, 120(3), 495–514. <https://doi.org/10.1002/2014JE004737>.

Fries, M. D., Lee, C., Bhartia, R., Razzell Hollis, J., Beegle, L. W., Uckert, K., Graff, T. G., Abbey, W., Bailey, Z., Berger, E. L., Burton, A. S., Callaway, M. J., Cardarelli, E. L., Davis, K. N., DeFlores, L., Edgett, K. S., Fox, A. C., Garrison, D. H., Haney, N. C., Aileen Yingst, R. (2022), The SHERLOC Calibration Target on the Mars 2020 Perseverance Rover: Design, Operations, Outreach, and Future Human Exploration Functions. *Space Science Reviews*, 218(6). <https://doi.org/10.1007/s11214-022-00907-1>.

Früh-Green, G. L., Connolly J.A.D, Plas A., (2004), Serpentinization of oceanic peridotites: implications for geochemical cycles and biological activity. In: Wilcock, W.S.D., DeLong, E.F., Kelley, D.S., Baross, J.A., Cary, S.C. (Eds.). In: *The Subseafloor Biosphere At Mid-Ocean Ridges*, 144. *Geophysical Monograph Series*, pp. 119–136.

## G

Galhano, C., Rocha, F., Gomes, C., (1999), Geostatistical analysis of the influence of textural, mineralogical and geochemical parameters on the geotechnical behaviour of the “Argilas de Aveiro” formation (Portugal). *Clay Minerals*. Volume 34. 109-116. <https://doi.org/10.1180/000985599545966>.

Genova, A., Goossens S, Lemoine F. G., Mazarico E., Neumann G. A., Smith D.E., Zuber M.T. (2016), Seasonal and static gravity field of Mars from MGS, Mars Odyssey and MRO radio science. *Icarus* 272, 228–245. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2016.02.050>.

Glaeser, R. M., (2012), Electron microscopy of biological specimens in liquid water, *Biophys. J.*, vol. 103, n. 1, pp. 163–164.

Goldman, L. J., Greenfield L. I., Damle A.S., Kingsbury G. L., Northeim C. M. and Truesdale R. S. (1990), Clay liners for waste management facilities – Design, Construction and Evaluation, *Noyes Data Corporation*, Park Ridge, New Jersey, USA p11.

Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Echlin, P., Joy, D. C., Lyman, C. E., Lifshin, E., Sawyer, L., Michael, J. R., (2003), *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. Boston, MA: Springer US.

Gomes, C. S. F. (1979), *Raios X no estudo de minerais*. Universidade de Aveiro, 216 pp.

Gomes, C. S. F., (1988), *ARGILAS: O que são e para que servem*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Gomes, C. S. F., (2002), *Argilas, aplicações na indústria*. Aveiro: O Liberal, Empresa de Artes Gráficas, Lda.

Gomes, C. S. F., Hernandez, R., Sequeira, M. C., & Silva, J. B. P. (2012), Characterization of clays used for medicinal purposes in the archipelago of cape verde. *Geochimica Brasiliensis*, 23(3).

Gonçalves, F. (1973), Carta Geológica de Portugal à escala 1:50000 e notícia explicativa para a folha 32-BPortalegre. *Serv. Geol. Port.*

Goudge, T. A., Mustard, J. F., Head, J. W., Fassett, C. I., & Wiseman, S. M. (2015), Assessing the mineralogy of the watershed and fan deposits of the Jezero crater paleolake system, Mars. *Journal of Geophysical Research: Planets*, 120(4), 775–808. <https://doi.org/10.1002/2014JE004782>.

Grim, R. E. (1968), *Clay mineralogy*. Second Edition, McGraw-Hill, USA.

Gueudré, L., Binder, T., Chmelik, C., Hibbe, F., Ruthven, D. M., Kärger, J. (2012), Micro-imaging by interference microscopy: A case study of orientation-dependent guest diffusion in MFI-type zeolite host crystals. *Materials*, 5(4), 721-740.

## H

Hadfield, R. (1920), Applications of the microscope: The great work of Sorby. *Transactions of the Faraday Society*, volume 18, pp. 114-118.

Hancock, P. L. & Skinner, B. J. (2000), *The Oxford Companion to The Earth*. Oxford, New York: *Oxford University Press*. ISBN 0 19 854039 6. doi:10.1017/S0016756801215386

Harben, B.P.W. and Kuzvart, M. (1996), *Industrial minerals: A global geology*. London: *Ltd.*, Industrial Minerals information.

Hashimoto, S., Moon, H. R., & Yoon, K. B. (2007), Optical microscopy study of zeolite-dye composite materials. *Microporous and mesoporous materials*, 101(1-2), 10-18.

Hays, L. E., Graham, H. V., Des Marais, D. J., Hausrath, E. M., Horgan, B., McCollom, T. M., Parenteau, M. N., Potter-McIntyre, S. L., Williams, A. J., Lynch, K. L. (2017), Biosignature Preservation and Detection in Mars Analog Environments. *Astrobiology*. Apr;17(4):363-400. doi: 10.1089/ast.2016.1627. Epub 2017 Feb 8. PMID: 28177270; PMCID: PMC5478115.

Hoehler, T. M, Amend, J. P., and Shock, E. L. (2007), Introduction – a “Follow the energy” approach for astrobiology. *Astrobiology* 7, 819–823

Holm, N. G. and Andersson, E. M. (1998), Hydrothermal systems. In *The Molecular Origins of Life: Assembling Pieces of the Puzzle*, edited by A. Brack, *Cambridge University Press*, Cambridge, UK, pp 86–99.

Holm, N. G. and Neubeck, A. (2009), Reduction of nitrogen compounds in oceanic basement and its implications for HCN formation and abiotic organic synthesis. *Geochem Trans* 10, <https://doi.org/10.1186/1467-4866-10-9>.

Holm, N. G., Oze, C., Mousis, O., Waite, J. H., & Guilbert-Lepoutre, A. (2015), Serpentinization and the Formation of H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> on Celestial Bodies (Planets, Moons, Comets). *Astrobiology*, 15(7), 587–600. <https://doi.org/10.1089/ast.2014.1188>.

## I

Igwebike-Ossi, C. D. (2017), X-Ray Techniques. In (Ed.), *Failure Analysis and Prevention*. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72447>.

iMOST (2018), *The Potential Science and Engineering Value of Samples Delivered to Earth by Mars Sample Return*, (co-chairs D. W. Beaty, M. M. Grady, H. Y. McSween, E. Sefton-Nash; documentarian B.L. Carrier; plus 66 co-authors), 186 p. white paper. Posted August, 2018 by *MEPAG* at <https://mepag.jpl.nasa.gov/reports.cfm>.

Inkson, B. J., (2016), 2- Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) for Materials Characterization, *Mater. Charact. Using Nondestruct. Eval. Methods*, Woodhead Publishing, pp. 17–43, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X>.

Iyer, K. (2007), Mechanisms of serpentinization and some geochemical effects. *Faculty of Mathematics and Natural Sciences*. University of Oslo.

## J

Johnson, C. L., Mittelholz, A., Langlais, B., Russell, C. T., Ansan, V., Banfield, D., Chi, P. J., Fillingim, M. O., Forget, F., Haviland, H. F., Golombek, M., Joy, S., Lognonné, P., Liu, X., Michaut, C., Pan, L., Quantin-Nataf, C., Spiga, A., Stanley, S., Banerdt, W. B. (2020), Crustal and time-varying magnetic fields at the InSight landing site on Mars. *Nature Geoscience*, 13(3), 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41561-020-0537-x>.

Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B.-Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., & Weinstock, G. M., (2019), Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>.

Jolliffe, I. T. (2002), *Principal Component Analysis*, Series: Springer Series in Statistics, 2nd ed., Springer, NY, XXIX, 487 p. illus.

## K

Khalid, A., Khan, A.T., and Anwar, M.S. (2011), *X-Ray Fluorescence (XRF) spectrometry for materials analysis and “discovering” the atomic number*.

Kelemen, P. B. and Hirth, G. (2012), Reaction-driven cracking during retrograde metamorphism: olivine hydration and carbonation. *Earth Planet Sci Lett* 345:81–89.

Klein, C., Dana, J. Dwight & Dutrow, B. (2008), *The 23rd edition of the manual of mineral science* (after James D.Dana). 23rd ed. New York: Wiley.

Klein, C. & Dutrow, B. (2012), *Manual de ciência dos minerais*. 23ª edição. 724p. Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 724p.

Klein, F., Bach, W., and McCollom, T.M. (2013), Compositional controls on hydrogen generation during serpentinization of ultramafic rocks. *Lithos* 178:55–69.

## L

Le Gleuher, M., Livi, K. J. T., Veblen, D. R., Noack, Y. and Amouric, M., (1990), Serpentinization of Enstatite from Pernes, France: Reaction Microstructures and the Role of System Openness. *American Mineralogist*, 75, 813-824.

Leitz, E. (1921), *Polarising Microscopes and Projection Apparatus for Polarised Light*. E. Leitz, Inc., New York, 66 p.

Le Maitre, R. W. (2002), *Igneous Rocks: A Classification and Glossary of Terms*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Lichtman, J. W., Concello, J-A. (2005), *Fluorescence microscopy*, Nature Publishing Group,

*Nature Methods*, Vol2.Nº12, pag: 910-919.

Lillis, R. J., Dufek, J., Bleacher, J. E., Manga, M. (2009), Demagnetization of crust by magmatic intrusion near the Arsia Mons volcano: magnetic and thermal implications for the development of the Tharsis province, Mars. *J. Volcanol. Geotherm. Res.* 185, 123–138. <https://doi.org/10.1016/j.jvolgeores.2008.12.007>.

Lillis, R. J., Dufek, J., Kiefer, W. S., Black, B. A., Manga, M., Richardson, J. A., Bleacher, J. E. (2015), The Syrtis Major volcano, Mars: a multidisciplinary approach to interpreting its magmatic evolution and structural development. *J. Geophys. Res.: Planets* 120, 1476–1496. <https://doi.org/10.1002/2014JE004774>.

## M

Machado, F. B., Nardy, A. J. R., (2016), Mineralogia óptica. *Oficina de Textos*, São Paulo.

Mackenzie, R.C., (1957). The differential thermal investigation of clays. Publisher: *Mineralogical Society, London*.

Mangold, N., Gupta, S., Gasnault, O., Dromart, G., Tarnas, J. D., Sholes, S. F., Horgan, B., Quantin-Nataf, C., Brown, A. J., Le Mouélic, S., Yingst, R. A., Bell, J. F., Beyssac, O., Bosak, T., Calef, F., 3rd, Ehlmann, B. L., Farley, K. A., Grotzinger, J. P., Hickman-Lewis, K., Holm-Alwmark, S., Williford, K. H. (2021), Perseverance rover reveals an ancient delta-lake system and flood deposits at Jezero crater, Mars. *Science* (New York, N.Y.), 374(6568), 711–717. <https://doi.org/10.1126/science.abl4051>.

Marega, R., Prasetyanto, E. A., Michiels, C., De Cola, L., Bonifazi, D. (2016), Fast Targeting and Cancer Cell Uptake of Luminescent Antibody-Nanozeolite Bioconjugates. *Small*, 12(39), 5431–5441.

Marques, J. M., Carreira, P. M., Carvalho, M. R., Matias, M. J., Goff, F. E., Basto, M. J., Graça, R. C., Aires-Barros, L., Rocha, L., (2008), Origins of high pH mineral waters from ultramafic rocks, Central Portugal. *Appl. Geochem.* 23:3278-3289.

Marques, J. M., Etiopie, G., Neves, M. O., Carreira, P. M., Rocha, C., Vance, S. D., Christensen, L., Miller, A. Z., & Suzuki, S. (2018), Linking serpentinization, hyperalkaline mineral waters and abiotic methane production in continental peridotites: an integrated hydrogeological-bio-geochemical model from the Cabeço de Vide CH<sub>4</sub>-rich aquifer (Portugal). *Applied Geochemistry*, 96, 287–301. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.07.011>

Mellinger, R. M. (1979), Quantitative X-ray Diffraction Analysis of Clay Minerals. An Evaluation. *Saskatchewan Research Council*, Canada, SRC Report, G-79, pp. 1-46.

Mével, C., (2003), Serpentinization of abyssal peridotites at mid-ocean ridges. *Comptes Rendus Geoscience*, 335, 825-852.

Middleton, A. P., and Whittaker, E. J. W. (1976) The structure of Povlen-type chrysotile. *Can. Mineral.* 14, 301-6

Millan, M., Williams, A. J., McAdam, A. C., Eigenbrode, J. L., Steele, A., Freissinet, C., Glavin D. P., Szopa, C., Buch, A., Lewis, J. M. T., Wong, G. M., Casa, C. H., Sutter, B., McIntosh, O., Bryk, A. B., Franz, H. B., Pozarycki, C., Stern, J. C., Navarro-González, R., Arqueiro, D. P., Raposa, V., Bennet, K., Teinturier, S., Malespin, C., Johnson, S. S., Mahaffy, P. R. (2022), Sedimentary organics in Glen Torridon, Gale Crater, Mars: Results from the SAM instrument suite and supporting laboratory analyses. *Journal of Geophysical Research:*

*Planets*, 127, e2021JE007107. <https://doi.org/10.1029/2021JE007107>.

Millan, M., Szopa, C., Buch, A., Cabane, M., Teinturier, S., Mahaffy, P., & Johnson, S. S. (2019). Performance of the SAM gas chromatographic columns under simulated flight operating conditions for the analysis of chlorohydrocarbons on Mars. *Journal of chromatography. A*, 1598, 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.064>.

Moita, M. (2019), *Guia Turístico Alentejo*. Mário Moita. Retrieved from <https://www.perlego.com/book/2736395/guia-turistico-alentejo-como-conhecer-o-alentejo-em-3-dias-pdf> (Original work published 2019).

Moody, J. B. (1976), Serpentinization: a review. *Lithos* 9:125–138.

Moore, D. M. and Reynolds, R. C. Jr (1997), X-ray diffraction and the identification and analysis of clay minerals. *Clays and Clay Minerals*, 38, 447.

Mottl, M. J., Komor, S. C., Fryer, P., and Moyer, C. L. (2003), Deep-slab fluids fuel extremophilic archaea on a Mariana forearc serpentinite mud volcano: Ocean Drilling Program Leg 195. *Geochemistry Geophysics Geosystems* 4, <https://doi.org/10.1029/2003GC000588>.

## N

Nealson, K. H., Inagaki, F., and Takai, K. (2005), Hydrogendriven subsurface lithoautotrophic microbial ecosystems (SLiMEs): do they exist and why should we care? *Trends Microbiol* 13: 405–410.

Needham, G. H. (1958), *The Practical Use of the Microscope*. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 493 p.

Nesse, W. D. (1991), Introduction to Optical Mineralogy. *Oxford University Press*, New York, 335 p.

Neubeck, A., Nguyen, T. D., Hellevang, H., Oze, C., Bastviken, D., Baczik, Z., and Holm, N. G. (2014), Olivine alteration and H<sub>2</sub> production in carbonate-rich, low-temperature aqueous environments. *Planet Space Sci* 96:51–61.

Nooner, D. W., Gibert, J. M., Gelp, E., and Oro', J. (1976), Closed system Fischer-Tropsch synthesis over meteoritic iron, iron ore and iron-nickel alloy. *Geochim Cosmochim Acta* 40:915–924.

Núñez, R. J., Johnson, J. R., Rice, M. S., Horgan, B. N., Vaughan, A., Garczynski, B. J., Duflot, L. E., Million, C. C., St Clair, M., Merusi, M., Kinch, K. M., Hayes, A. G., Tate, C., Gupta, S., Barnes, R., Kah, L., Maki, J., Bell III, J. F., Benison, K. C., ... Team, M.-Z. (2023), *Spectral diversity along the delta front in Jezero crater, Mars as seen with mastcam-z on the Mars 2020 perseverance* (Vol. 12).

Nyquist, L. E., Bogard, D. D., Shih, C. Y., Greshake, A., Stöffler, D., Eugster, O. (2001), Ages and Geologic Histories of Martian Meteorites. In *Chronology and Evolution of Mars*, pp. 105–164. Schwenzer SP, Kring DA. 2013 Alteration minerals in impact-generated hydrothermal systems—exploring host rock variability. *Icarus* 226, 487–496. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2013.06.003>.



## O

Oehler, D. Z. and Etiope, G. (2017), Methane Seepage on Mars: Where to Look and Why. *Astrobiology*, 17, 1233-1264. <https://doi.org/10.1089/ast.2017.1>.

O'Hanley, D. S. (1996), Serpentinites: records of tectonic and petrological history. *Oxford Monographs on Geology and Geophysics*, 34.

Okland, I., Huang, S., Dahle, H., Thorseth, I.H., and Pedersen, R.B. (2012), Low temperature alteration of serpentinized ultramafic rock and implications for microbial life. *Chem Geol* 318–319:75–87.

Oliveira, A., Rocha, F., Rodrigues, A., Jouanneau, J., Dias, A., Weber, O., Gomes, C., (2002), Clay minerals from the sedimentary cover from the Northwest Iberian shelf. *Progress in Oceanography*. Volume 52. 233-247. [https://doi.org/10.1016/S0079-6611\(02\)00008-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6611(02)00008-3).

Oze, C., & Sharma, M. (2007). Serpentinization and the inorganic synthesis of H<sub>2</sub> in planetary surfaces. *Icarus*, 186, 557–561. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2006.09.012>

## P

Pinto, Z. A., Pañeda, A., Branco, C., Gomes, L., & Dias, P. A. (2006), *Cartografia Geológica do Complexo básico-ultrabásico de Cabeço*. VII Congresso Nacional de Geologia.

Pinto, Z., Pañeda, A., Castelo Branco, J. M. (2003), Área de Campo Maior. Relatório inédito de prospeção e pesquisa (2º semestre de 2003) da *Rio Narcea Gold Mines S. A.*, 26 p..

Portugal Ferreira, M., Mendonça, J. L. (1990), Enquadramento geológico e hidrogeológico das nascentes de água minero-medicinal de Cabeço de Vide. In: *Secção de Geologia Económica e Aplicada (Eds), Livro de Homenagem a Carlos Romariz*. Departamento de Geologia, Universidade de Lisboa, Lisboa, pp. 151–173.

Preiner, M., Xavier, J. C., Sousa, F. L., Zimorski, V., Neubeck, A., Lang, S. Q., Chris Greenwell, H., Kleiner, K., Tüysüz, H., McCollom, T. M., Holm, N. G., & Martin, W. F. (2018), Serpentinization: Connecting geochemistry, ancient metabolism and industrial hydrogenation. In *Life* (Vol. 8, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/life8040041>.

## Q

## R

Reynard, B. (2013), Serpentine in active subduction zones. *Lithos*, 178, 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.lithos.2012.10.012>.

Reynolds, R. C. (1980), Interstratified Clay Minerals. In: Brindley, G.W., Brown, G. (Eds.), *Crystal Structures of Clay Minerals and Their X-Ray Identification*. *Mineralogical Society of Great Britain and Ireland*, London, pp. 249–304.

Ribeiro da Costa, I., Barriga, F. J. A. S. (2022), Chromite Oxidation Patterns Associated to Serpentinization: Case Studies from the Mid-Atlantic Ridge, the Alter do Chão Massif (NE Alentejo, Portugal) and the Ronda Massif (Spain). *Minerals*, 12, 1300. <https://doi.org/10.3390/min12101300>.

Rocha, F., Costa, C., & Marques, J. M. (2017), Mineralogical Evidence of Hydrothermal Alteration in Cabeço de Vide Mafic – Ultramafic Complex, Central Portugal. *Procedia Earth and Planetary Science*, 17, 936–939. <https://doi.org/10.1016/j.proeps.2017.01.025>.

Russell, M. J., Barge, L. M., Bhartia, R. (2014), The drive to life on wet and icy worlds. *Astrobiology* 14, 308–343. <https://doi.org/10.1089/ast.2013.1110>.

## S

Schloss, P. D. & Handelsman, J., (2005), Introducing DOTUR, a computer program for defining operational taxonomic units and estimating species richness. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1501.

Schulte, M., Blake, D., Hoehler, T., and McCollom, T. (2006), Serpentinization and its implications for life on Earth and Mars. *Astrobiology* 6:364–376.

Schulz, H. (1999), Short history and present trends of Fischer–Tropsch synthesis, *Appl. Catal.*, 186, 3–12, [http://dx.doi.org/10.1016/S0926-860X\(99\)00160-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0926-860X(99)00160-X).

Schultz, L.G. (1964), Quantitative interpretation of mineralogical composition from X-ray and chemical data for the Pierre Shale. *U.S. Geological Survey, Professional Paper*, 391-C. pp.1-31.

Schwenzer, S. P., Kring, D. A. (2013) Alteration minerals in impact-generated hydrothermal systems—exploring host rock variability. *Icarus* 226, 487–496. (doi:10.1016/j.icarus.2013.06.003)

Seewald, J. S., Zolotov, M. Yu., and McCollom, T. M. (2006), Experimental investigation of single carbon compounds under hydrothermal conditions. *Geochim Cosmochim Acta* 70: 446–460.

Sharma, S., Roppel, R. D., Murphy, A. E., Beegle, L. W., Bhartia, R., Steele, A., Hollis, J. R., Siljeström, S., McCubbin, F. M., Asher, S. A., Abbey, W. J., Allwood, A. C., Berger, E. L., Bleefeld, B. L., Burton, A. S., Bykov, S. v., Cardarelli, E. L., Conrad, P. G., Corpolongo, A., Yanchilina, A. (2023), Diverse organic-mineral associations in Jezero crater, Mars. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06143-z>.

Sharp, T. G., Otten, M. T., & Buseck, P. R. (1990), Mineralogy and Petrology Serpentinization of phlogopite phenocrysts from a micaceous kimberlite. In *Contrib Mineral Petrol.*

Simon, J. I., Hickman-Lewis, K., Cohen, B. A., Mayhew, L. E., Shuster, D. L., Debaille, V., Hausrath, E. M., Weiss, B. P., Bosak, T., Zorzano, M. -P., Amundsen, H. E. F., Beegle, L. W., Bell, J. F., Benison, K. C., Berger, E. L., Beyssac, O., Brown, A. J., Calef, F., Casademont, T. M., Williford, K. H. (2023), Samples Collected From the Floor of Jezero Crater With the Mars 2020 Perseverance Rover. *Journal of Geophysical Research: Planets*, 128(6). <https://doi.org/10.1029/2022je007474>.

Sleep, N. H., Meibom, A., Fridriksson, Th., Coleman, R. G., Bird, D. K. (2004), H<sub>2</sub>-rich fluids from serpentinization: geochemical and biotic implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:12818–12823.

Smirnov, A., Hausner, D., Laffers, R., Strongin, D. R., Schoonen, M. A. A. (2008), Abiotic ammonium formation in the presence of Ni-Fe metals and alloys and its implications for the Hadean nitrogen cycle. *Geochem Trans* 9, doi:10.1186/1467-4866-9-5.

Stack, K. M., Williams, N. R., Calef, F., Sun, V. Z., Williford, K. H., Farley, K. A., Eide, S., Flannery, D., Hughes, C., Jacob, S. R., Kah, L. C., Meyen, F., Molina, A., Nataf, C. Q., Rice, M., Russell, P., Scheller, E., Seeger, C. H., Abbey, W. J., Aileen Yingst, R. (2020), Photogeologic Map of the Perseverance Rover Field Site in Jezero Crater Constructed by the Mars 2020 Science Team. *Space Science Reviews*, 216(8), 127. <https://doi.org/10.1007/s11214-020-00739-x>

Steele, A., Benning, L. G., Wirth, R., Schreiber, A., Araki, T., Mccubbin, F. M., Fries, M. D., Nittler, L. R., Wang, J., Hallis, L. J., Conrad, P. G., Conley, C., Vitale, S., O'brien, A. C., Riggi, V., & Rogers, K. (2023), *Organic synthesis associated with serpentinization and carbonation on early Mars*. <https://www.science.org>.

Szopa, C., Freissinet, C., Glavin, D. P., Millan, M., Buch, A., Franz, H. B., Summons, R. E., Sumner, D. Y., Sutter, B., Eigenbrode, J. L., Williams, R. H., Navarro-González, R., Guzman, M., Malespin, C., Teinturier, S., Mahaffy, P. R., & Cabane, M. (2020), First Detections of Dichlorobenzene Isomers and Trichloromethylpropane from Organic Matter Indigenous to Mars Mudstone in Gale Crater, Mars: Results from the Sample Analysis at Mars Instrument Onboard the Curiosity Rover. *Astrobiology*, 20(2), 292–306. <https://doi.org/10.1089/ast.2018.1908>.

Szponar, N., Brazelton, W. J., Schrenk, M. O., Bower, D. M., Steele, A., & Morrill, P. L. (2013), Geochemistry of a continental site of serpentinization, the Tablelands Ophiolite, Gros Morne National Park: A Mars analogue. *Icarus*, 224(2), 286–296. <https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.07.004>

## T

Taylor, G. J. (2013). The bulk composition of Mars. *Geochemistry*, 73(4), 401–420. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2013.09.006>

Terai, T., Nagano, T. (2013), Small-molecule fluorophores and fluorescent probes for bioimaging, *Pflugers Arch*, 465(3), 347-59.

Thorez, J. (1976) Practical Identification of Clay Minerals. In A Handbook for Teachers and Students I. *Clay Mineralogy*, G. Lelotte, Dison, Belgique, 90.

Torrado, P. V., Macias, F., Calvo, R., De Carvalho, S. G., Silva, A. C. (2006), Gênese de solos derivados de rochas ultramáficas serpentinizadas no sudoeste de Minas Gerais. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. p. 523-541.

Terroso, D. (2005), Argilas / Lamas e Águas Termiais das Furnas (Açores): Avaliação das Propriedades Físicas e Químicas relevantes para a utilização em Peloterapia. [Dissertação de mestrado, Universidade de Aveiro] *Repositório Institucional da Universidade de Aveiro*. <http://hdl.handle.net/10773/4993>.

Tornos, F., Inverno, C. M. C., Casquet, C., Mateus, A., Ortiz, G. e Oliveira, V. (2004), The Metallogenic evolution of the Ossa-Morena Zone. *Journal of Iberian Geology* pp.143-181.

## U

## V

Vance, S. D. and Melwani Daswani, M. (2020), Serpentinite and the search for life beyond Earth. In *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* (Vol. 378, Issue 2165). *Royal Society Publishing*. <https://doi.org/10.1098/rsta.2018.0421>.

Velde, B. (1992), Introduction to clay minerals: Chemistry, origins, uses and environmental significance. London: Chapman and Hall. *Geological Journal*, 24, 385-386.

<https://doi.org/10.1002/gj.3350290412>.

Velho, J. L. (2015), *Caulino - Mineral Industrial*, 1a Parte: Mineralogia e Génese (Geociência). Coimbra: Simões e Linhares.

Veríssimo, T. I. A. (2013), Microbial and functional diversity of a subterrestrial high pH groundwater associated to serpentinization. *Environmental Microbiology*, 15(6), 1687–1706. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12034>.

Vetriani, C., Jannasch, H., MacGregor, B., Stahl, D., Reysenbach, A. (1999), Population structure and phylogenetic characterization of marine benthic archaea in deep-sea sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:4375–4384.

Viti, C., Mellini, M., Rumori, C., (2005), Exsolution and hydration of pyroxenes from partially serpentinized harzburgites. *Mineralogical Magazine*, 69, 491–507.

Viviano, C. E., Moersch, J. E., McSween, H. Y. (2013), Implications for early hydrothermal environments on Mars through the spectral evidence for carbonation and chloritization reactions in the Nili Fossae region. *J. Geophys. Res.: Planets* 118, 1858–1872. <https://doi.org/10.1002/jgre.20141>.

Volk, M. W. R., Fu, R. R., Mittelholz, A., & Day, J. M. D. (2021), Paleointensity and rock magnetism of Martian nakhlite meteorite miller range 03346: Evidence for intense small-scale crustal magnetization on Mars. *Journal of Geophysical Research: Planets*, 126, e2021JE006856. <https://doi.org/10.1029/2021JE006856>.

## W

Warr, L. N. (2021), IMA–CNMNC approved mineral symbols. *Mineralogical Magazine*, 85(3), 291–320. <https://doi.org/10.1180/mgm.2021.43>.

Webster, C. R., Mahaffy, P. R., Atreya, S. K., Flesch, G. J., Farley, K. A., Team, M. S. L. S., Kemppinen, O., Bridges, N., Johnson, J. R., Minitti, M., Cremers, D., Bell, J. F., Edgar, L., Farmer, J., Godber, A., Wadhwa, M., Wellington, D., McEwan, I., Newman, C., Moores, J. E. (2013), Low Upper Limit to Methane Abundance on Mars. *Science*, 342(6156), 355–357. <https://doi.org/10.1126/science.1242902>.

Wicks, F. and O’Hanley, D. (1988). Chapter 5. SERPENTINE MINERALS: STRUCTURES AND PETROLOGY. In S. Bailey (Ed.), *Hydrous Phyllosilicates: (Exclusive of Micas)* (pp. 91–168). Berlin, Boston: De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9781501508998-010>.

Wicks, F. J., Whittaker, E. J. W. (1977), Serpentine textures and serpentinization. *The Canadian Mineralogist*. 15 (4): 459–488.

Williams, A., Russell, P., Sun, V., Shuster, D., Stack, K., Farley, K., del Sesto, T., Kronyak, R., Bell III, J., Beyssac, O., Brown, A., Caravaca, G., Gupta, S., Núñez, J., Randazzo, N., Simon, J., & Wadhwa, M. (2023), Exploring the jezero delta front: overview of results from the mars 2020 perseverance rover’s second science campaign. *54th Lunar and Planetary Science Conference*.

## X

## Y

Yada, K. & Iishi, K. (1977), Growth and microstructure of synthetic chrysotile. *American Mineralogist*, 62(9–10), 958–965.

Yalçın, H., & Bozkaya, Ö. (2016), Sivas-Divriği Demir Yatağı Kireçtaşı-Ofiyolit-Granitoyid Üçlü Dokanağında Flogopit Oluşumları Phlogopite Occurrences within Limestone-Ophiolite-Granitoid Triple Contact from Sivas-Divriği Iron Deposit. In *Türkiye Jeoloji Bülteni Geological Bulletin of Turkey Cilt* (Vol. 59, Issue 1).

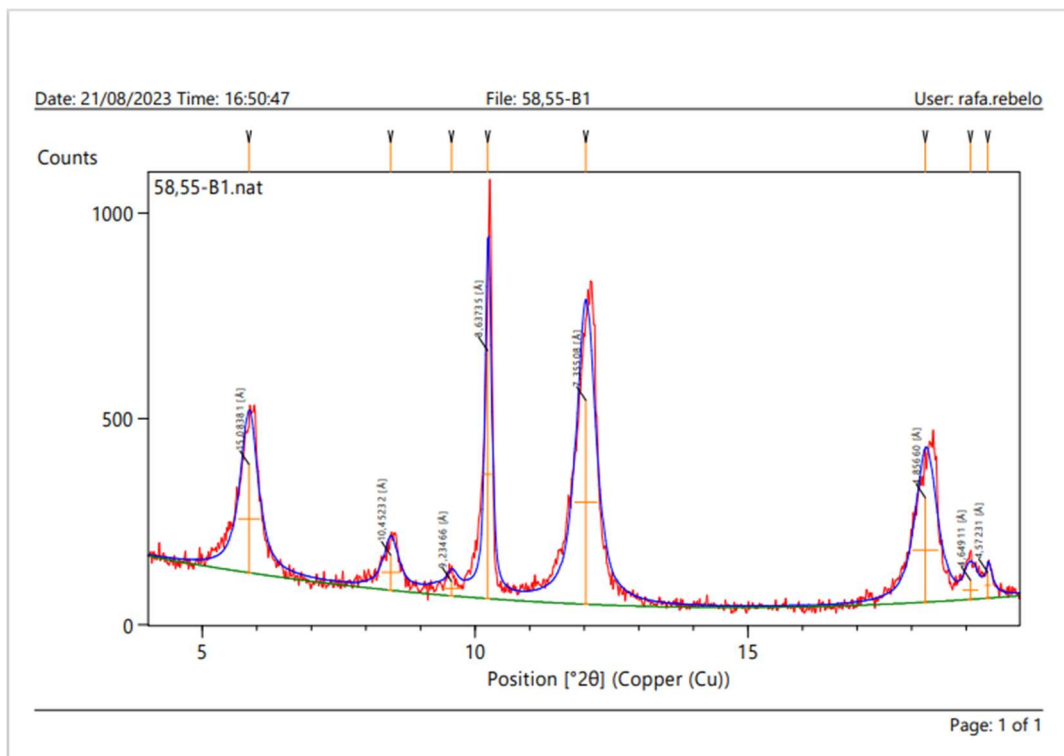
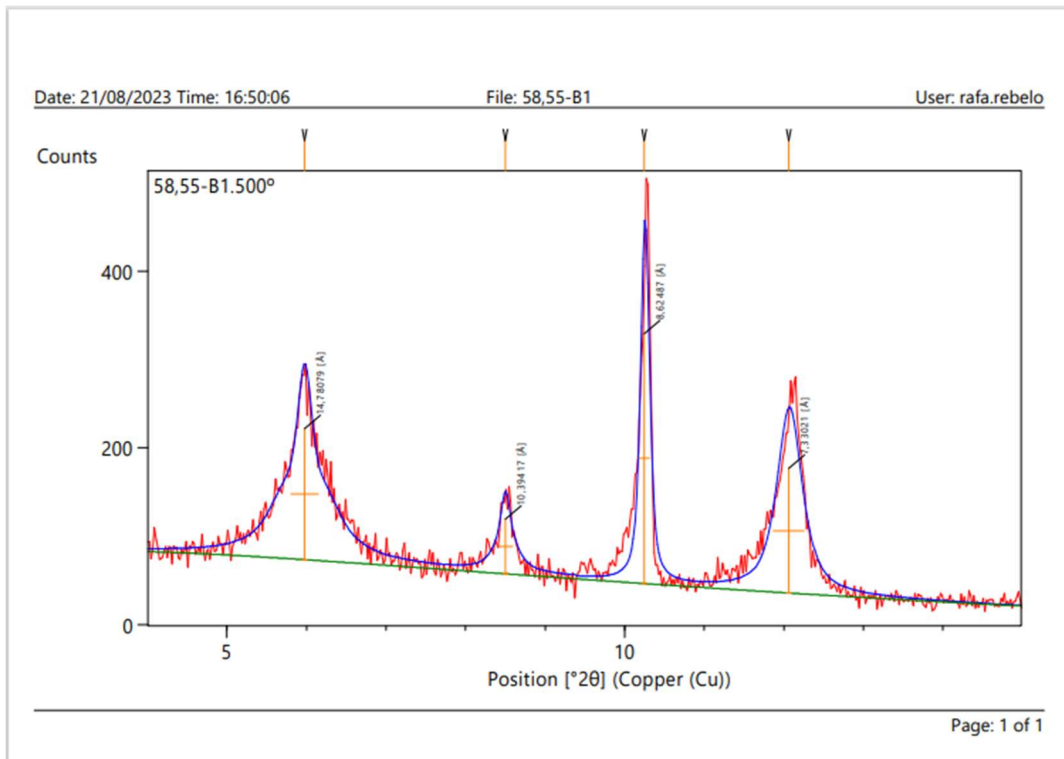
## Z

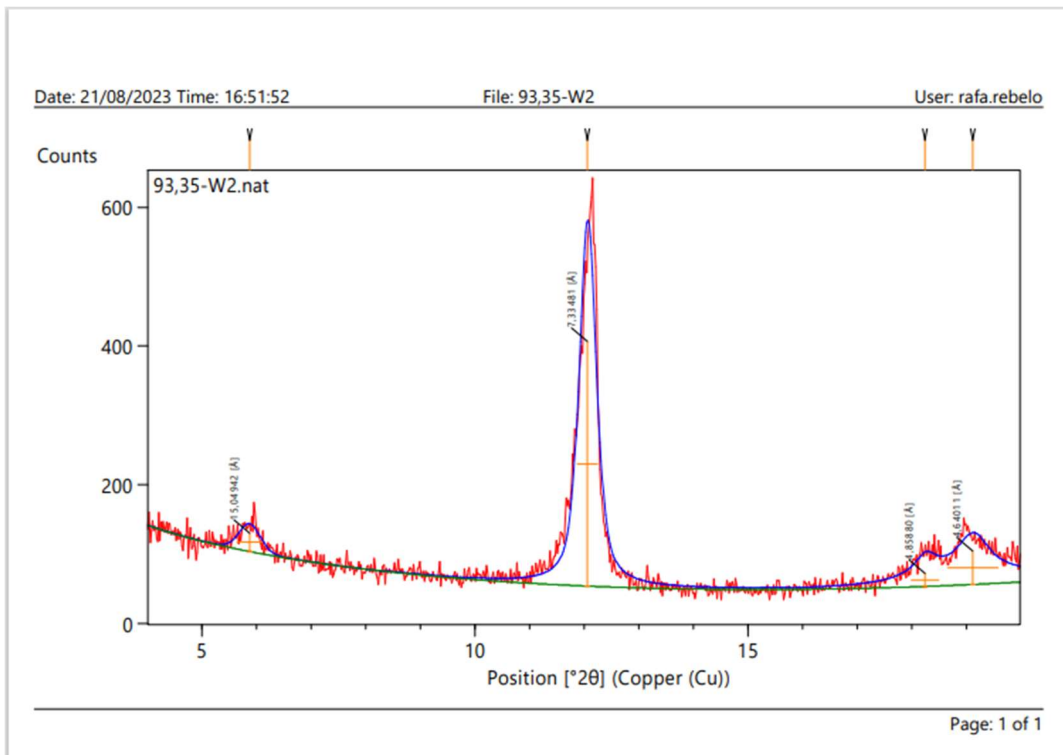
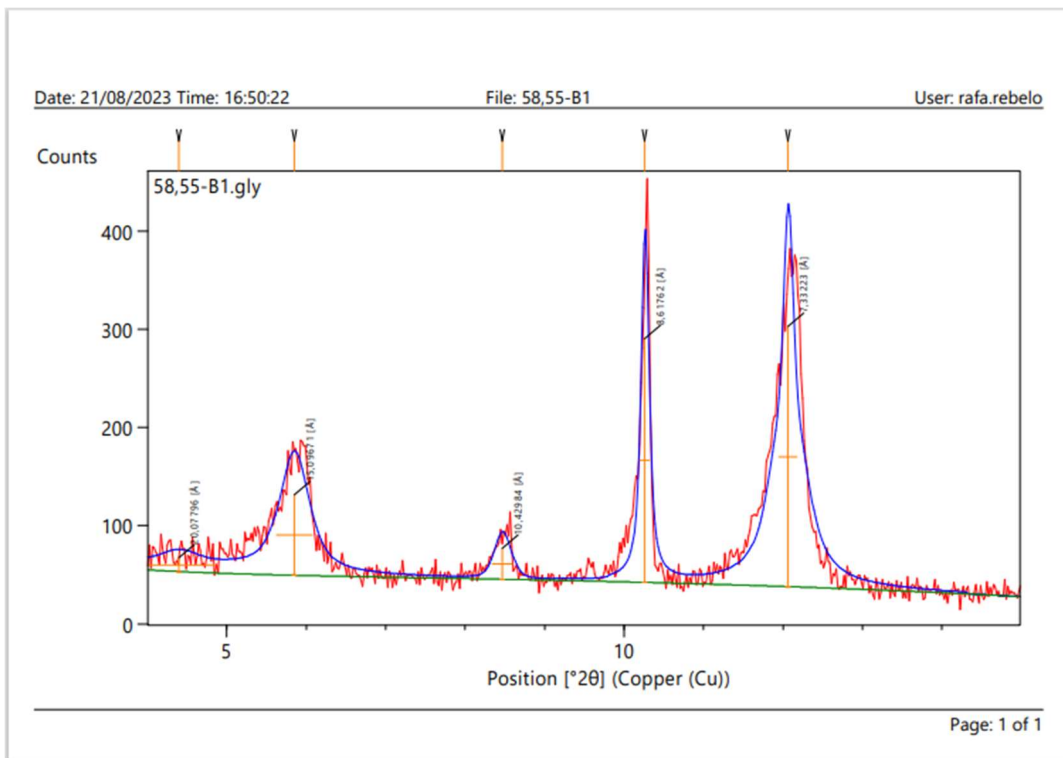
Zuber, M., Solomon, S., Phillips, R., Smith, D., Tyler, G., Aharonson, O., Balmino, G., Banerdt, W., Head, J., Johnson, C. L., Lemoine, F., McGovern, P., Neumann, G., Rowlands, D., & Zhong, S. (2000), Internal Structure and Early Thermal Evolution of Mars from Mars Global Surveyor Topography and Gravity. *Science*, 287, 1788–1793. <https://doi.org/10.1126/science.287.5459.1788>

**(Página propositadamente em branco)**

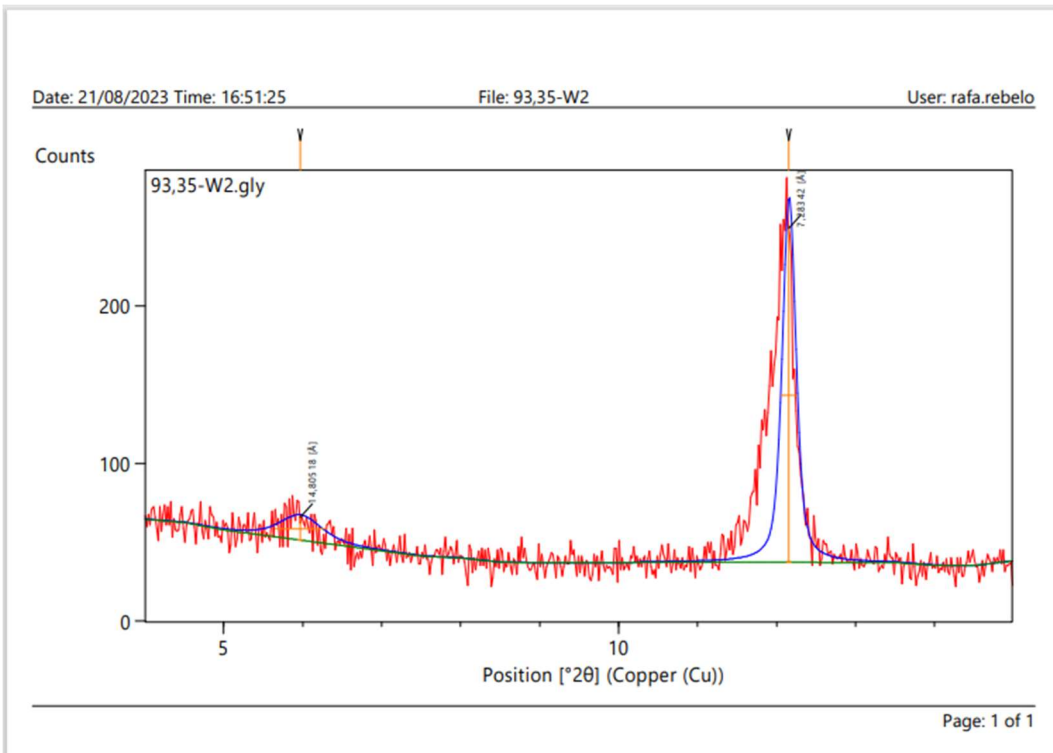
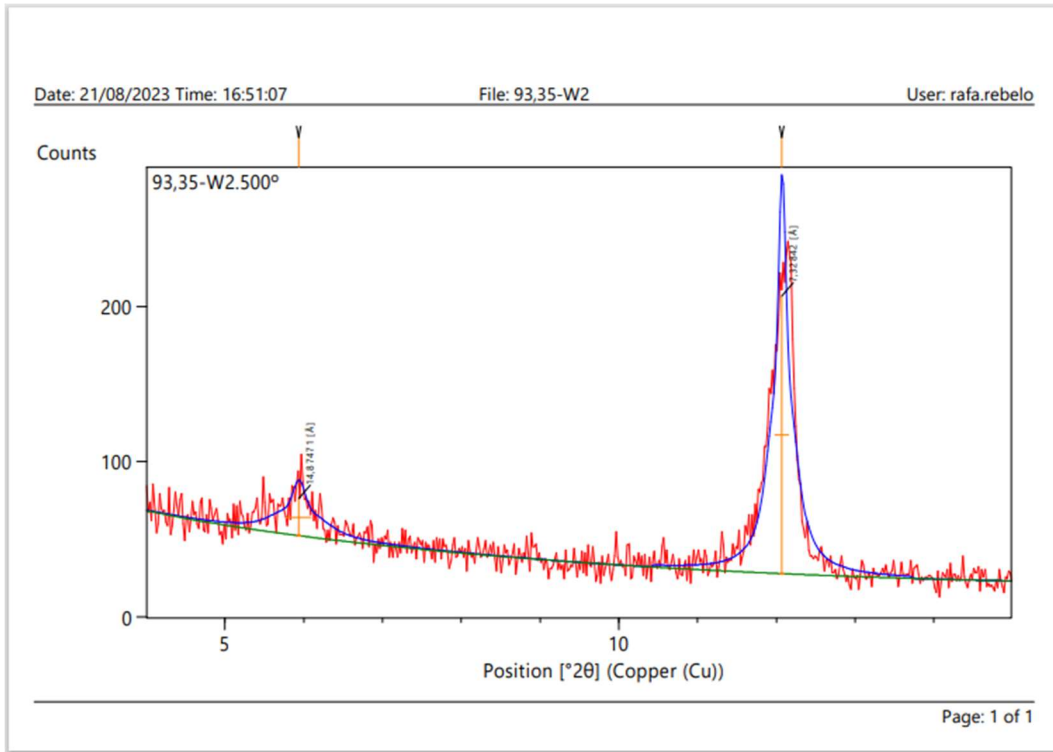
## Anexos

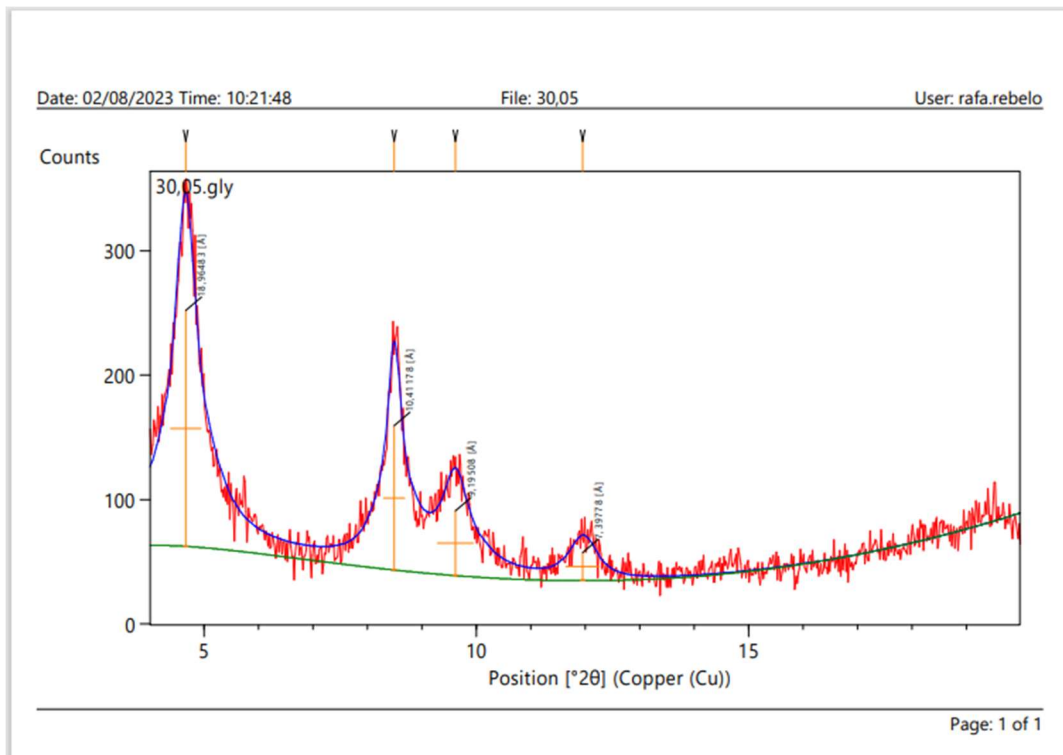
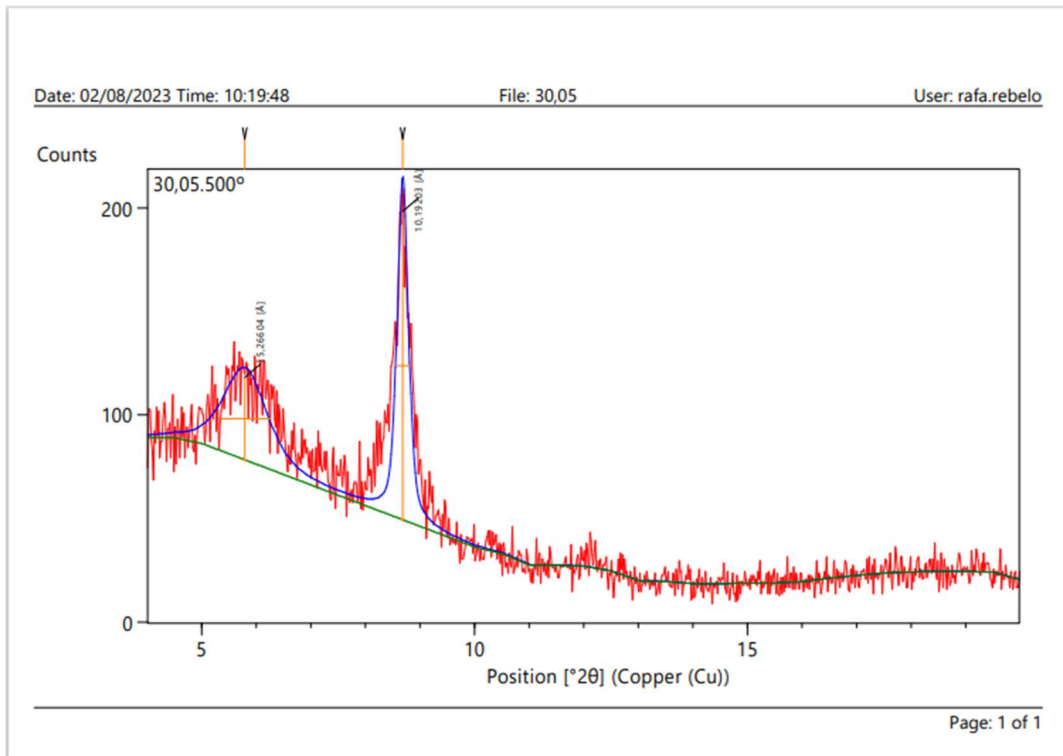
### Anexos 1: Difractogramas Agregados orientados

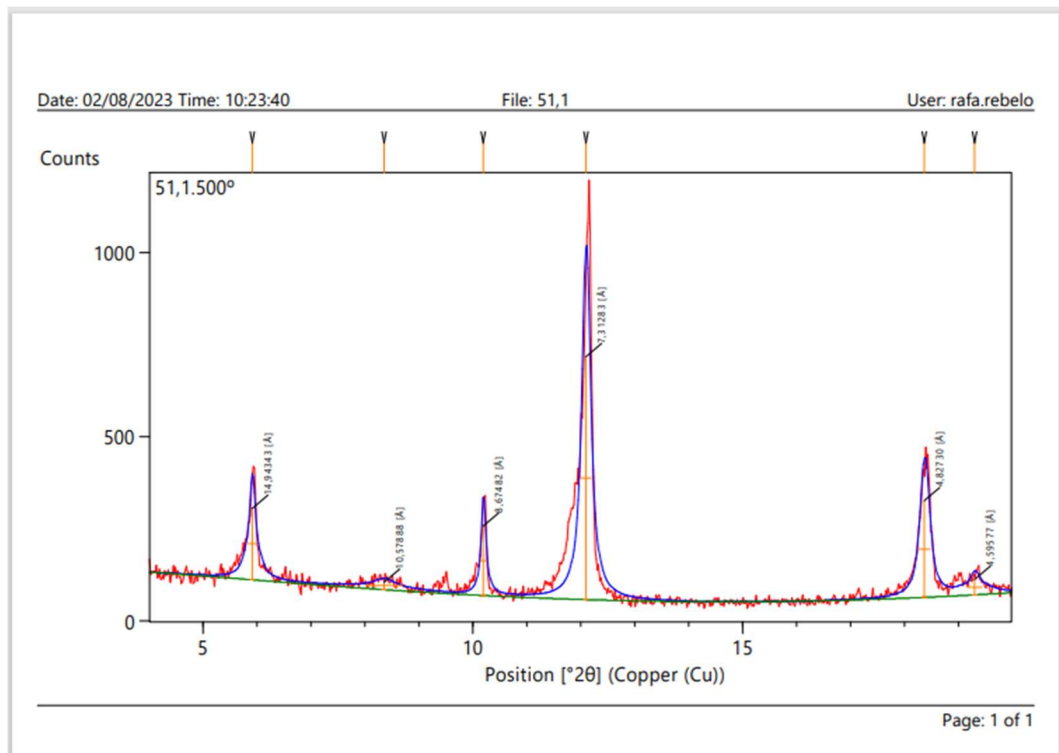
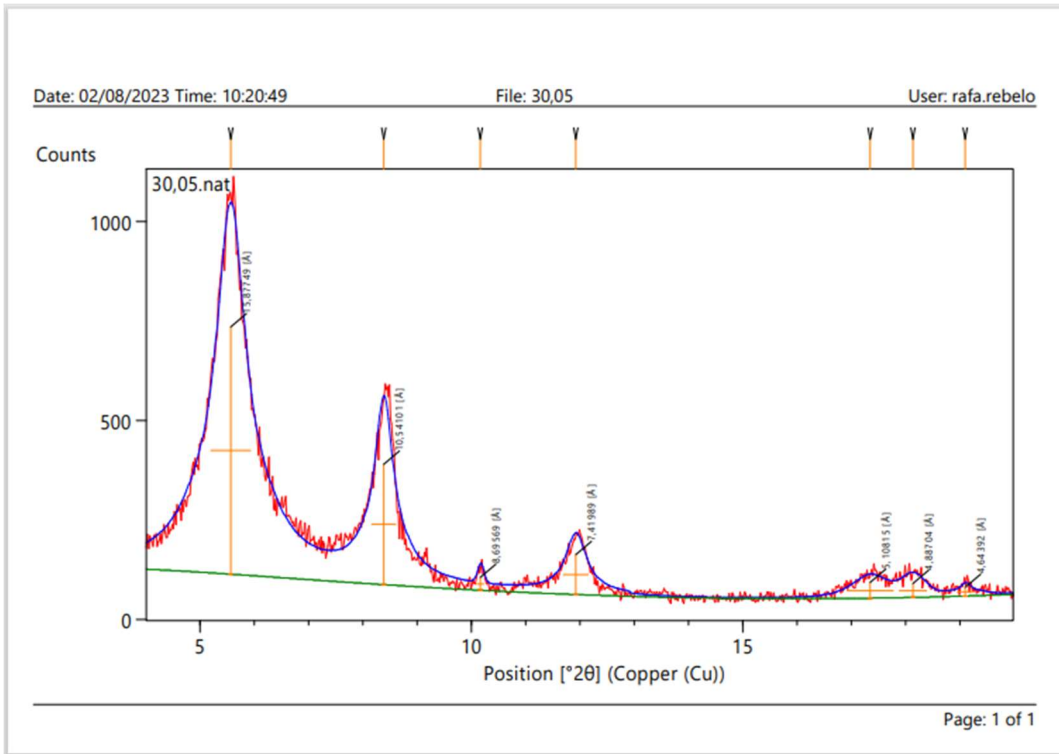


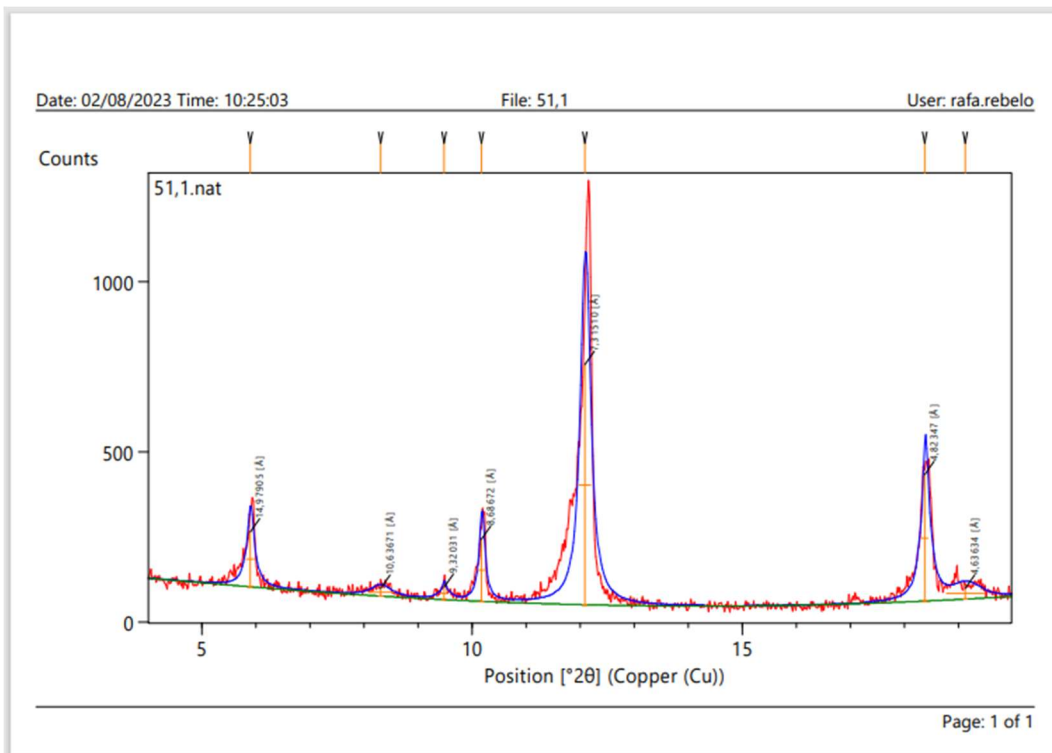
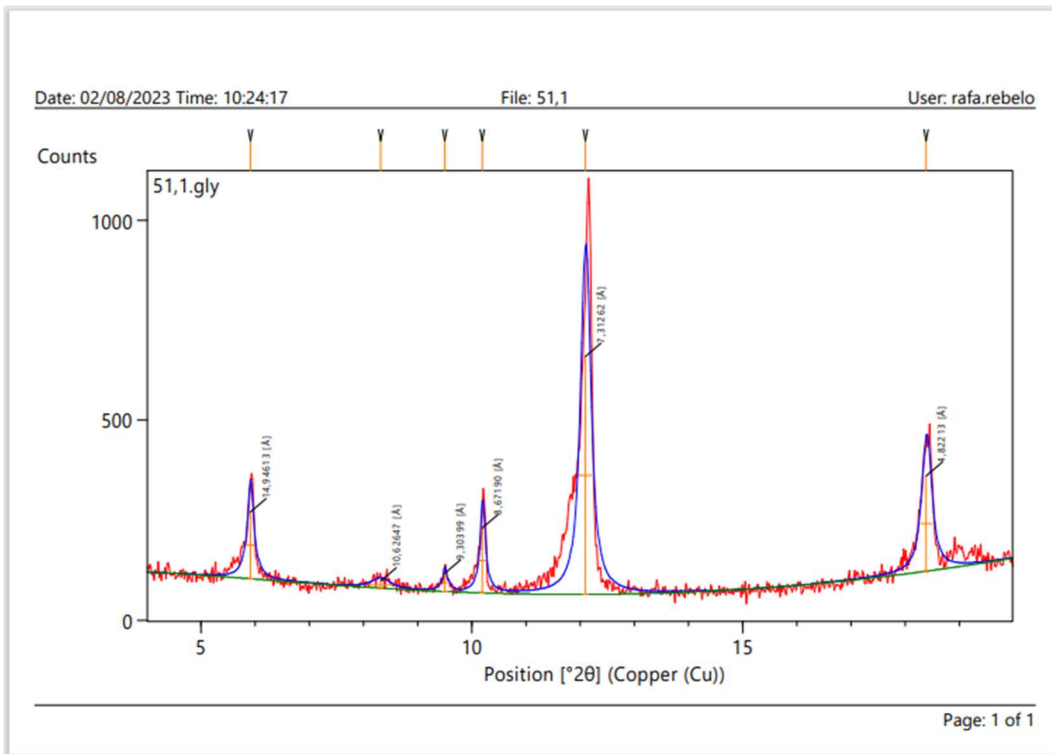


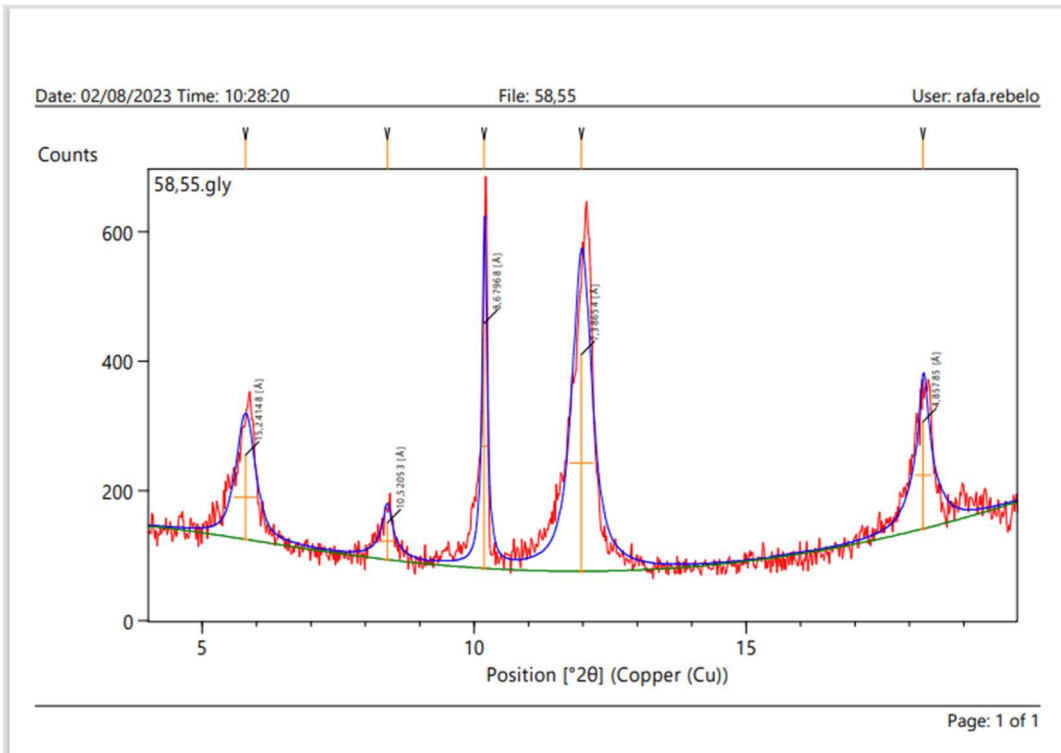
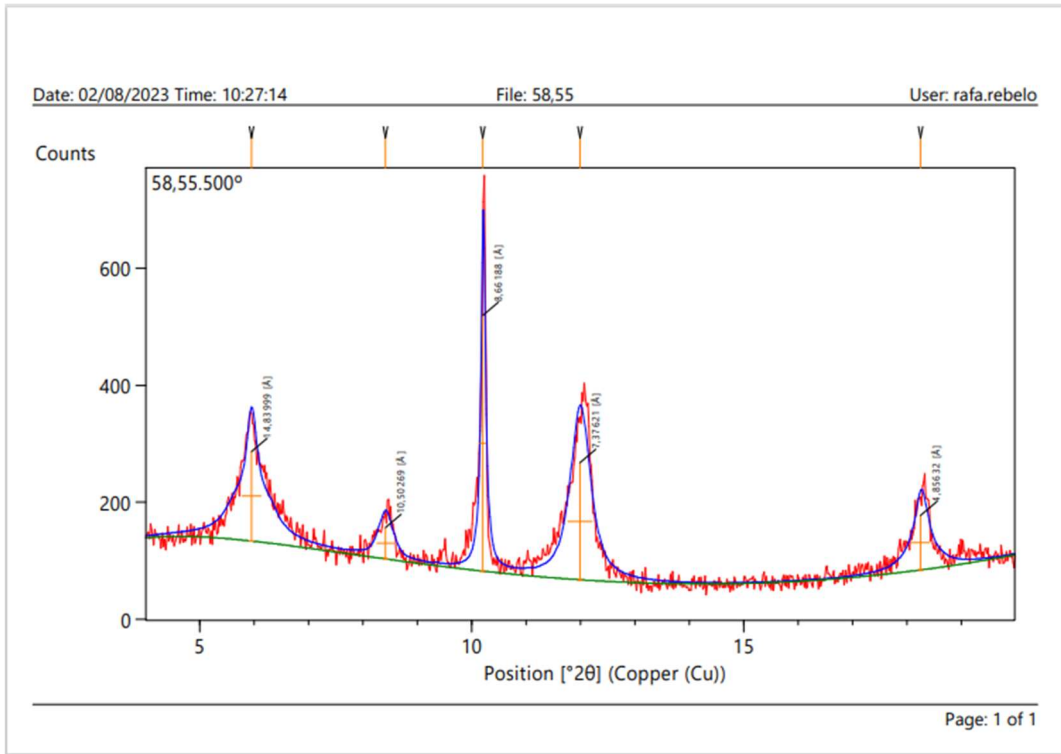


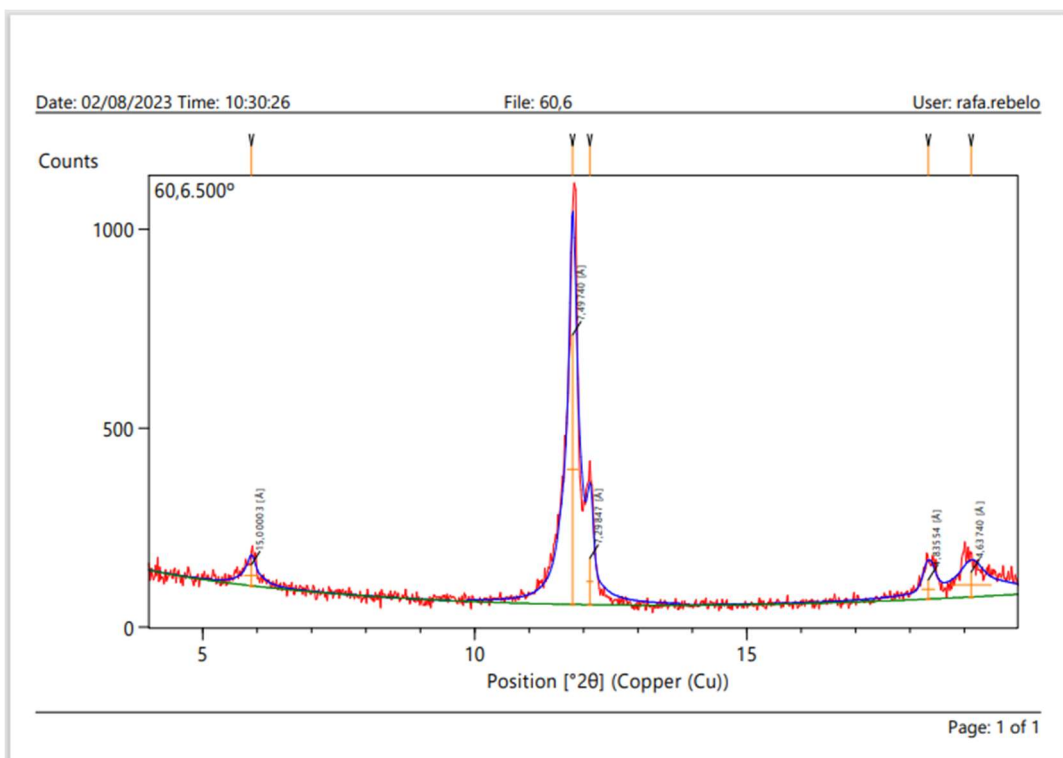
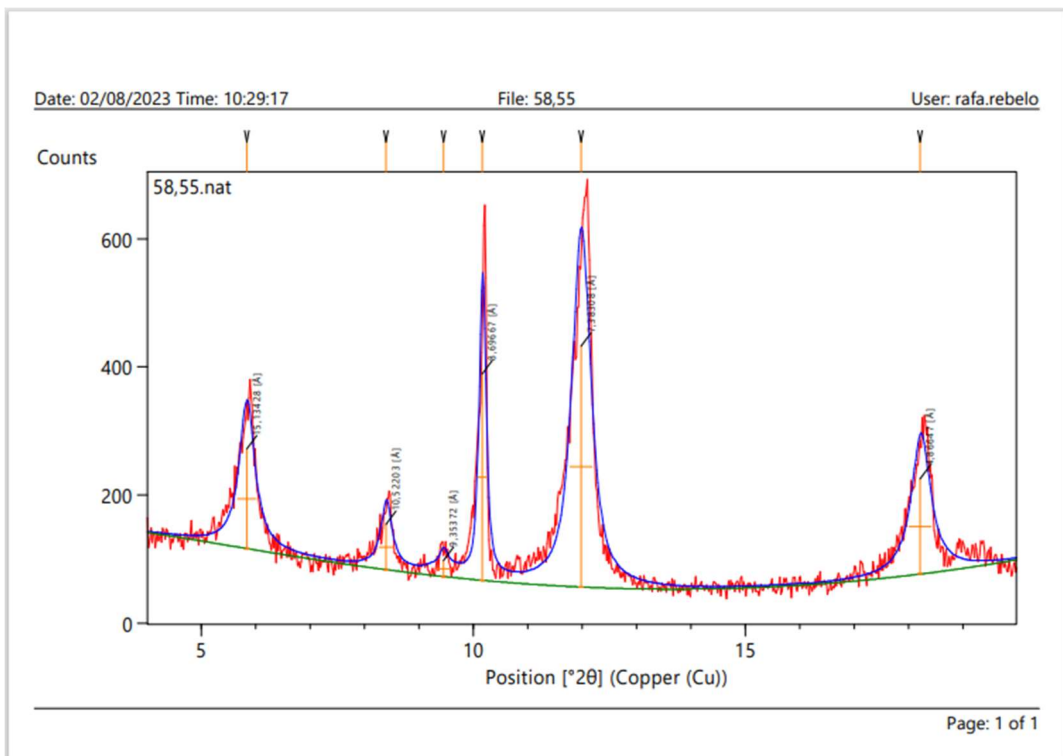


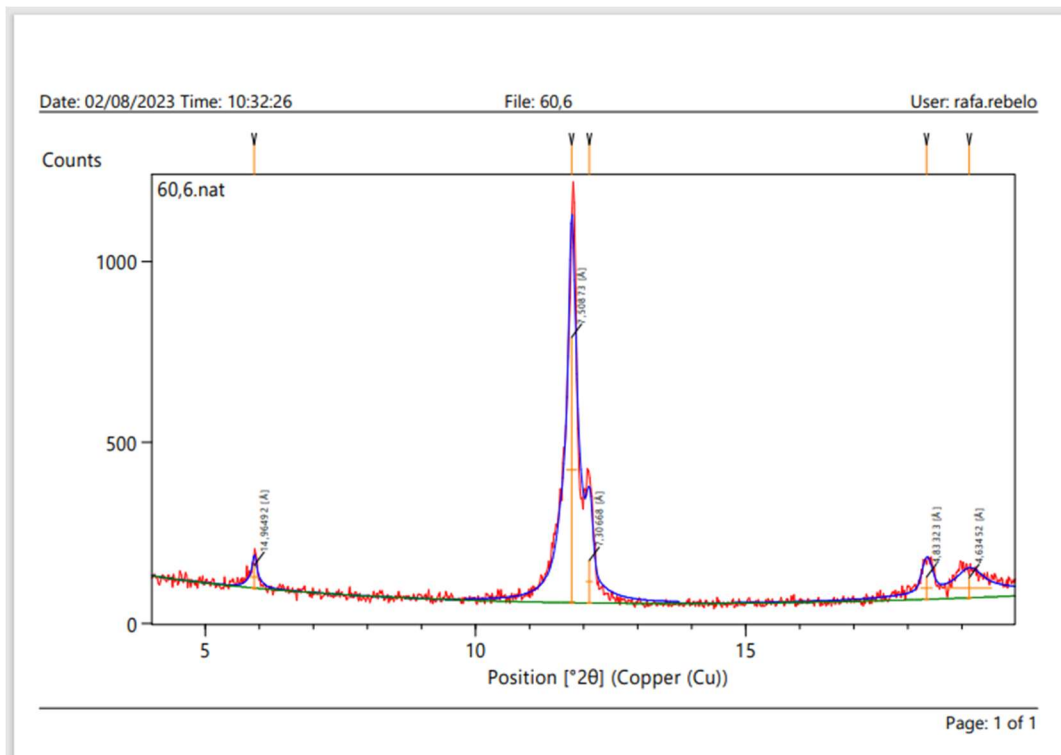
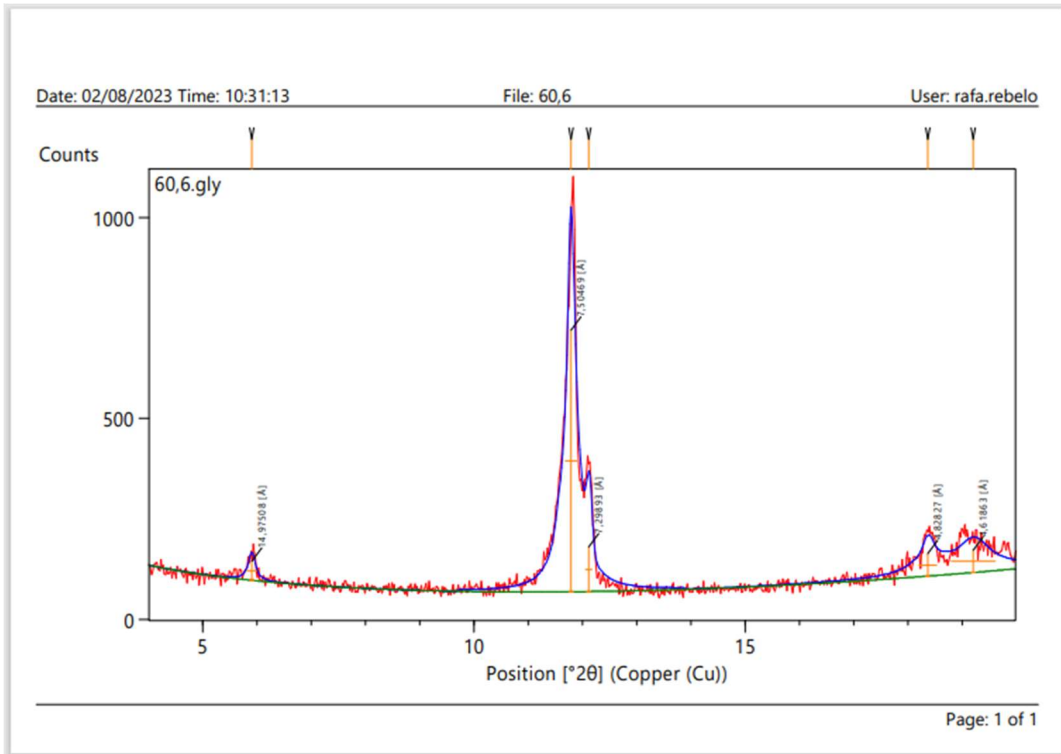


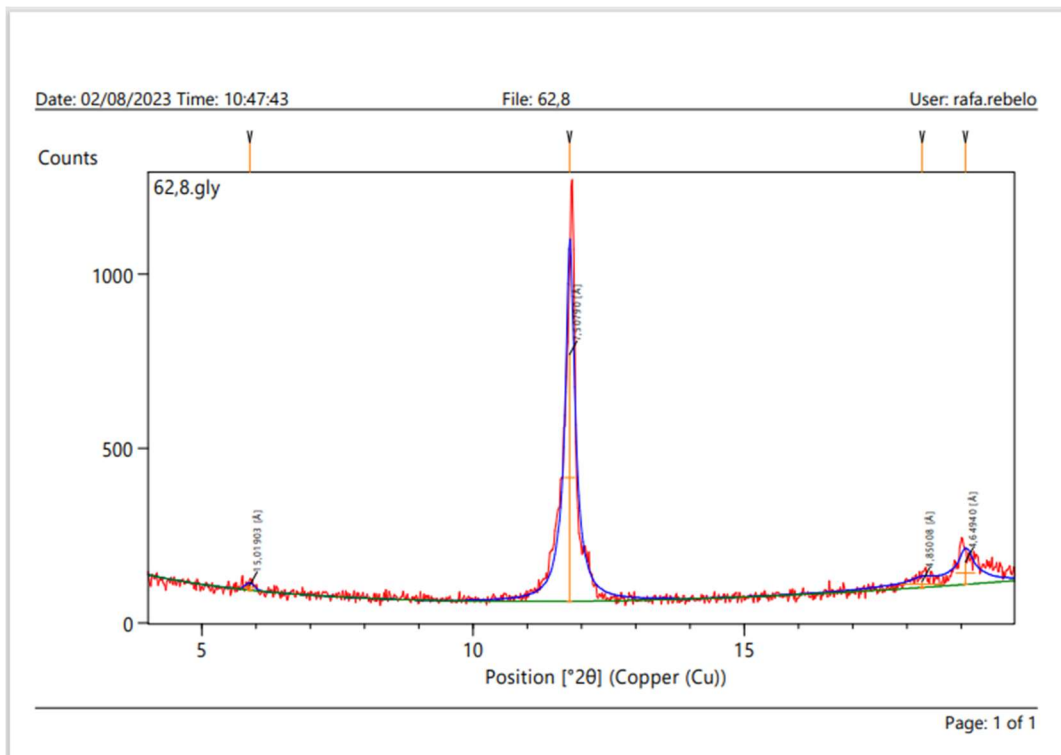
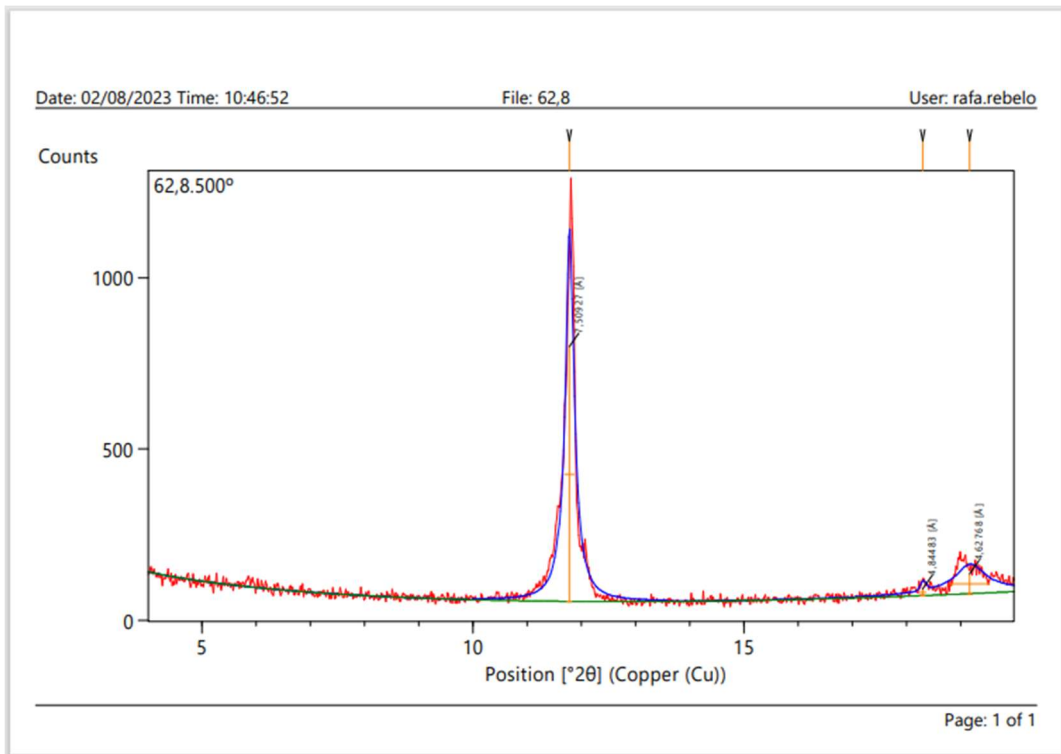




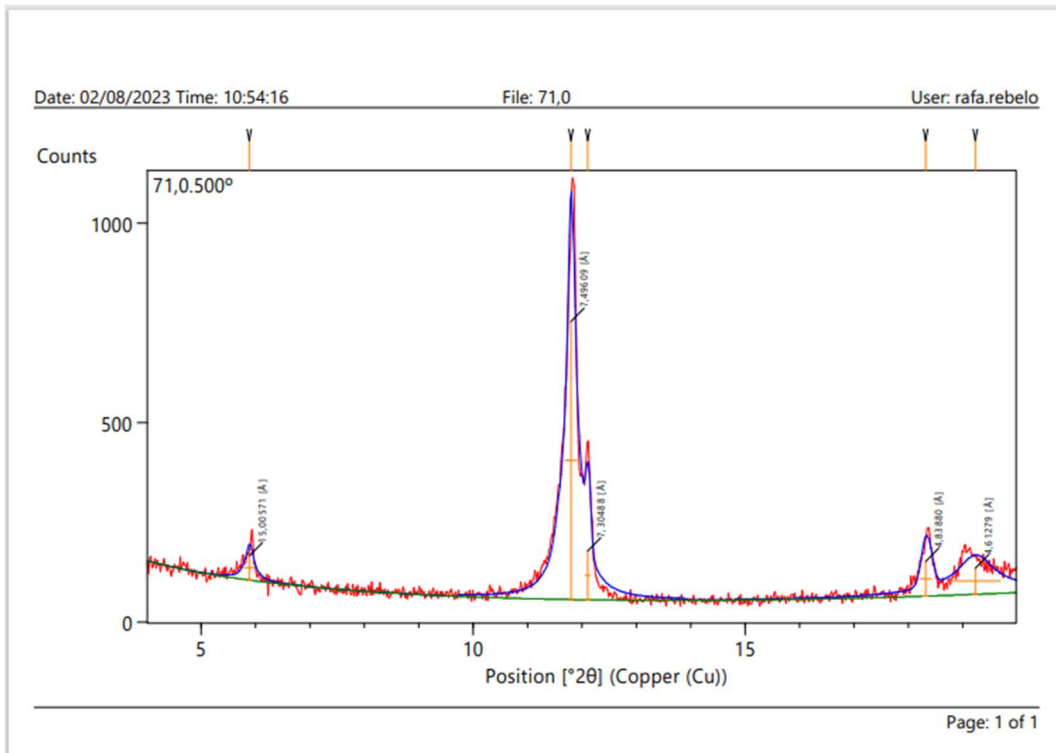
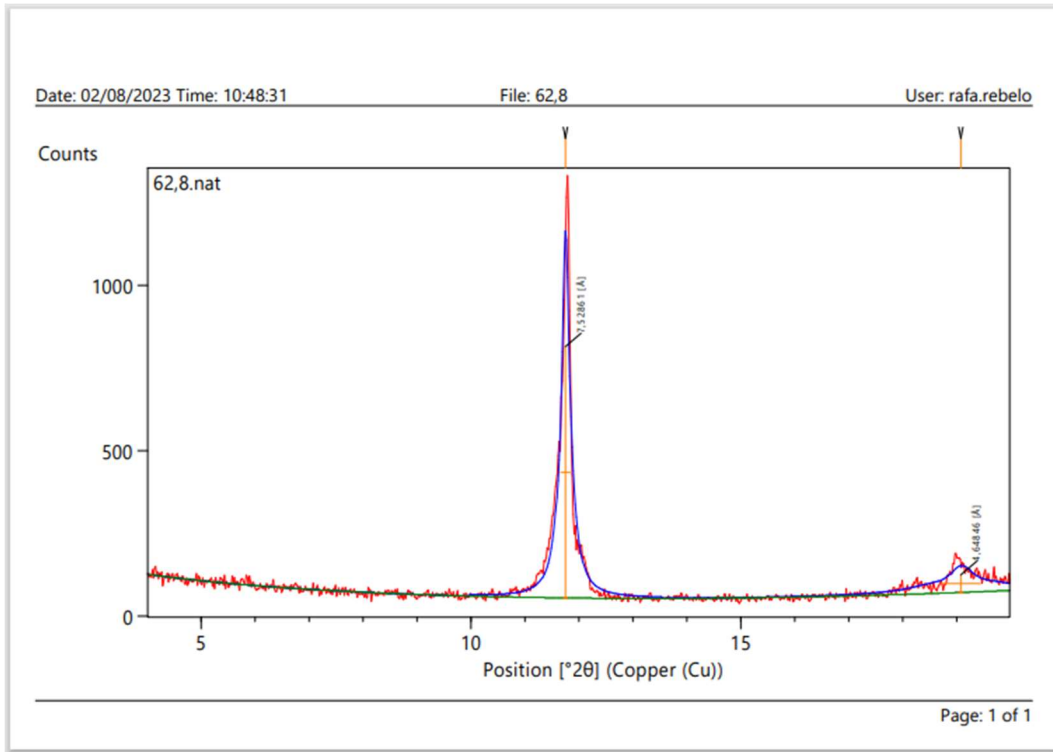


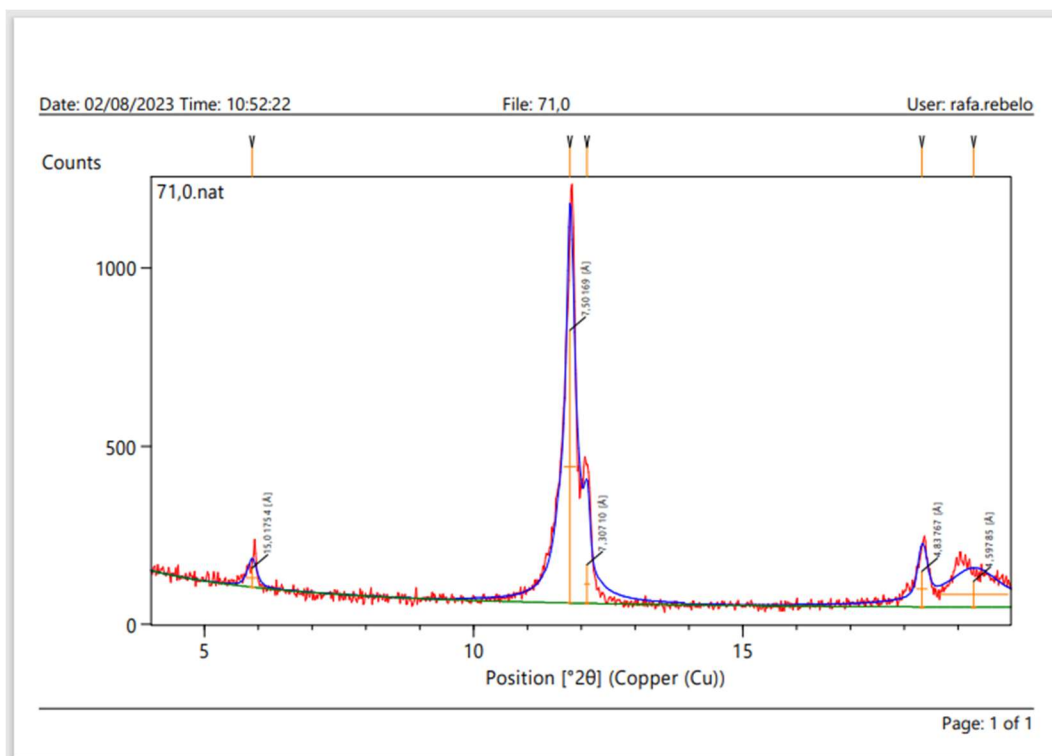
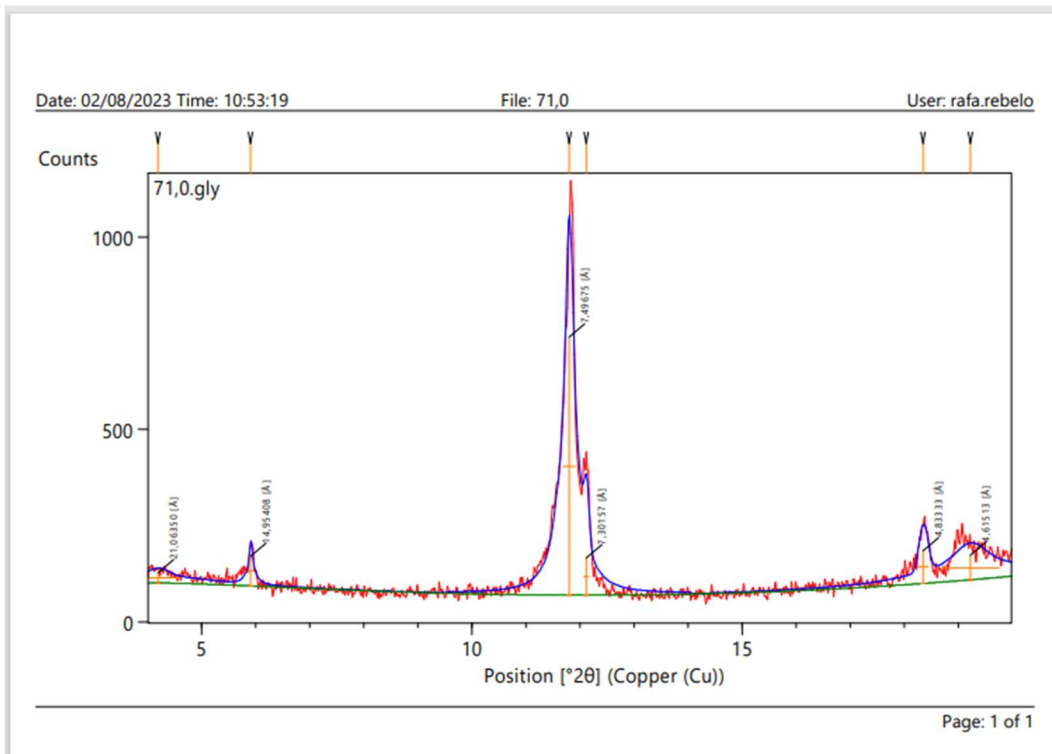




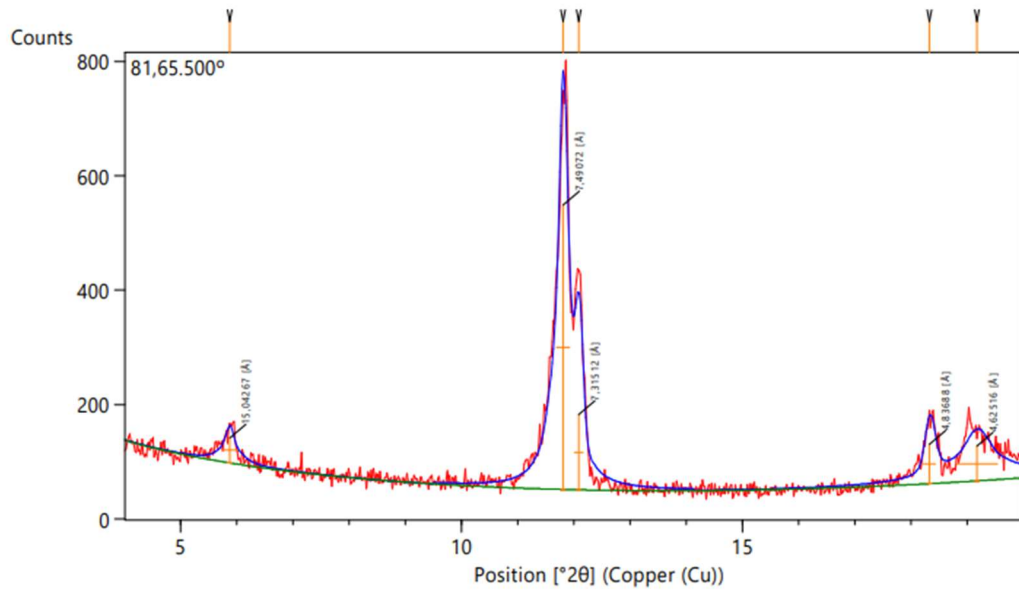






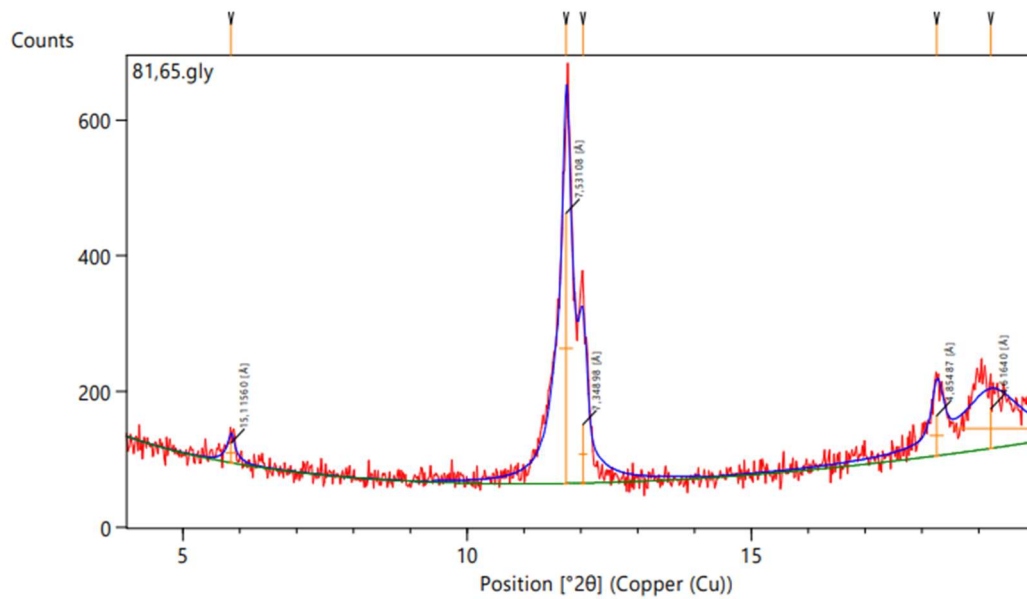


Date: 02/08/2023 Time: 11:00:06 File: 81,65 User: rafa.rebello



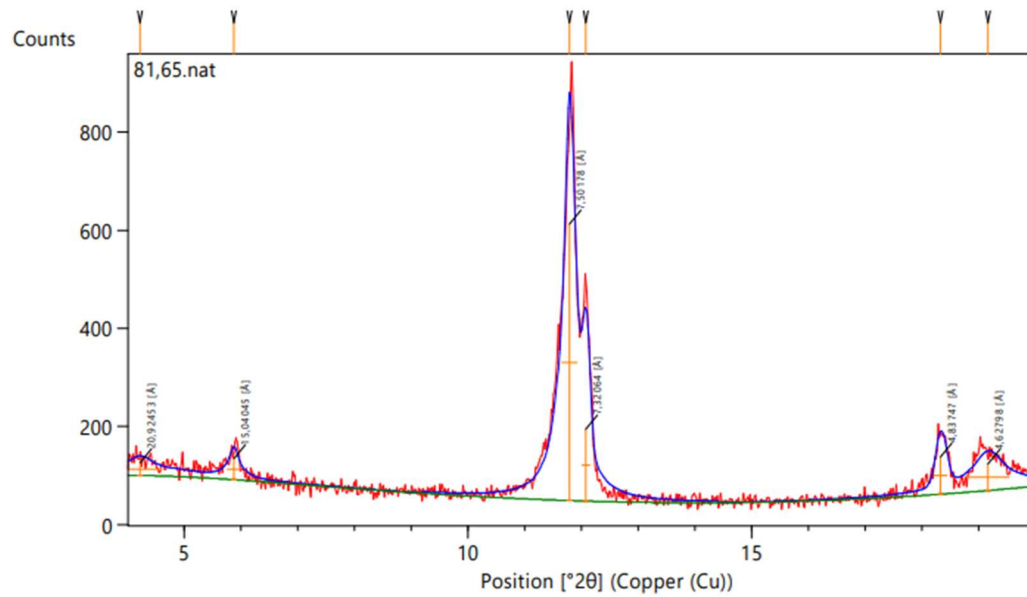
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 10:59:17 File: 81,65 User: rafa.rebello



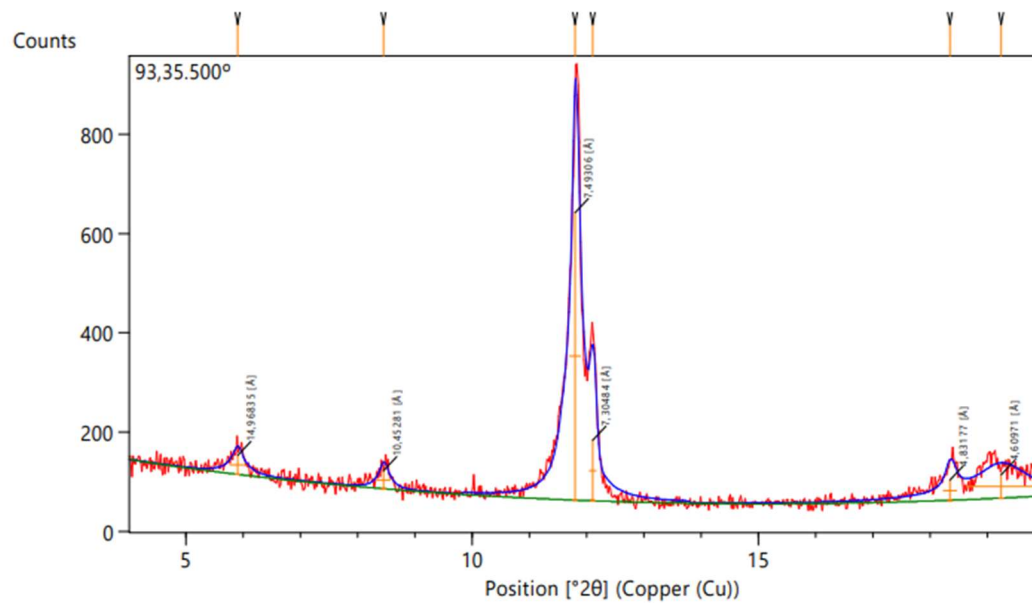
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 10:58:04 File: 81,65 User: rafa.rebello



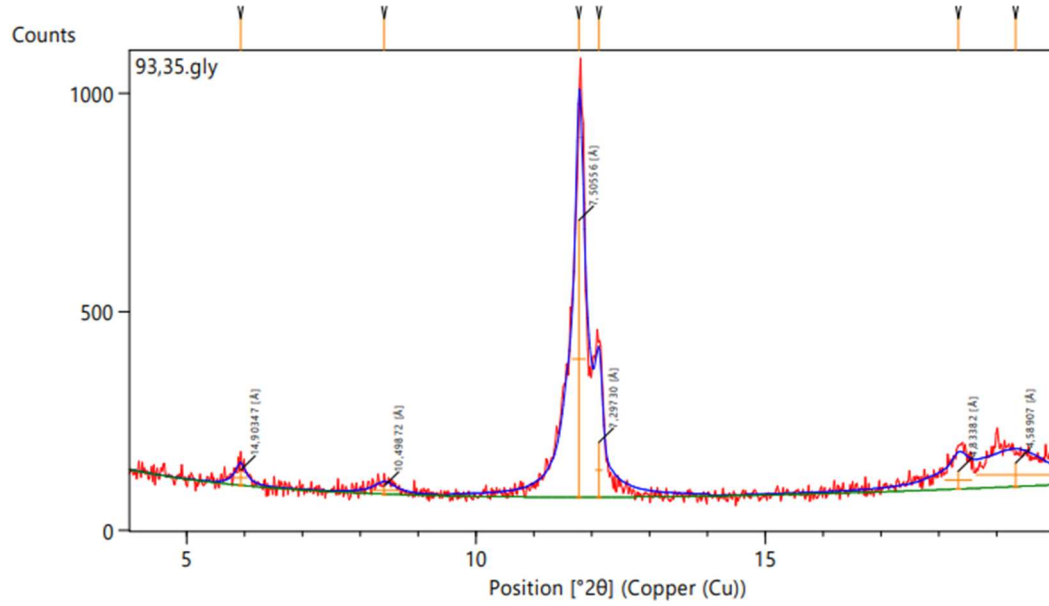
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:04:37 File: 93,35 User: rafa.rebello



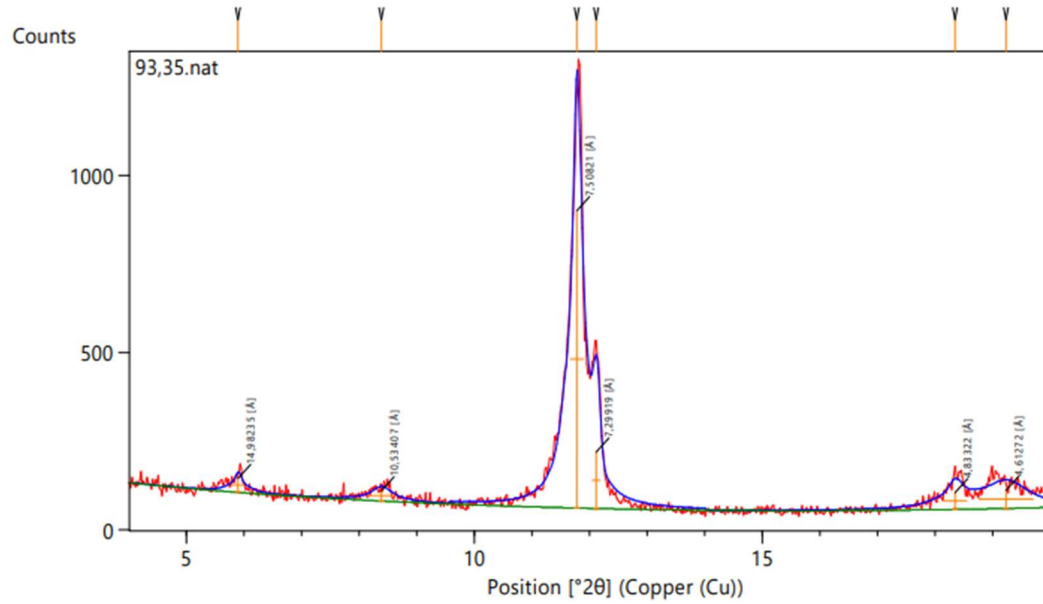
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:03:56 File: 93,35 User: rafa.rebello



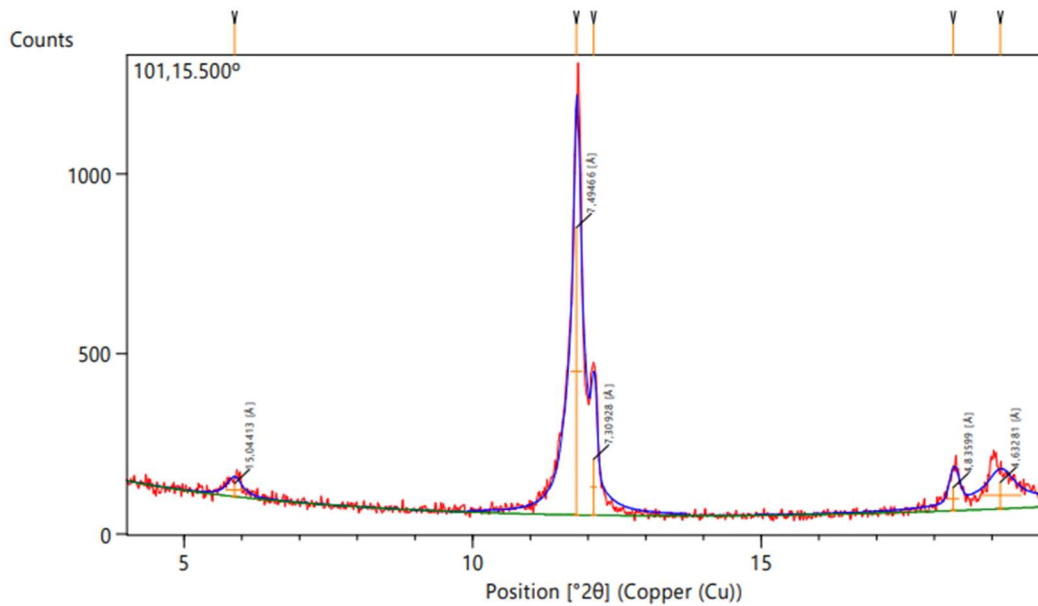
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:03:02 File: 93,35 User: rafa.rebello



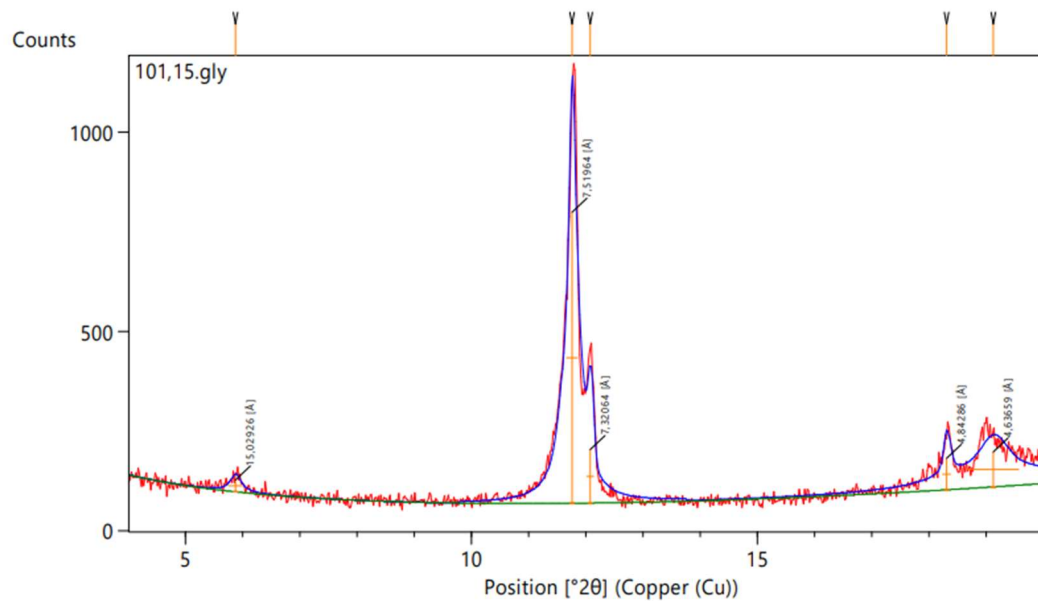
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:07:31 File: 101,15 User: rafa.rebello



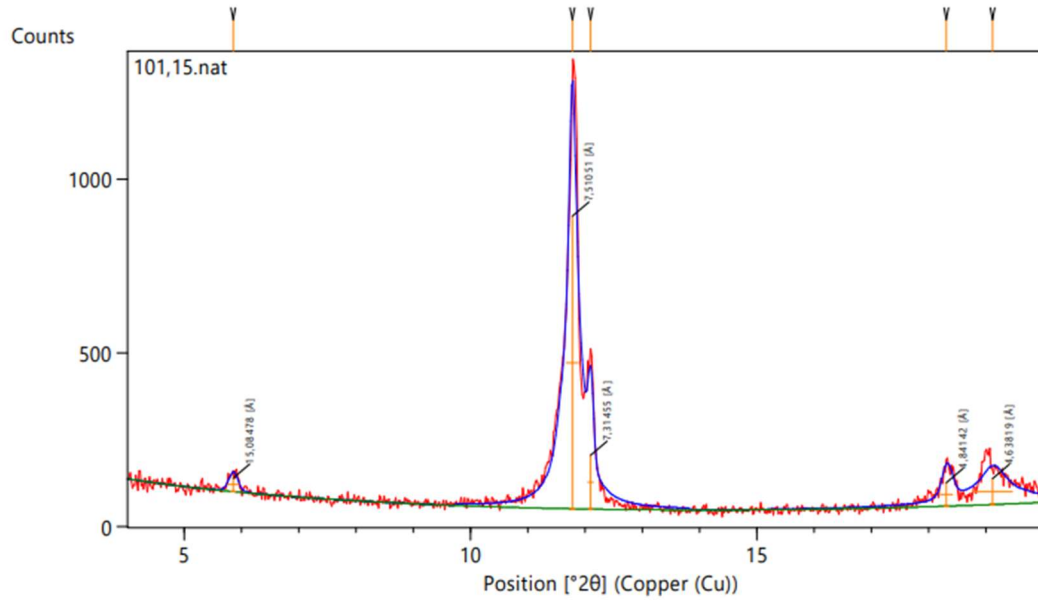
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:07:19 File: 101,15 User: rafa.rebello



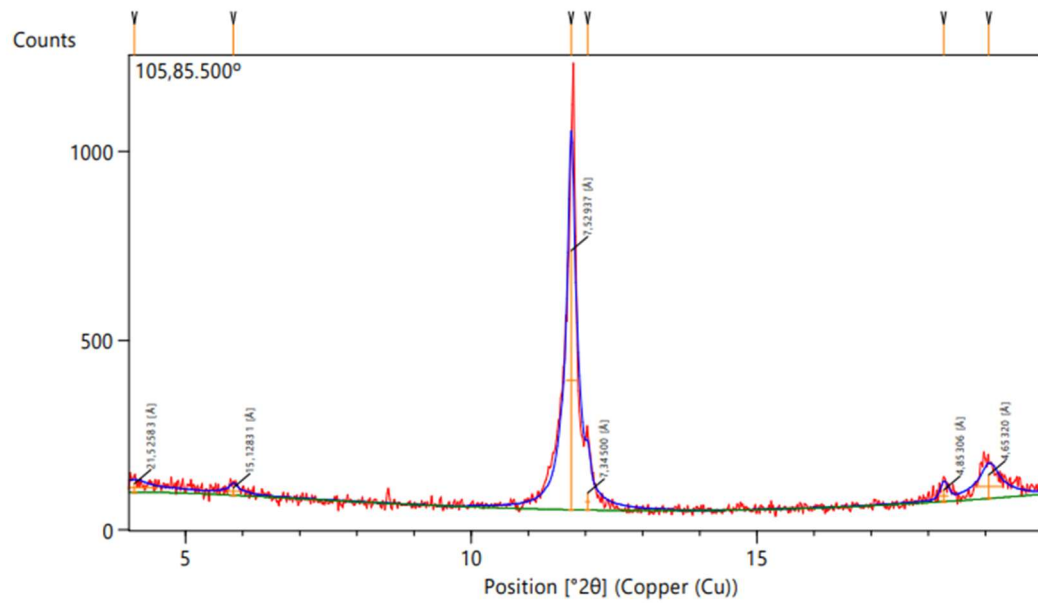
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:07:08 File: 101,15 User: rafa.rebello



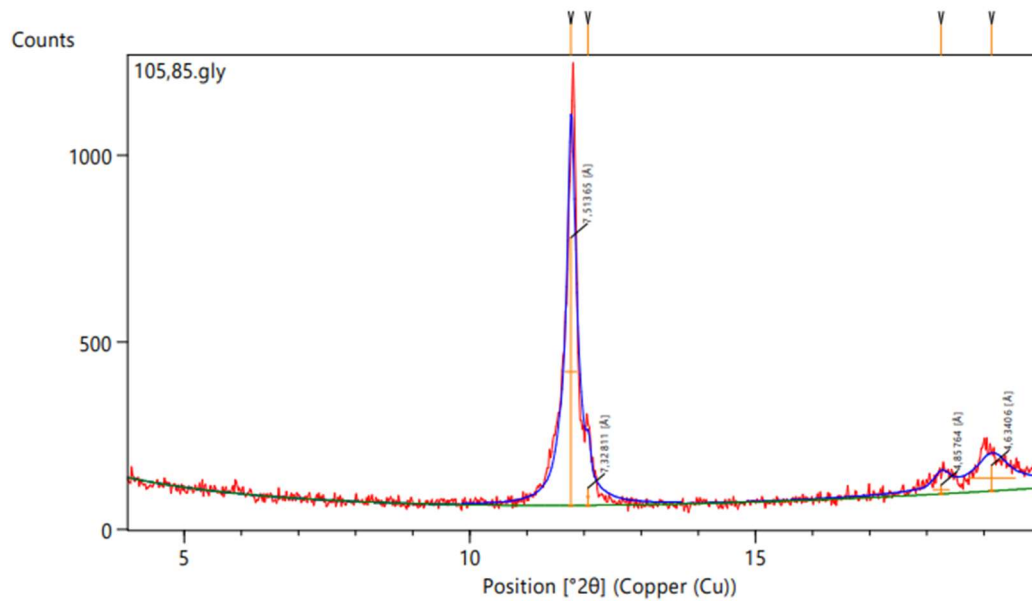
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:08:53 File: 105,85 User: rafa.rebello



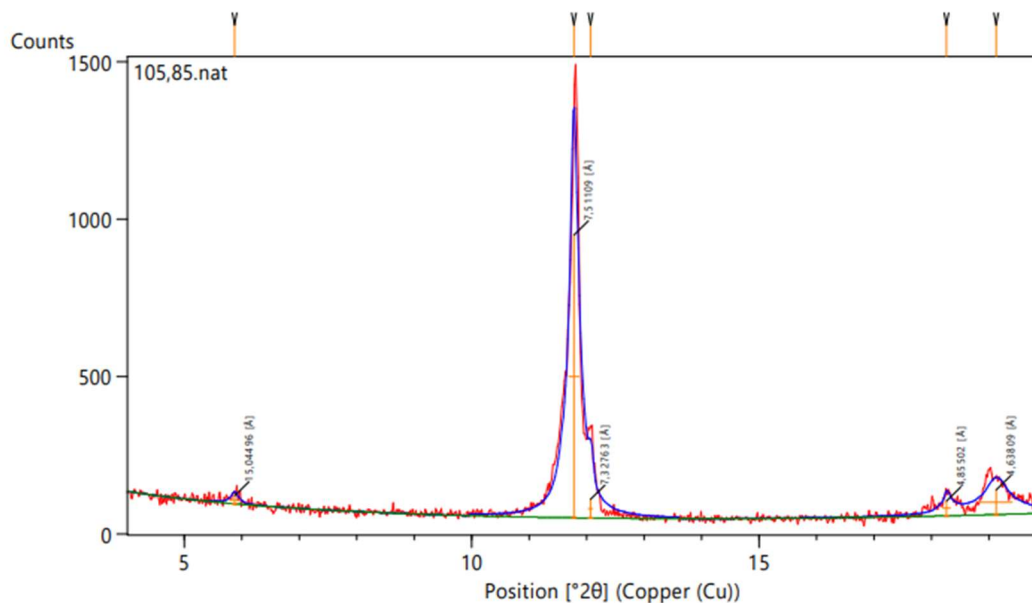
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:09:06 File: 105,85 User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

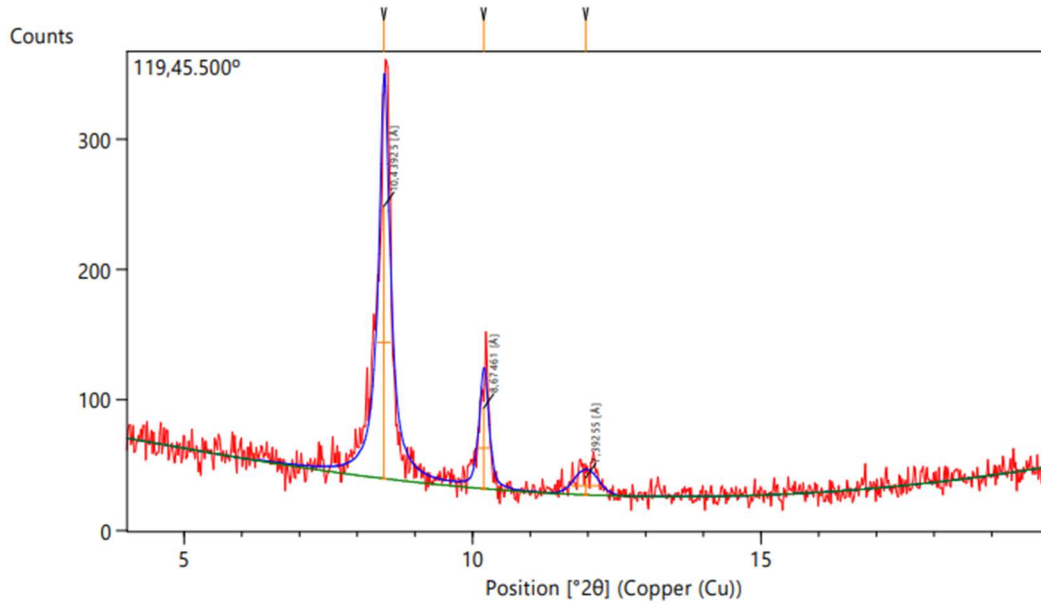
Date: 02/08/2023 Time: 11:09:18 File: 105,85 User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

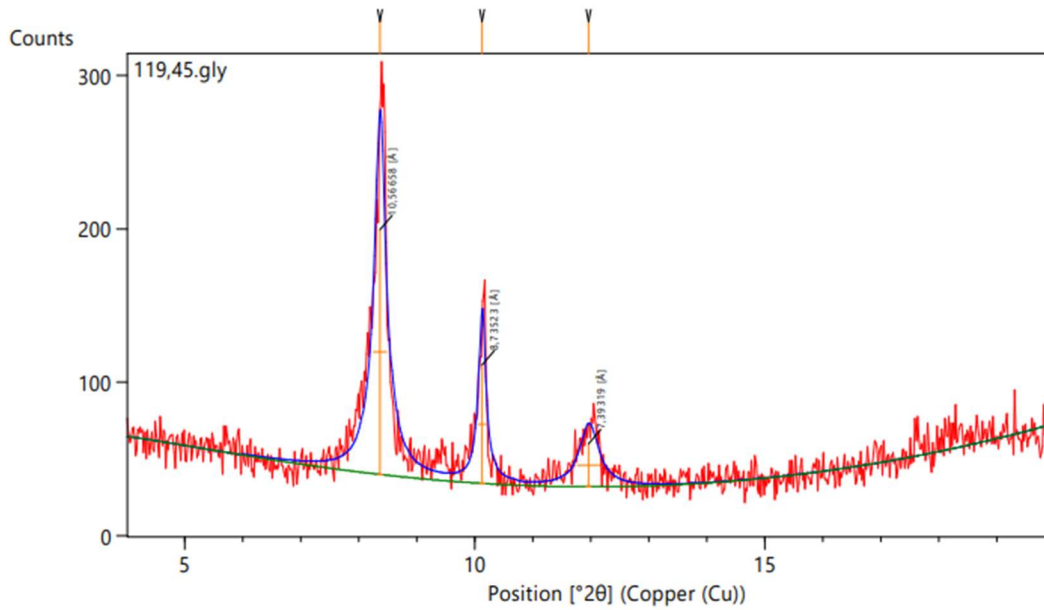


Date: 02/08/2023 Time: 11:17:35 File: 119,45 User: rafa.rebello



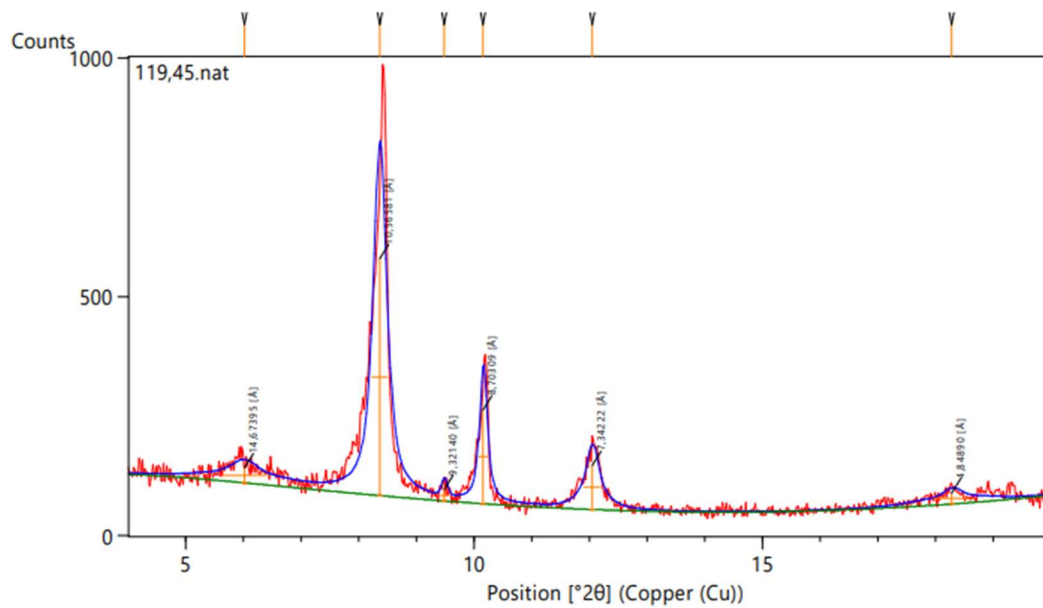
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:17:50 File: 119,45 User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

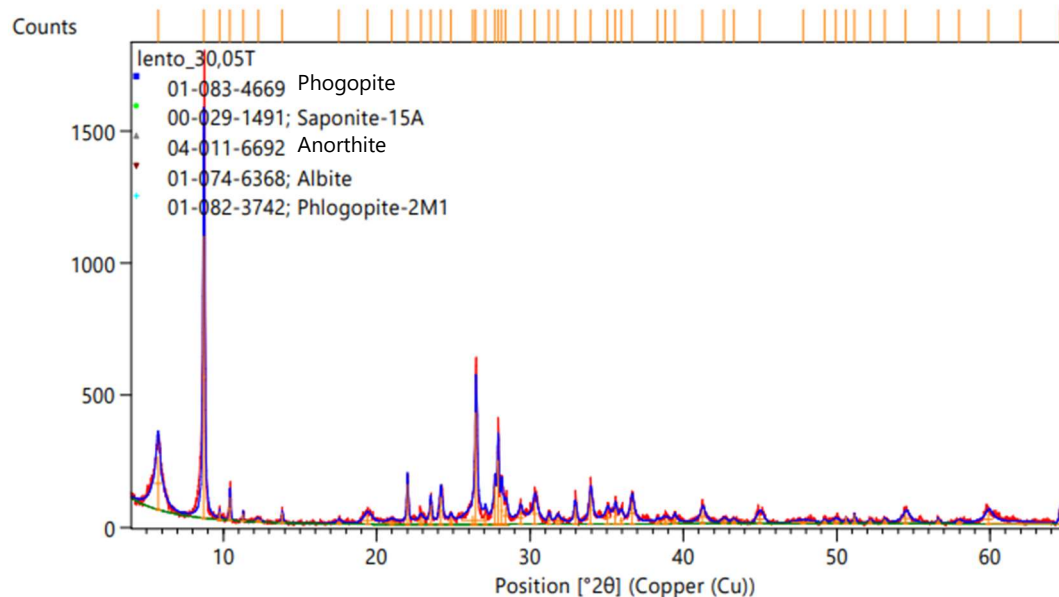
Date: 02/08/2023 Time: 11:18:08 File: 119,45 User: rafa.rebelo



Page: 1 of 1

## Difração da amostra total AC2

Date: 02/08/2023 Time: 11:49:17 File: 30,05T User: rafa.rebelo

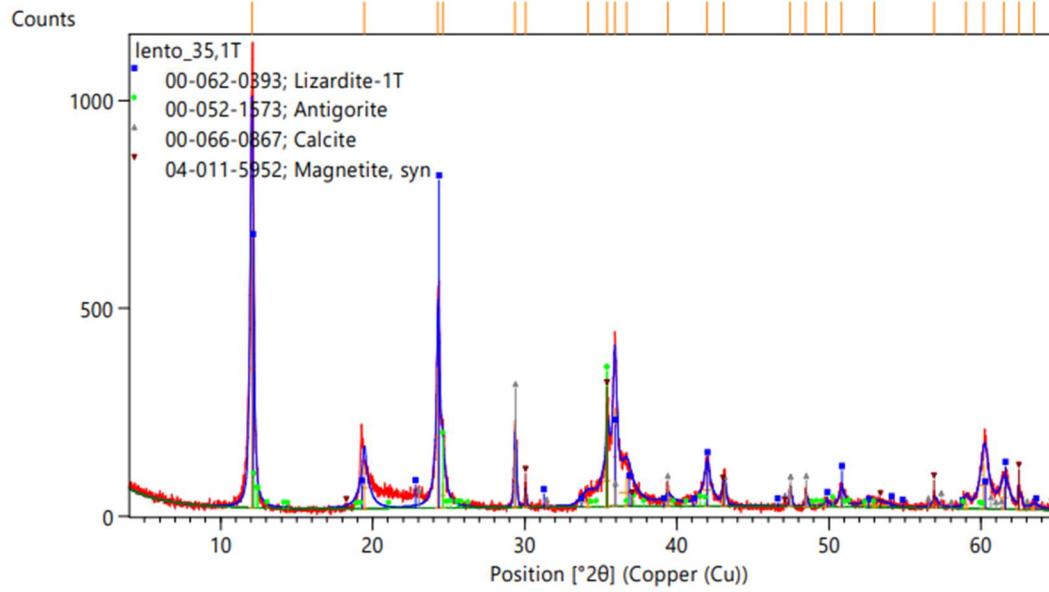


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:57:37

File: lento\_35,1T

User: rafa.rebello

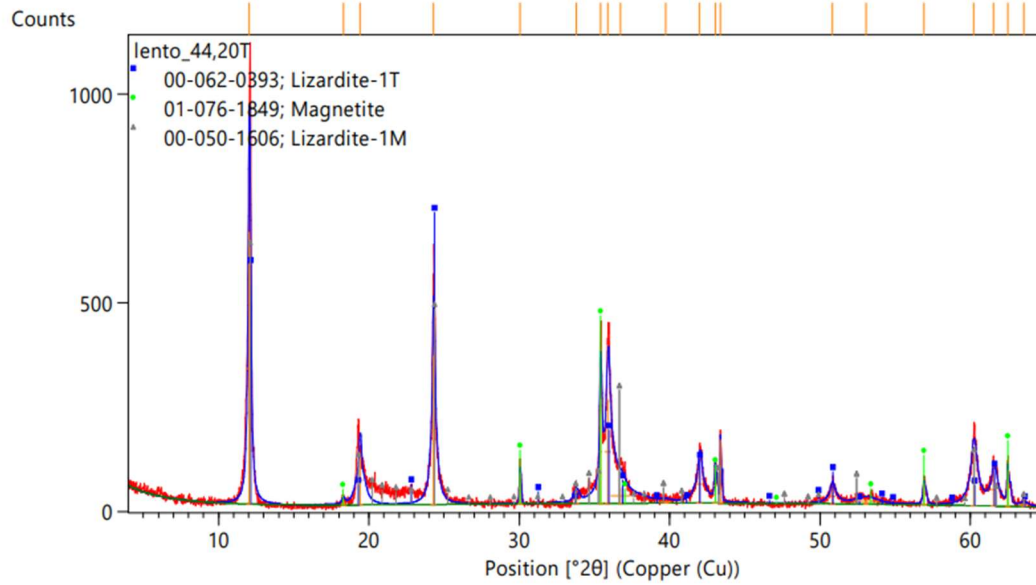


Page: 1 of 1

Date: 30/06/2023 Time: 10:26:38

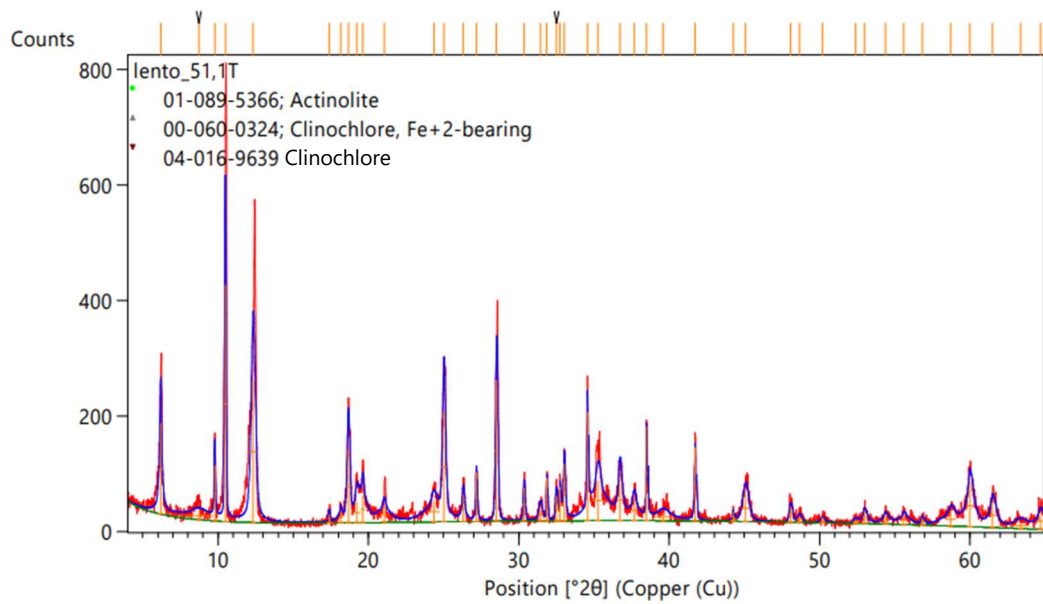
File: lento\_44,20T

User: rafa.rebello



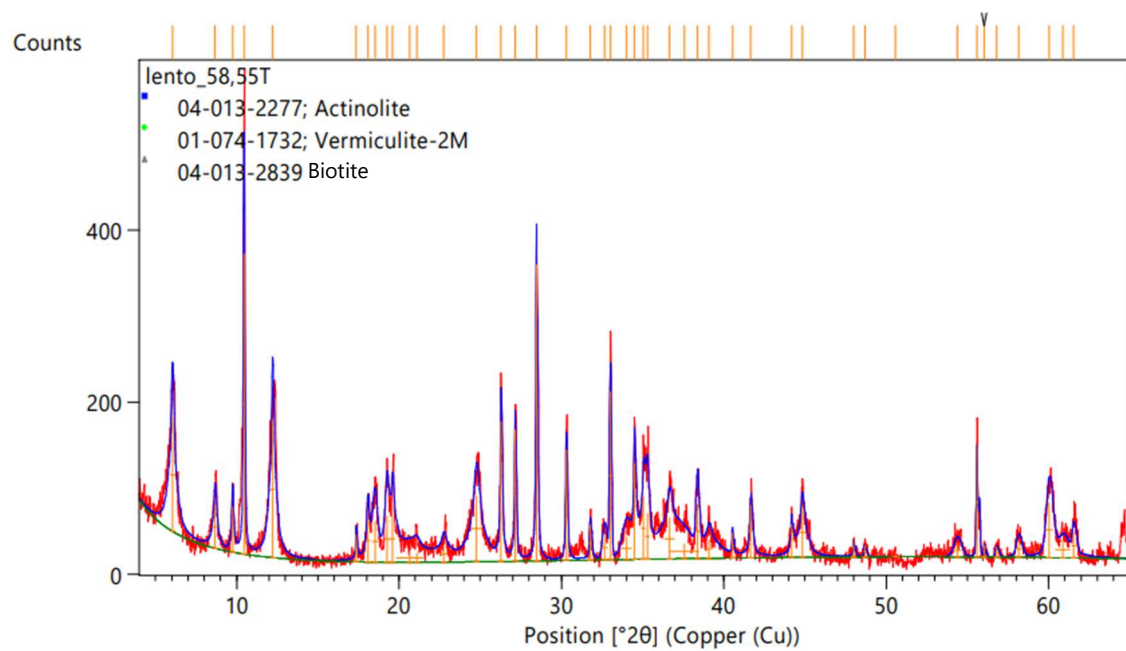
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 11:59:51 File: lento\_51,1T User: rafa.rebelo

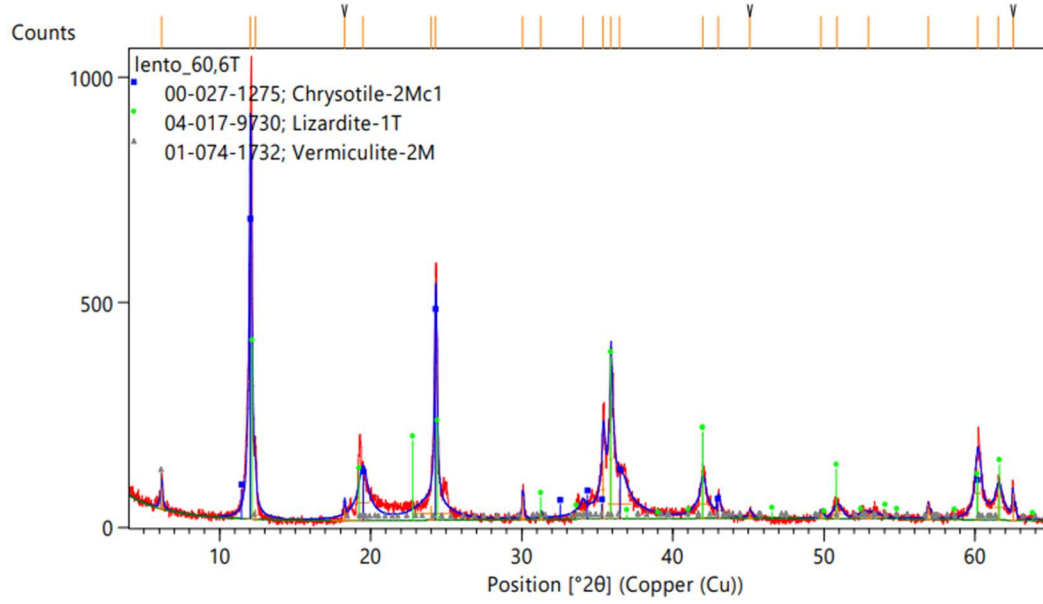


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:16:39 File: lento\_58,55T User: rafa.rebelo

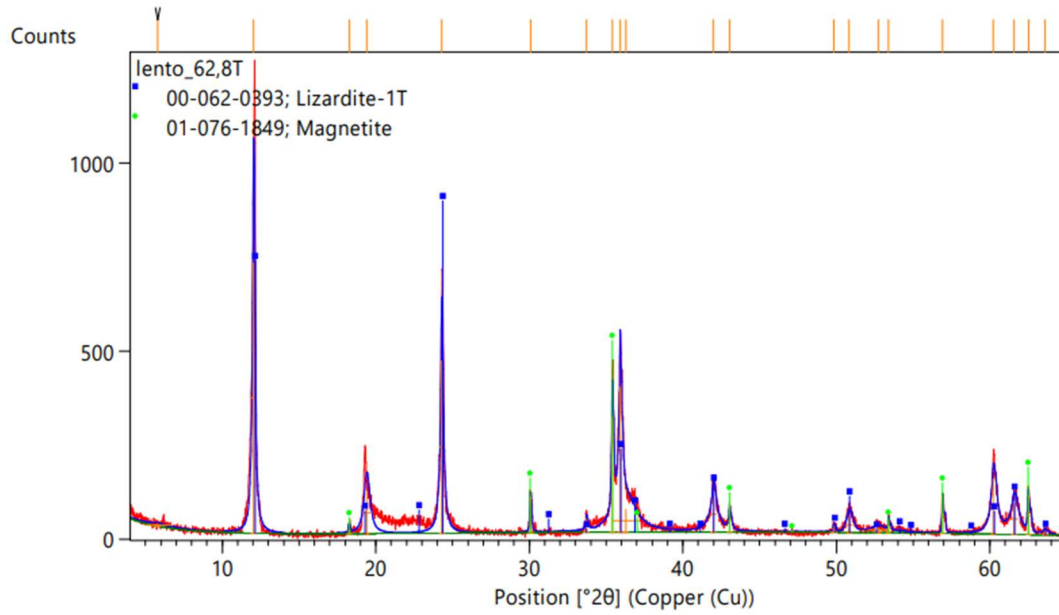


Date: 02/08/2023 Time: 12:38:58 File: lento\_60,6T User: rafa.rebelo



Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:40:01 File: lento\_62,8T User: rafa.rebelo

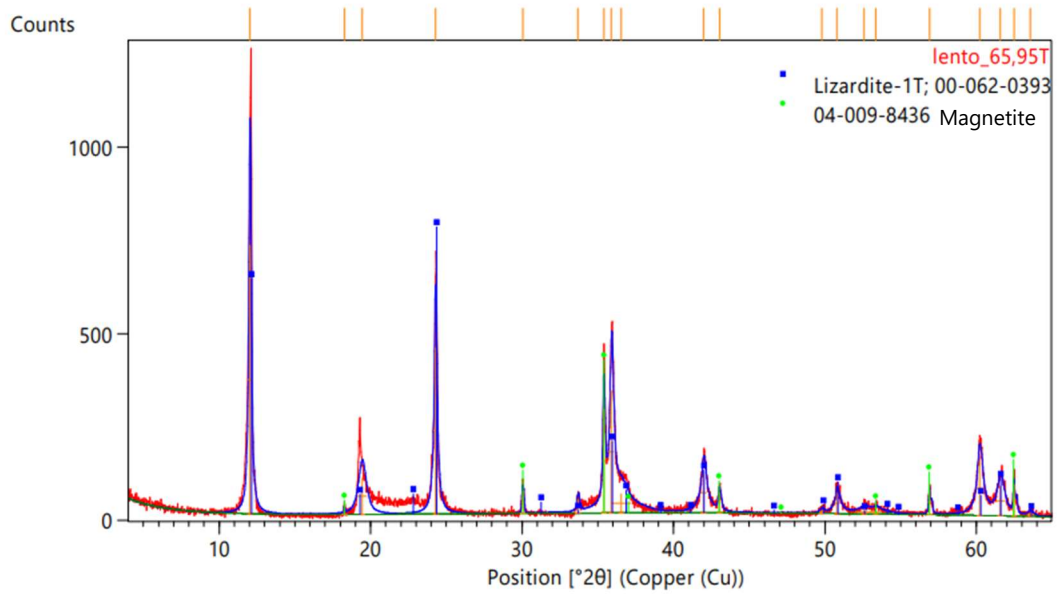


Page: 1 of 1

Date: 29/06/2023 Time: 16:30:13

File: lento\_65,95T

User: rafa.rebello

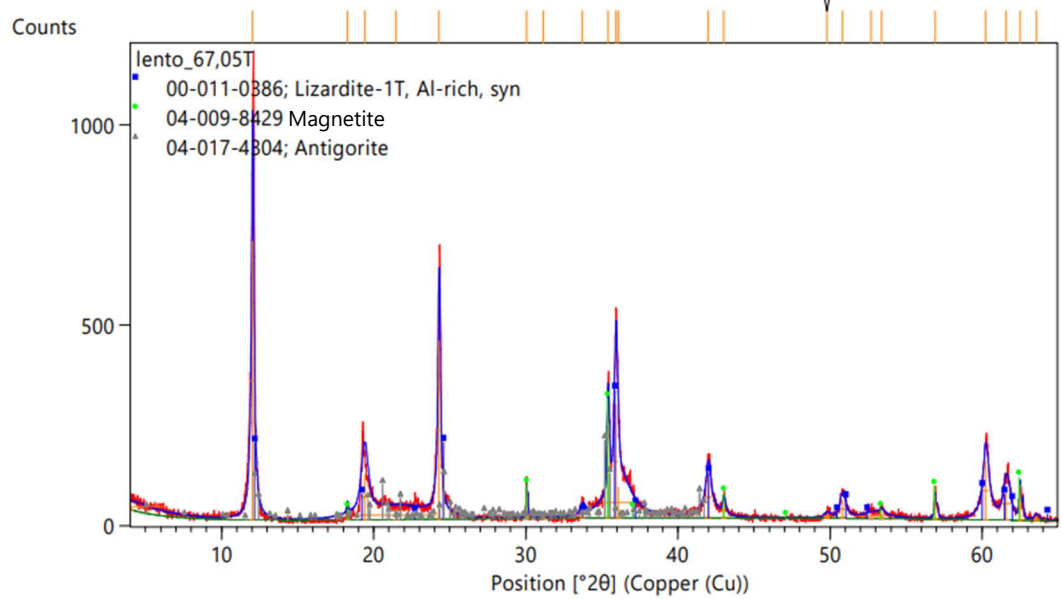


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 14:04:47

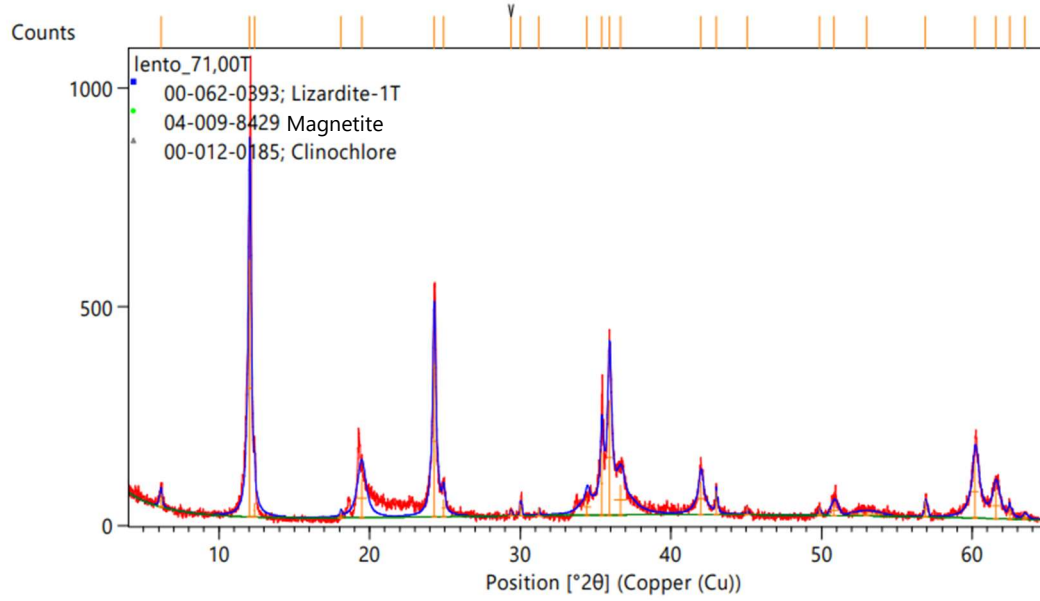
File: lento\_67,05T

User: rafa.rebello



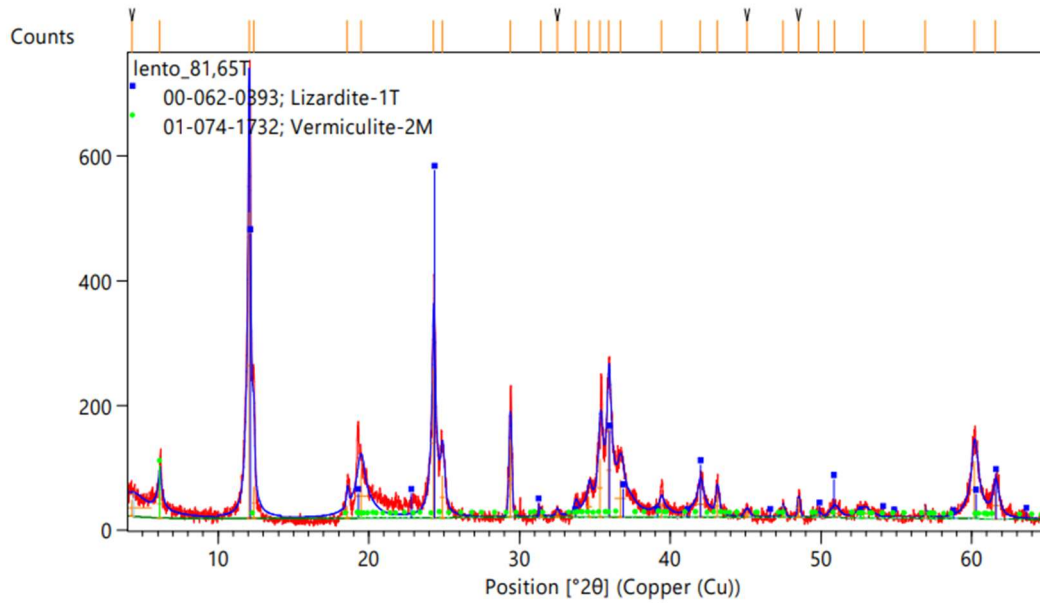
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:53:32 File: lento\_71,00T User: rafa.rebello



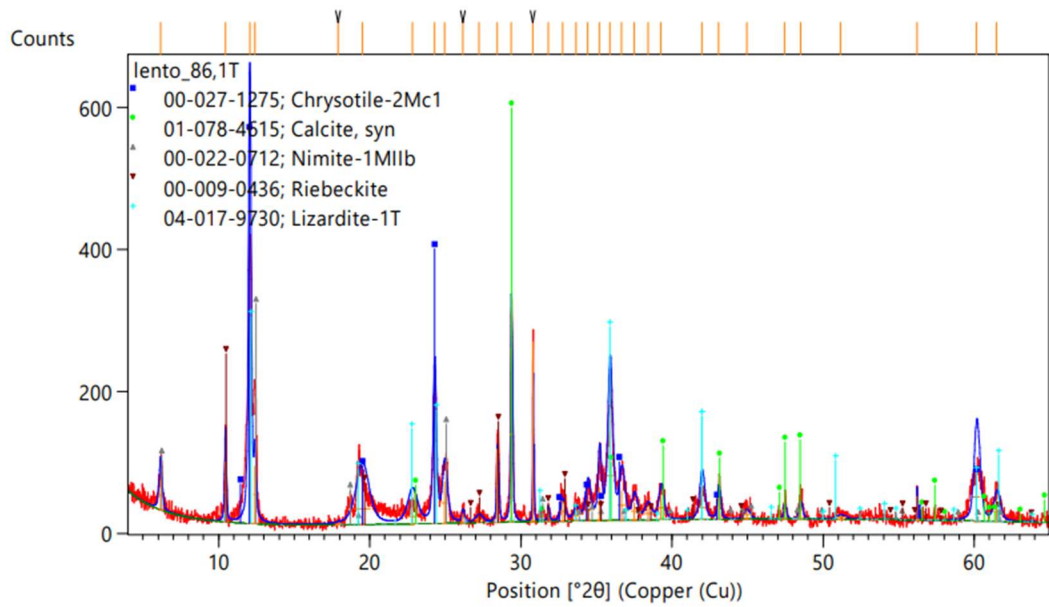
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:54:35 File: lento\_81,65T User: rafa.rebello



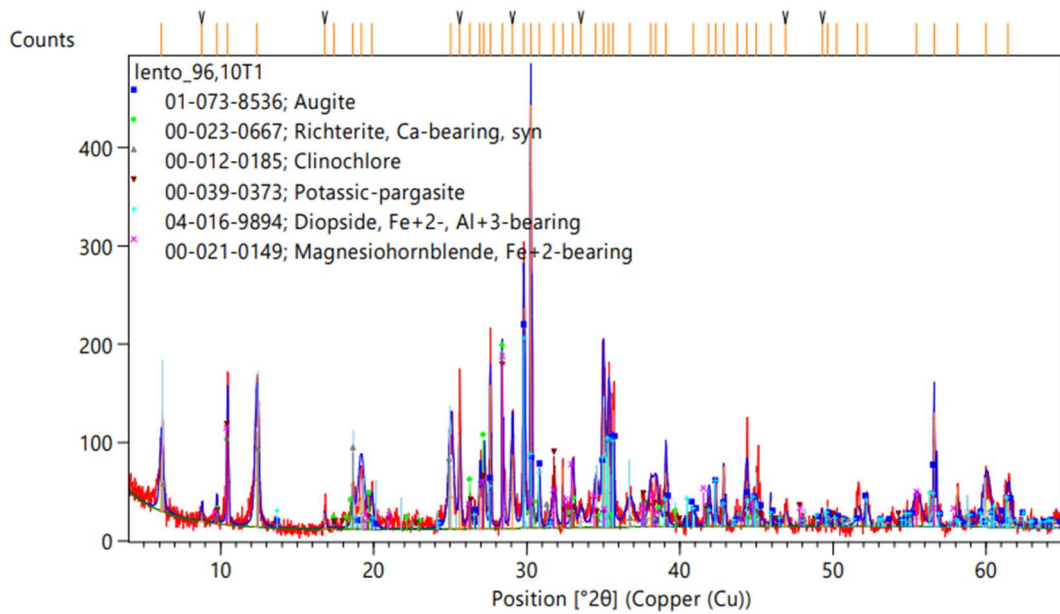
Page: 1 of 1

Date: 19/06/2023 Time: 16:47:21 File: lento\_86,1T User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

Date: 19/06/2023 Time: 16:47:42 File: lento\_96,10T1 User: rafa.rebello



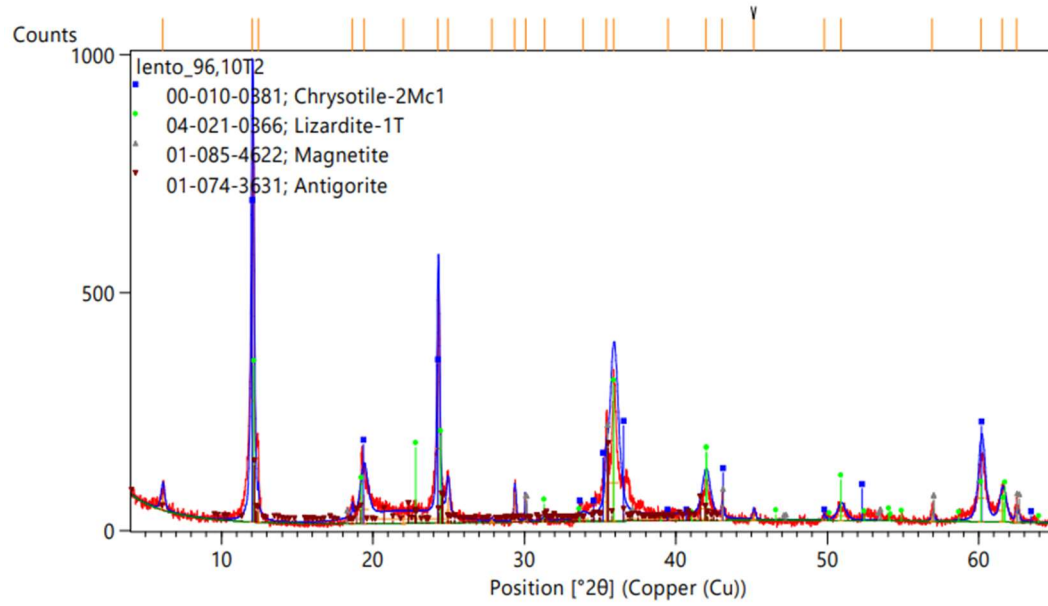
Page: 1 of 1



Date: 19/06/2023 Time: 16:48:06

File: lento\_96,10T2

User: rafa.rebelo

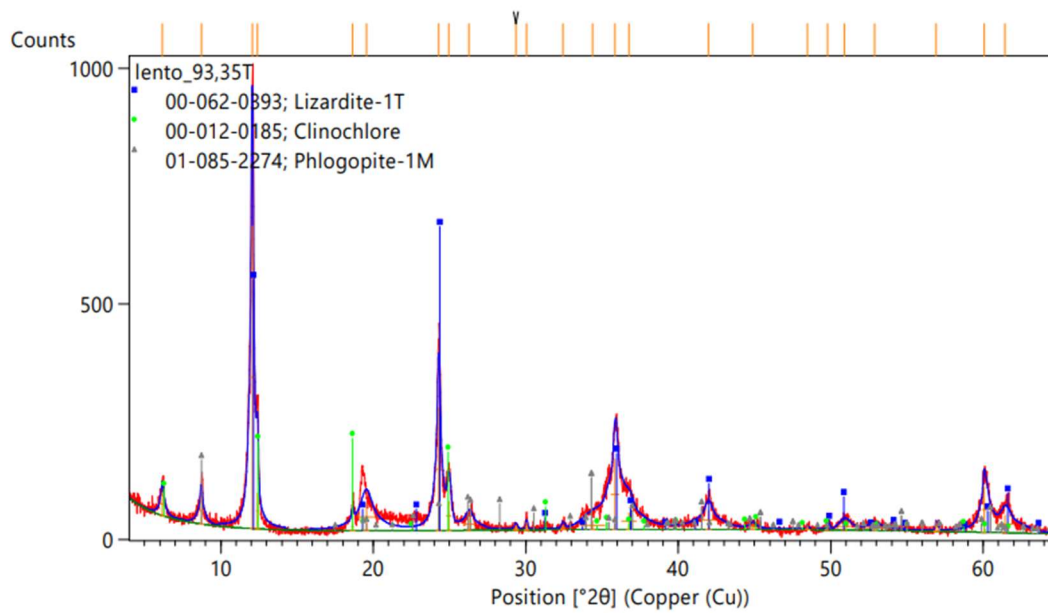


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:55:27

File: lento\_93,35T

User: rafa.rebelo

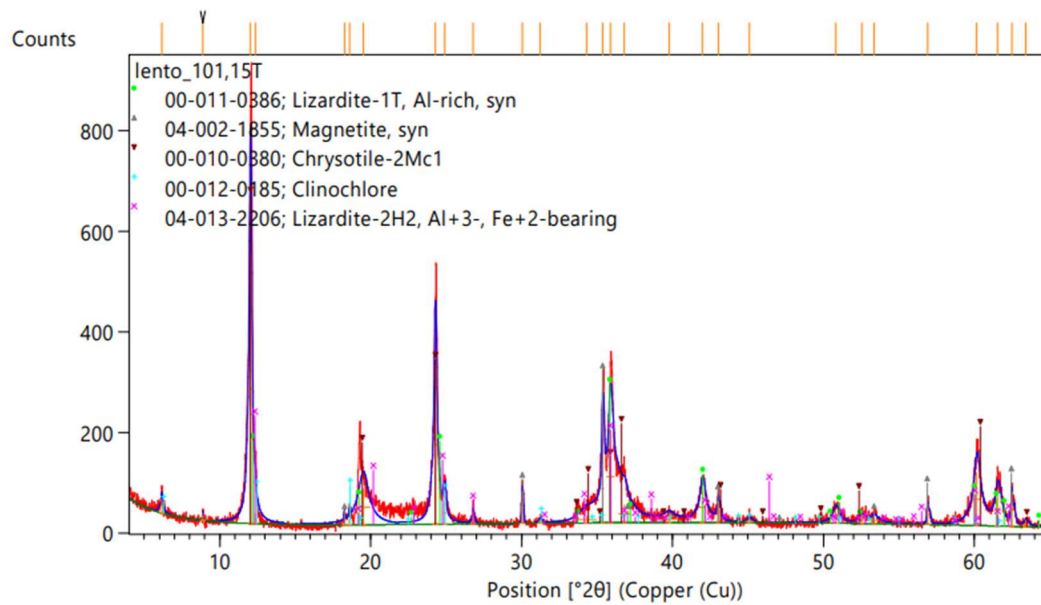


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 12:56:11

File: lento\_101,15T

User: rafa.rebello

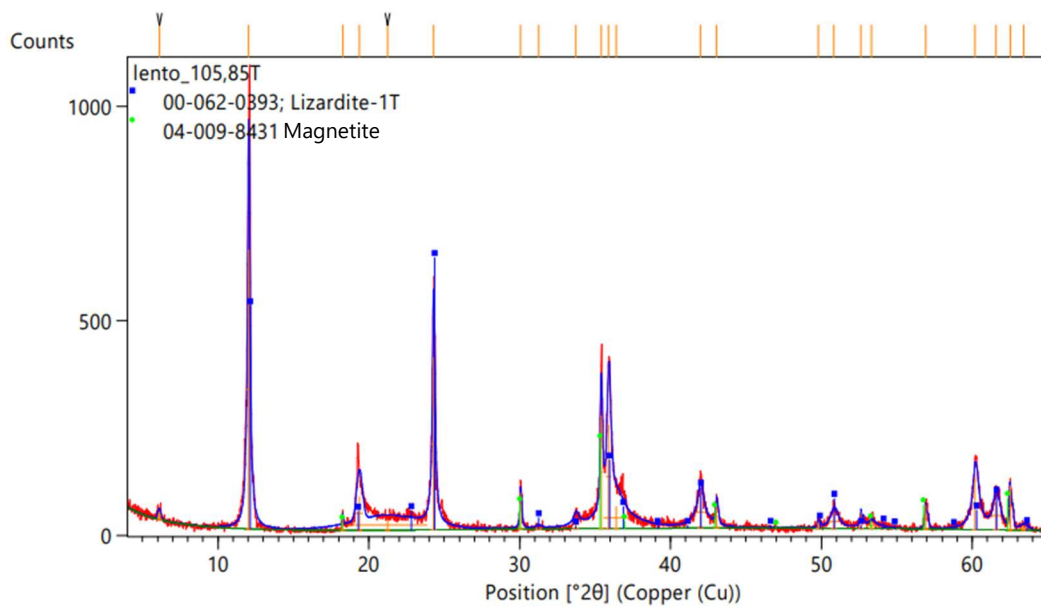


Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 13:11:41

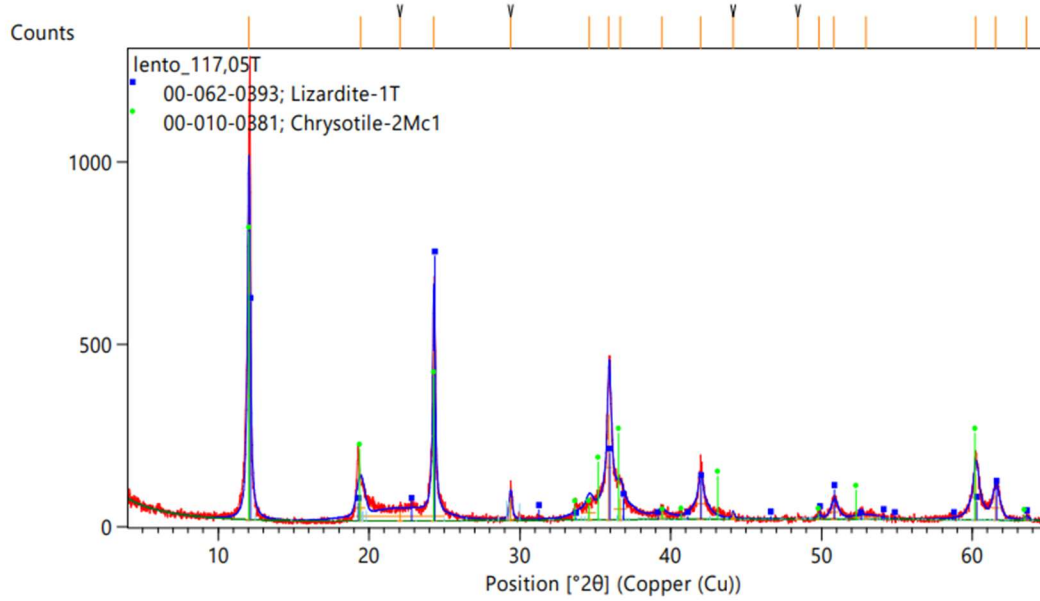
File: lento\_105,85T

User: rafa.rebello



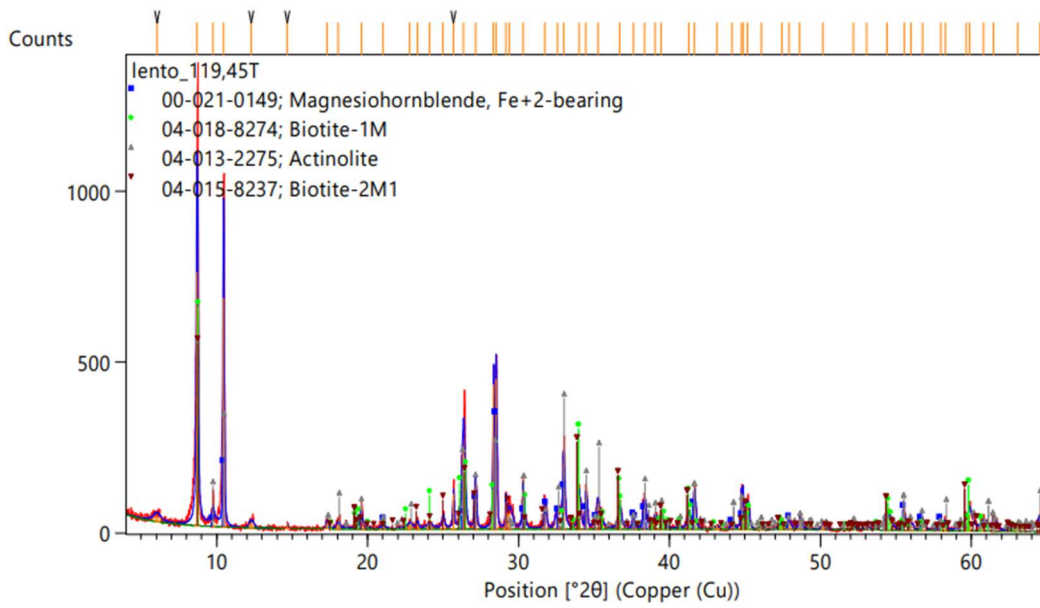
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 13:12:09 File: lento\_117,05T User: rafa.rebello



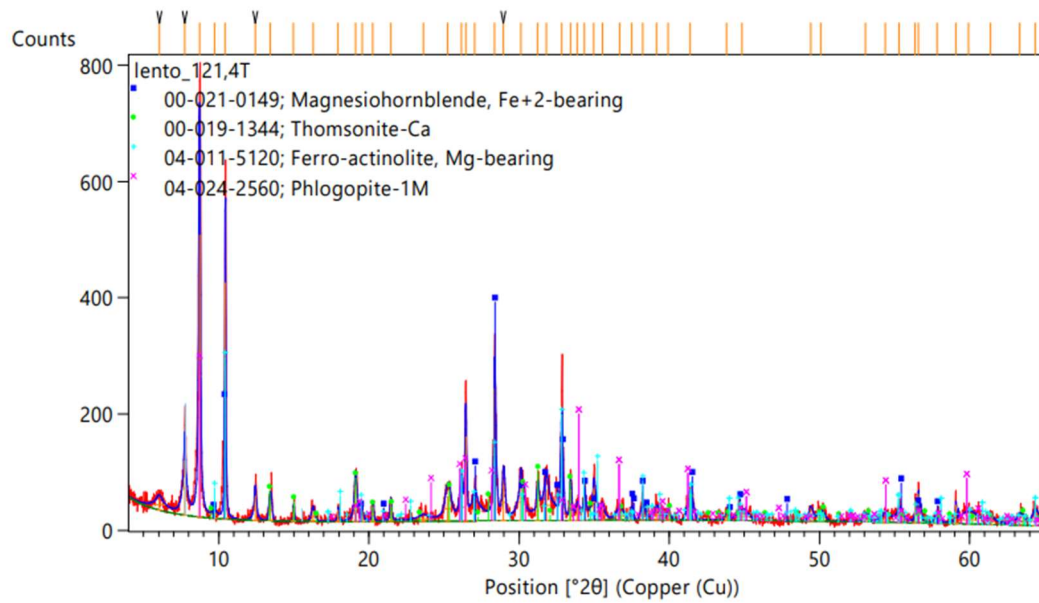
Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 13:12:37 File: lento\_119,45T User: rafa.rebello



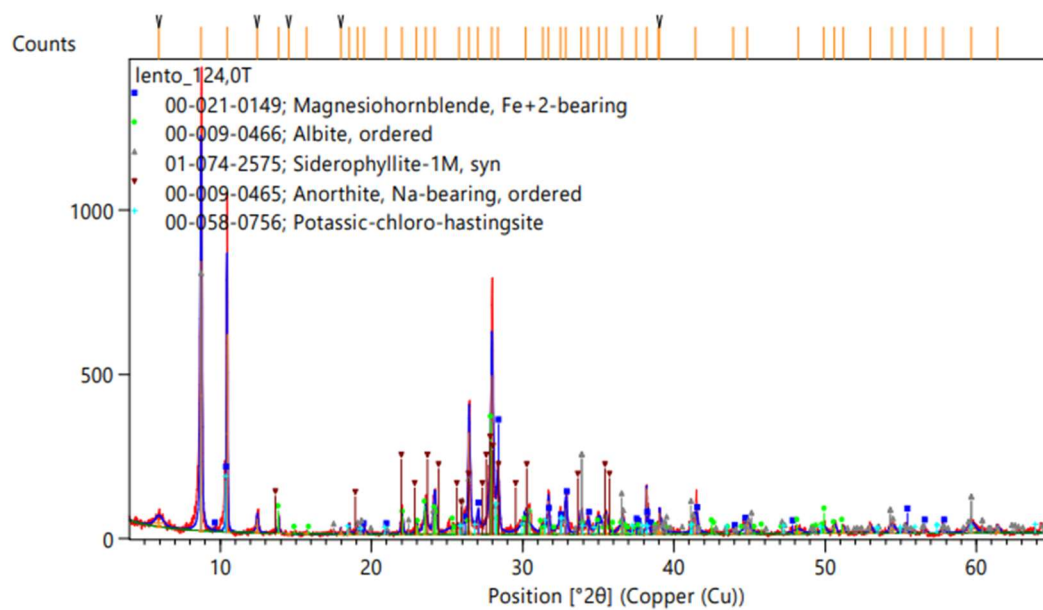
Page: 1 of 1

Date: 30/06/2023 Time: 10:23:51 File: lento\_121,4T User: rafa.rebelo



Page: 1 of 1

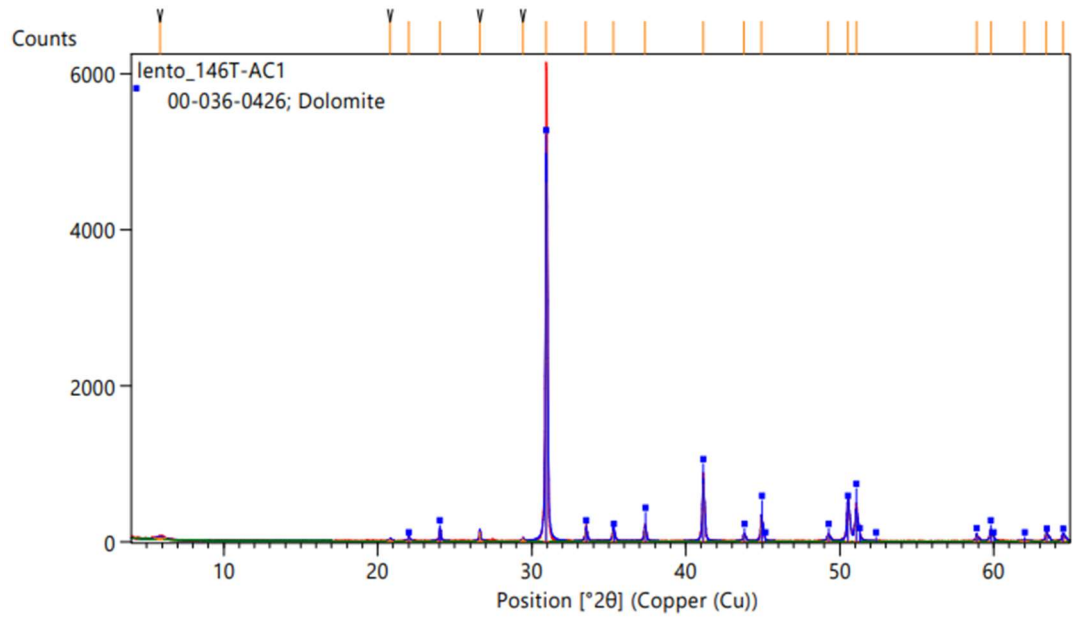
Date: 02/08/2023 Time: 13:13:17 File: lento\_124,0T User: rafa.rebelo



Page: 1 of 1

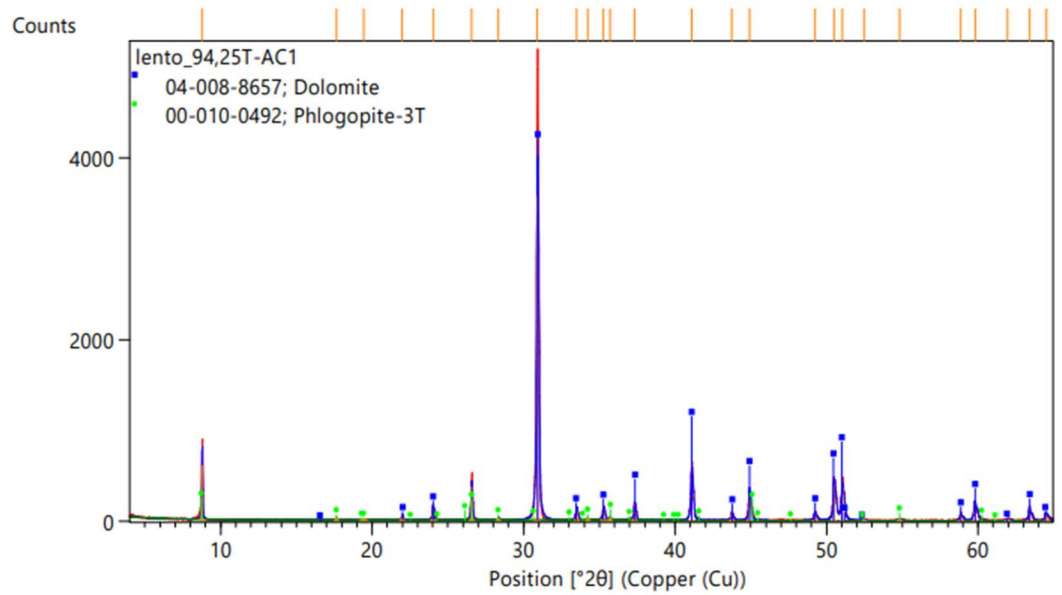
AC1

Date: 22/08/2023 Time: 14:45:15 File: lento\_146T-AC1 User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

Date: 02/08/2023 Time: 14:09:52 File: lento\_94,25T-AC1 User: rafa.rebello



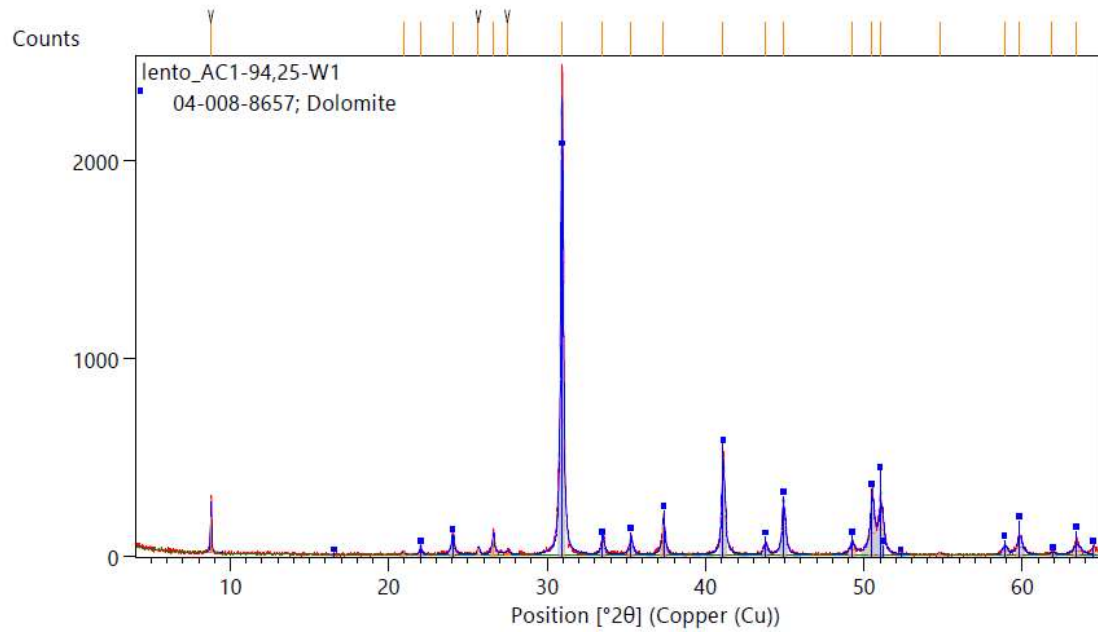
Page: 1 of 1

## Difração da amostra parcial AC1

Date: 23/08/2023 Time: 02:47:25

File: lento\_AC1-94,25-W1

User: rafa.rebelo

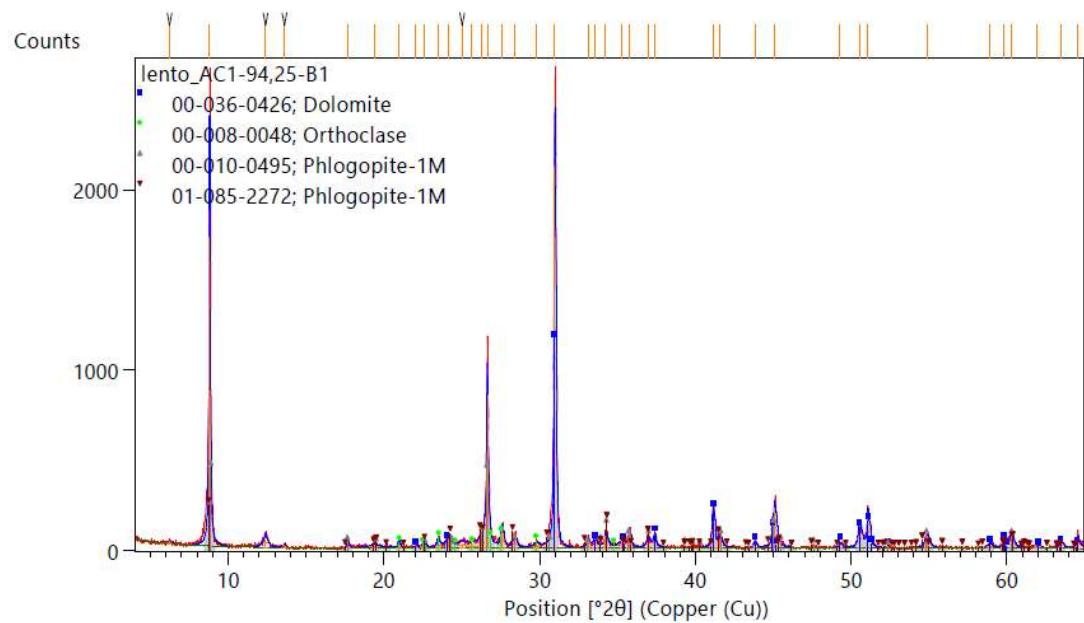


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:45:48

File: lento\_AC1-94,25-B1

User: rafa.rebelo

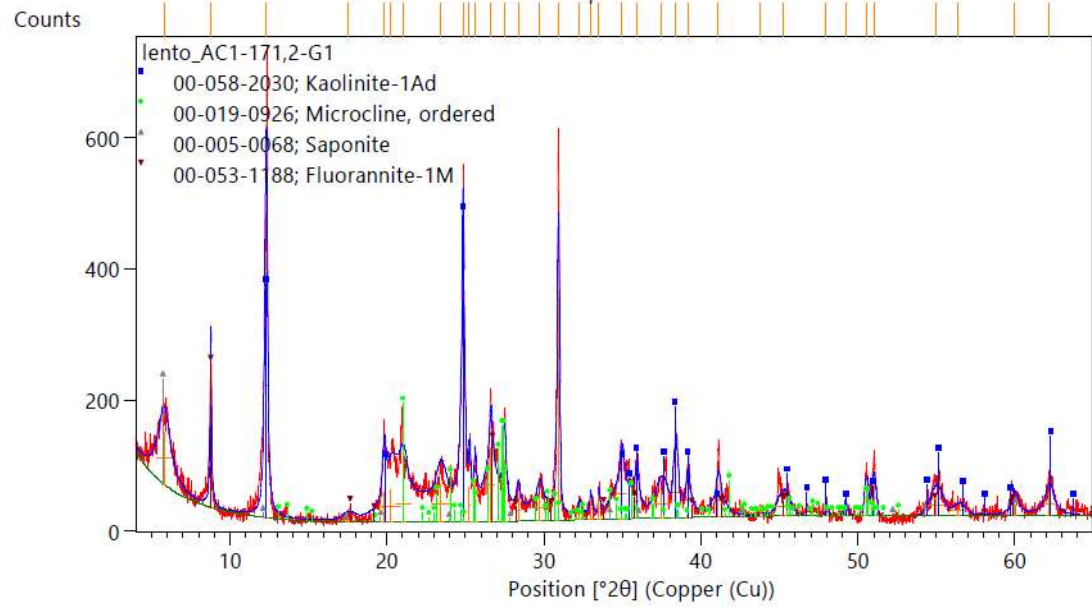


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:45:20

File: lento\_AC1-171,2-G1

User: rafa.rebello

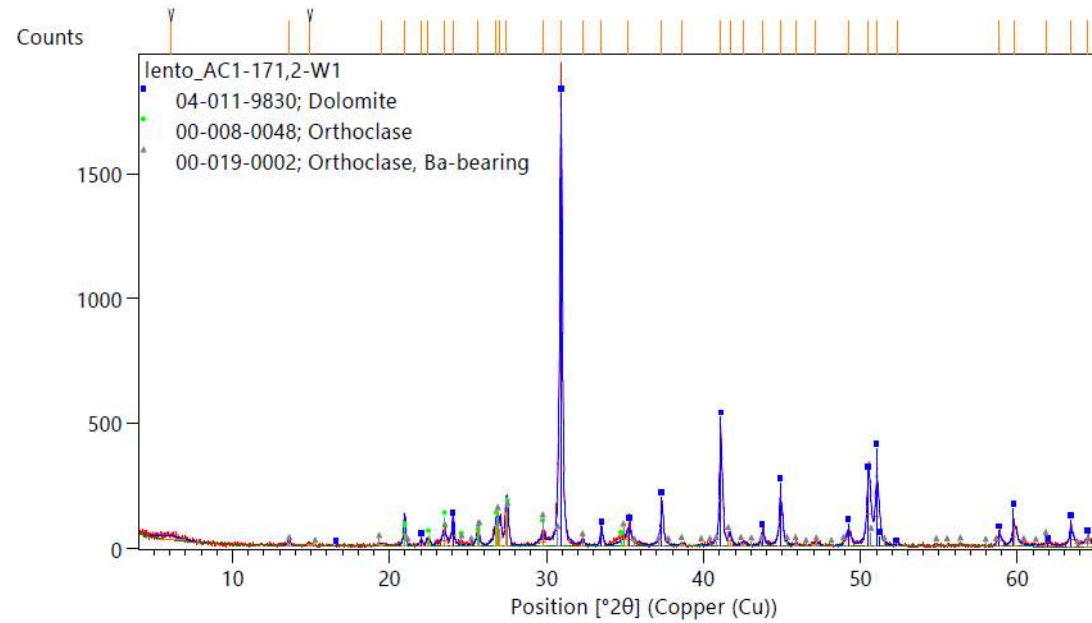


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:45:32

File: lento\_AC1-171,2-W1

User: rafa.rebello

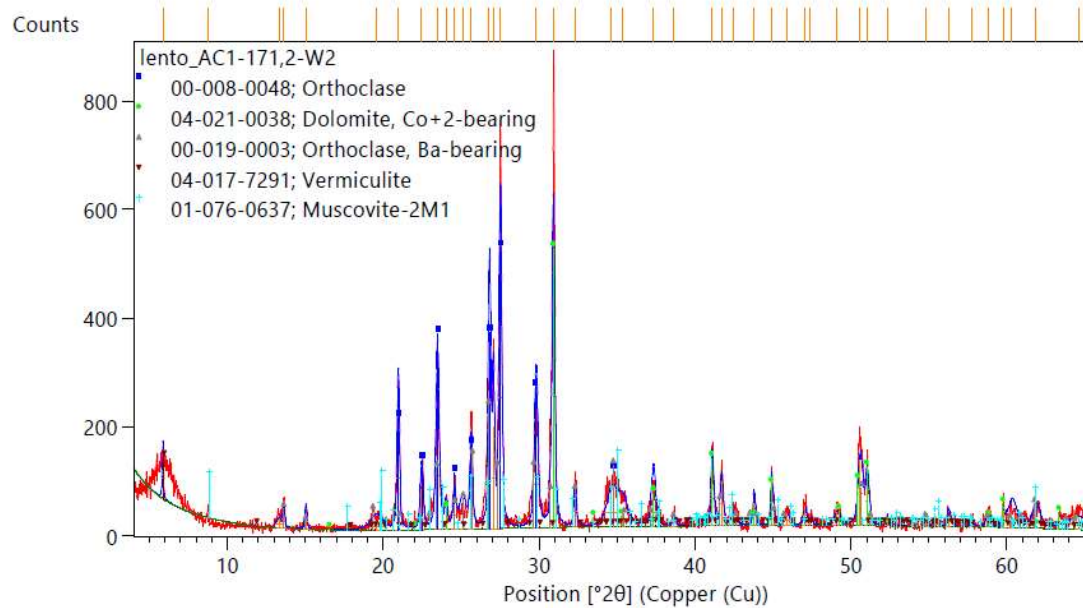


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:45:08

File: lento\_AC1-171,2-W2

User: rafa.rebello

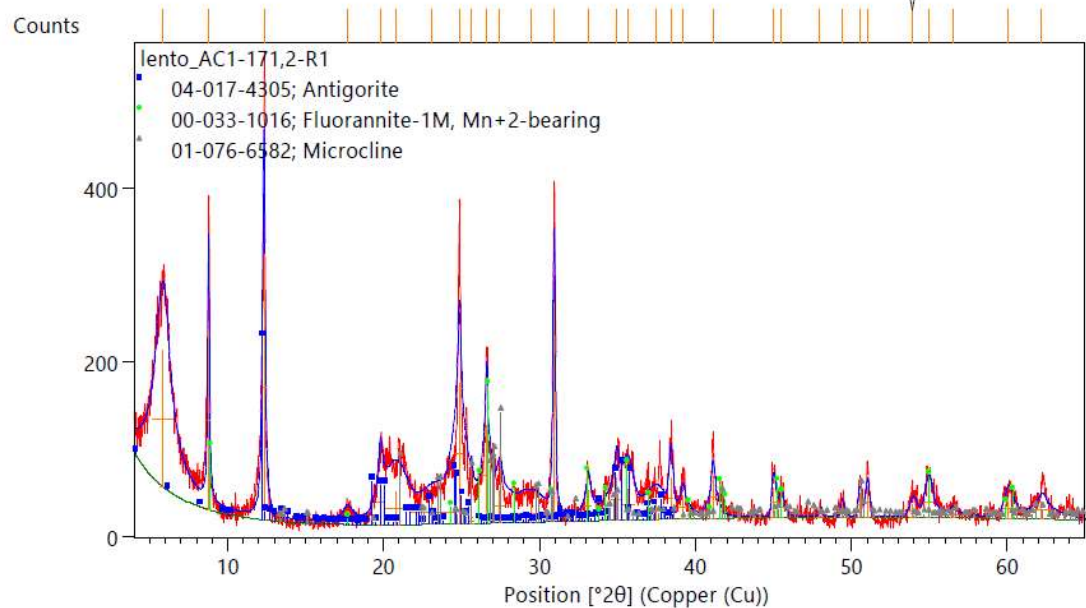


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:44:58

File: lento\_AC1-171,2-R1

User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

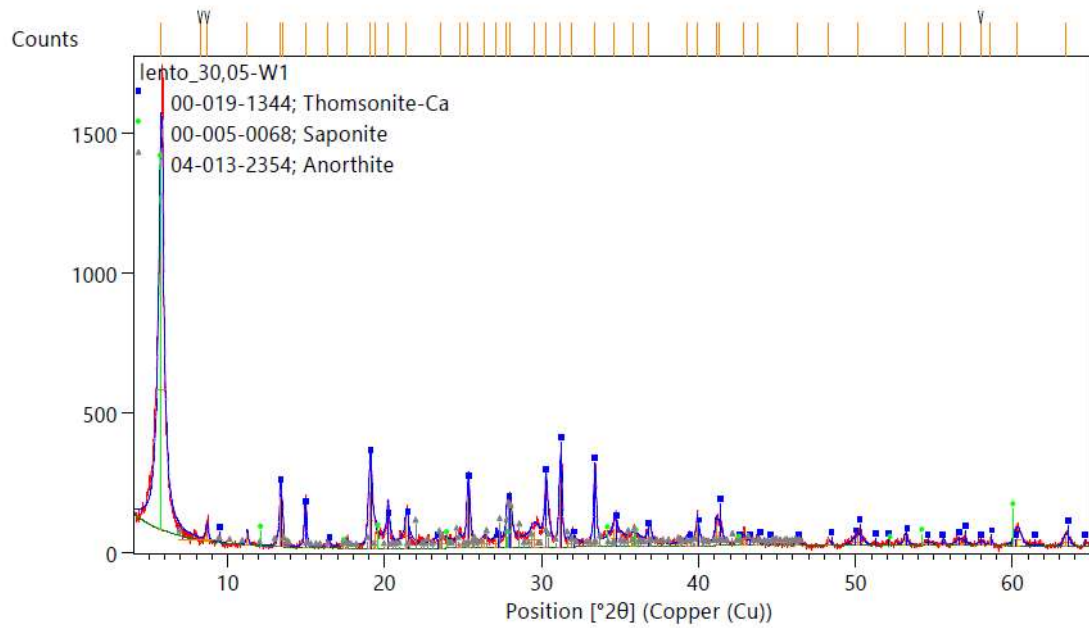


## AC2

Date: 23/08/2023 Time: 02:33:56

File: lento\_30,05-W1

User: rafa.rebelo

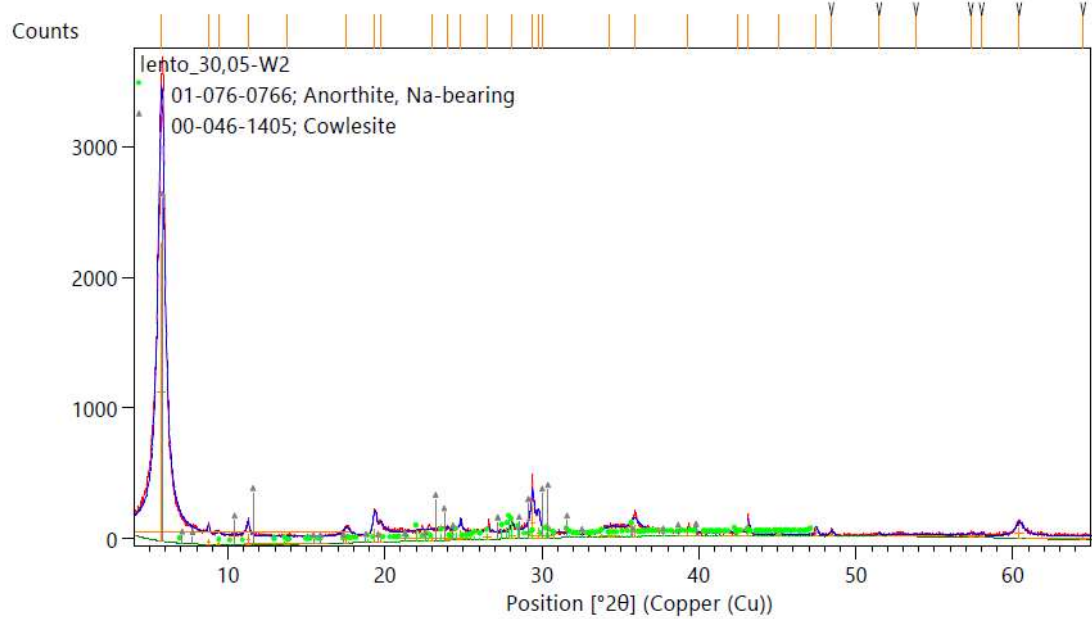


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:34:07

File: lento\_30,05-W2

User: rafa.rebelo

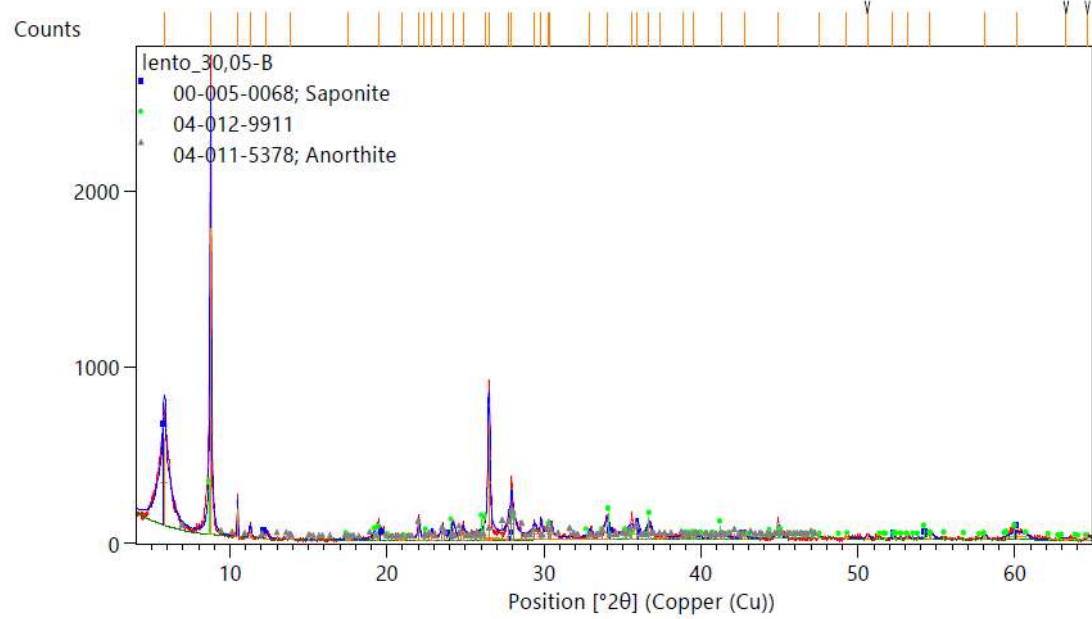


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:33:40

File: lento\_30,05-B

User: rafa.rebello

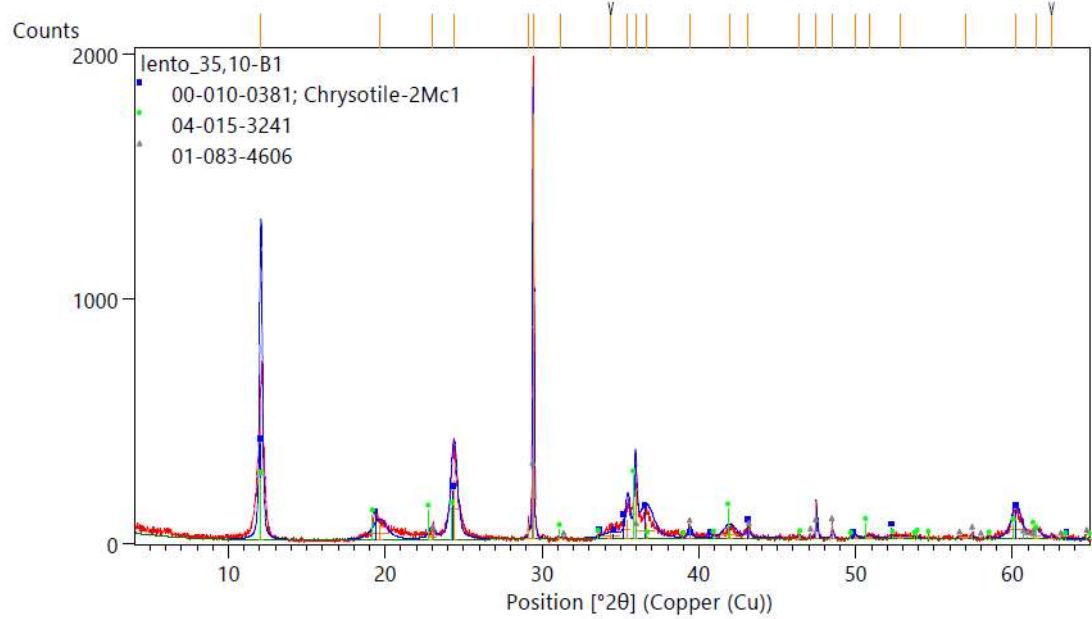


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:34:21

File: lento\_35,10-B1

User: rafa.rebello

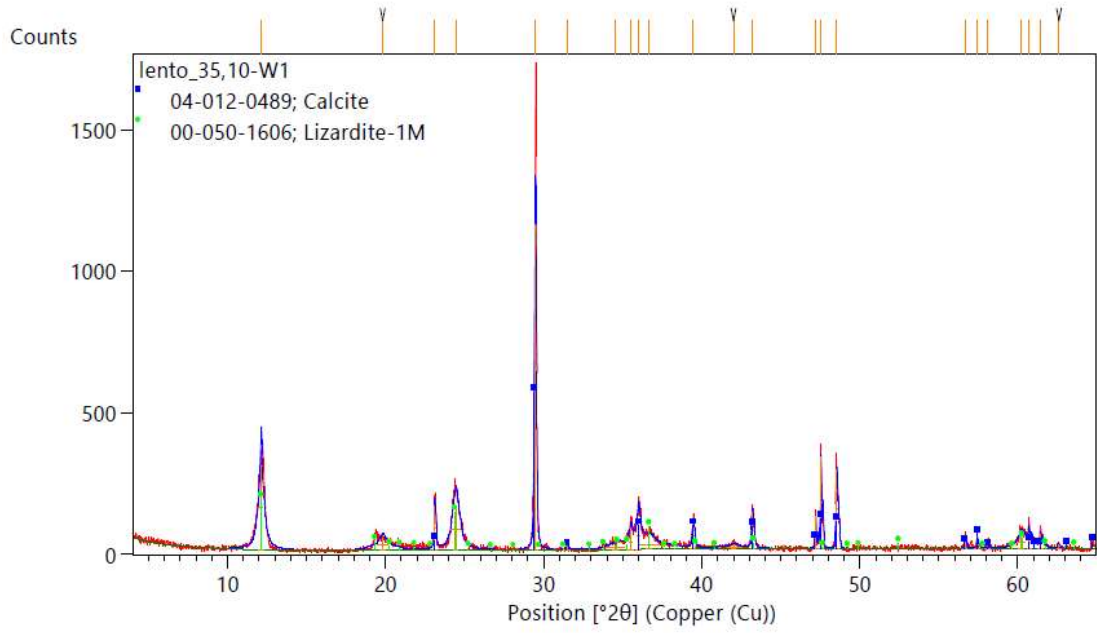


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:34:34

File: lento\_35,10-W1

User: rafa.rebelo

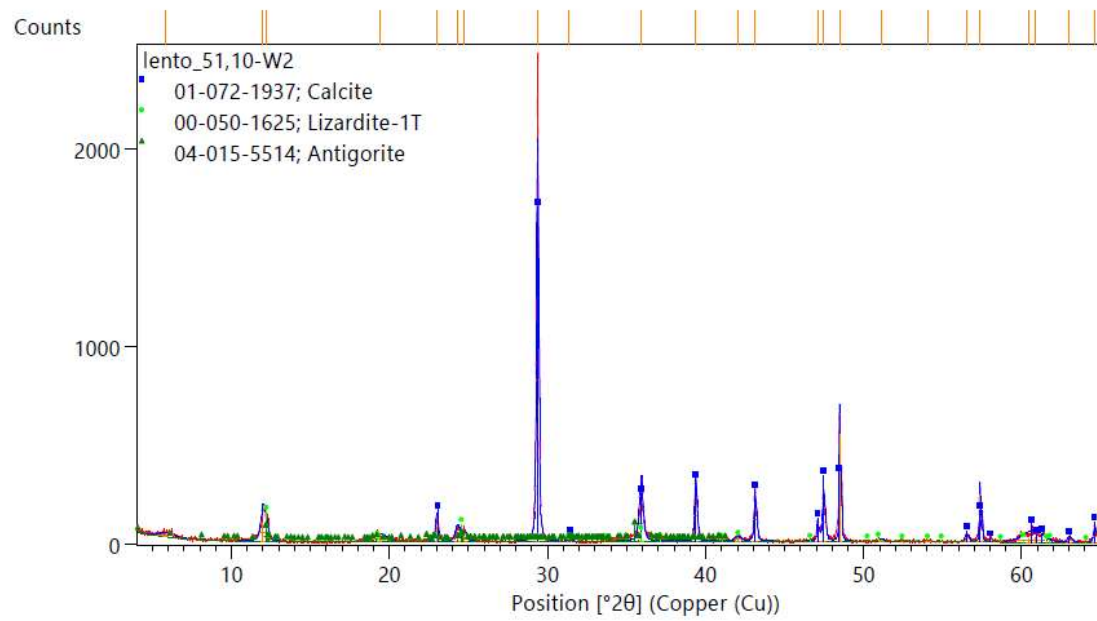


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:07:13

File: lento\_51,10-W2

User: rafa.rebelo

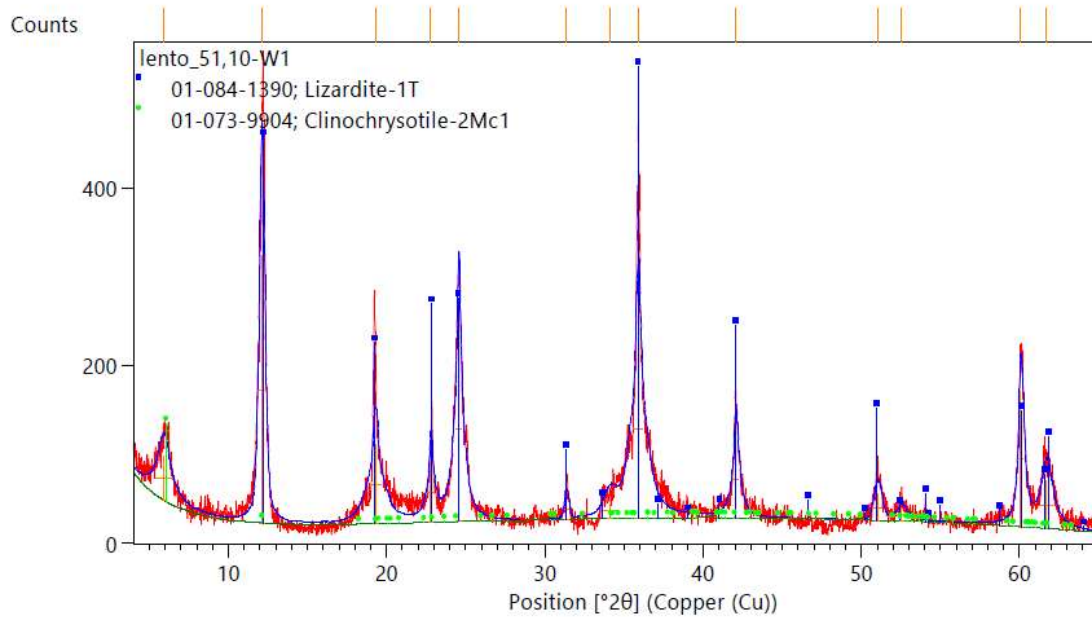


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:05:37

File: lento\_51,10-W1

User: rafa.rebelo

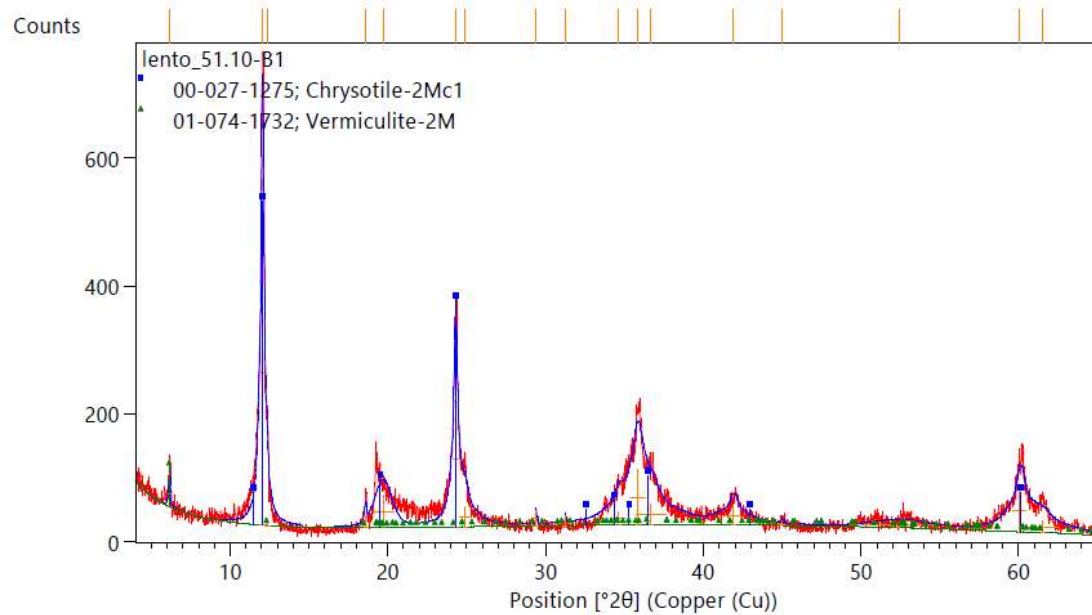


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 14:44:31

File: lento\_51

User: rafa.rebelo

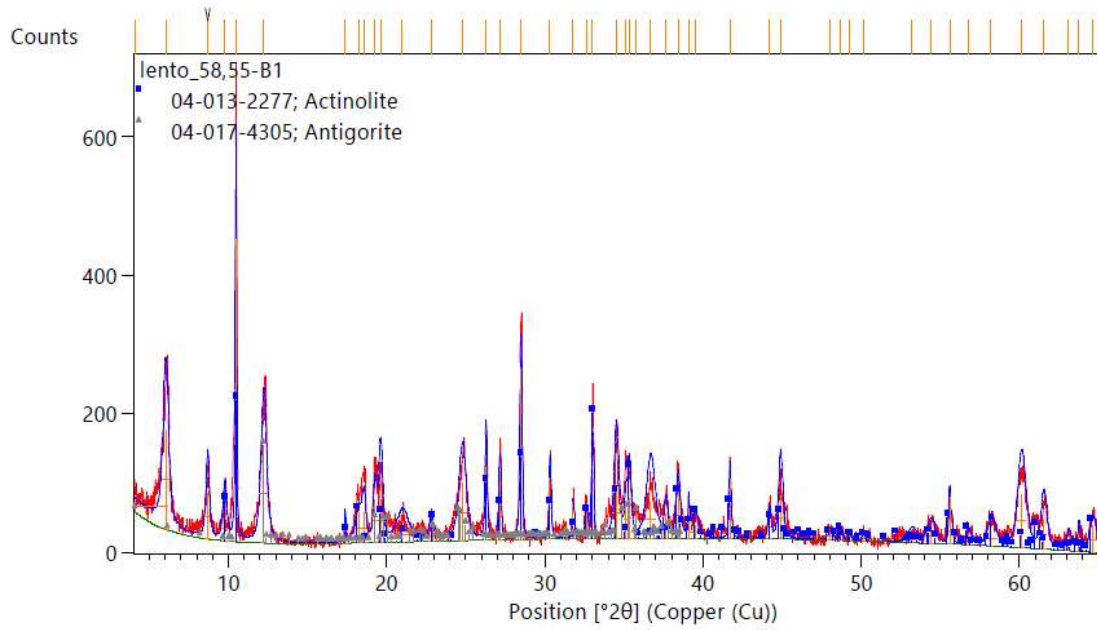


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:09:34

File: lento\_58,55-B1

User: rafa.rebello

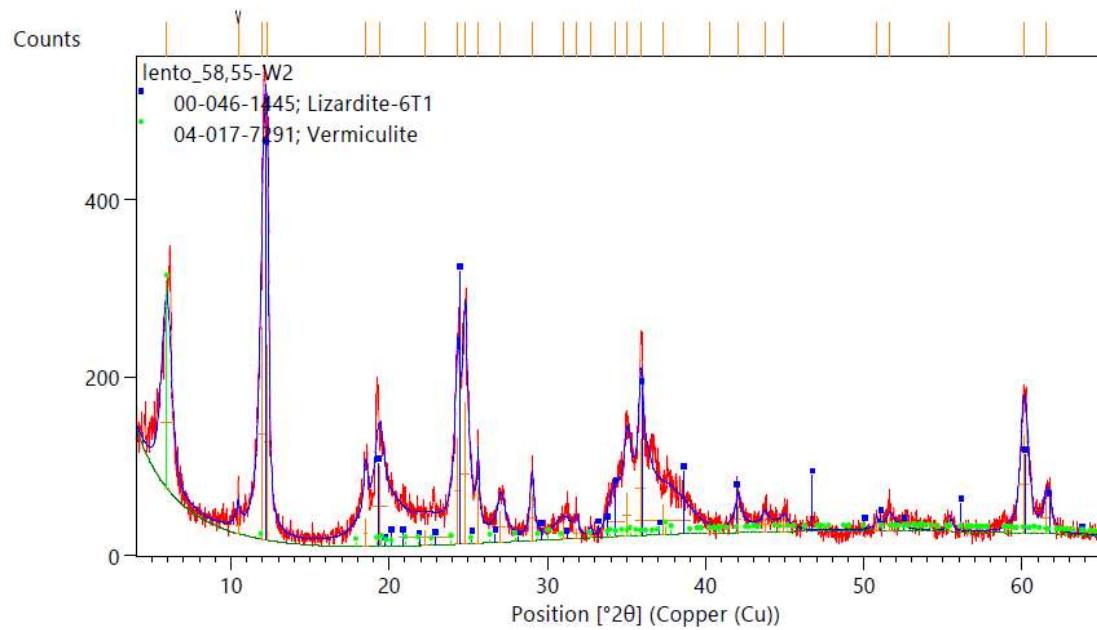


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:10:43

File: lento\_58,55-W2

User: rafa.rebello

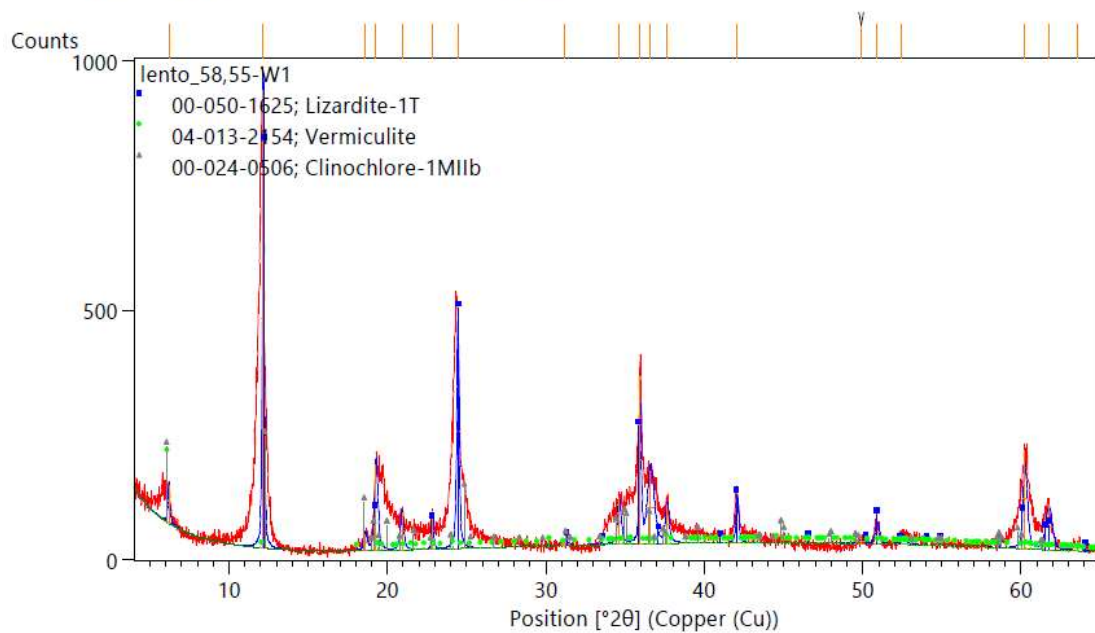


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:10:10

File: lento\_58,55-W1

User: rafa.rebello

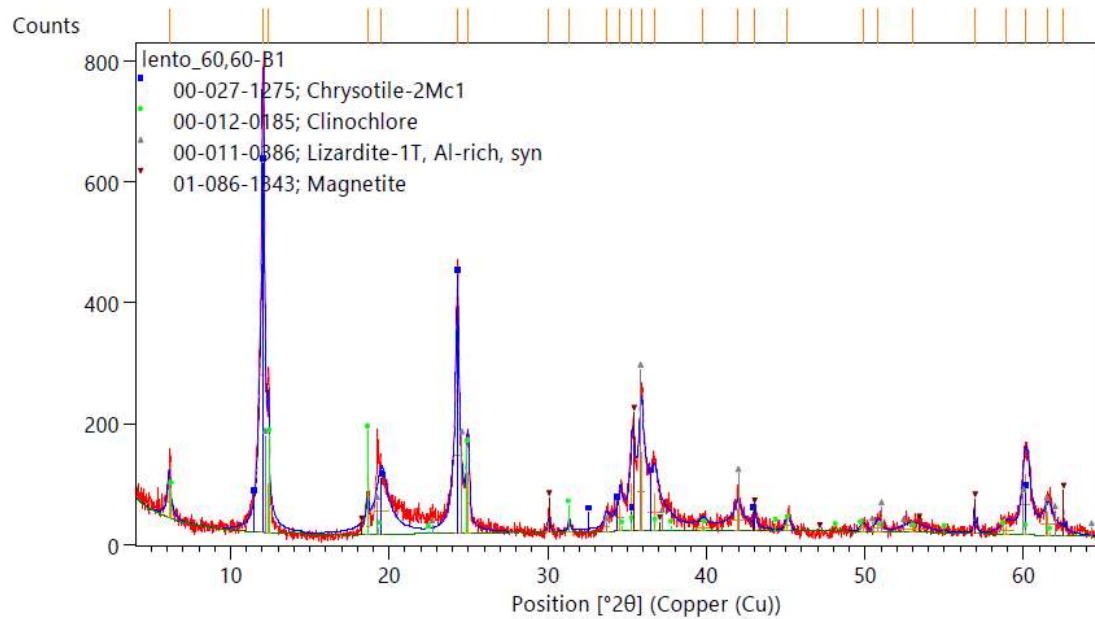


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:19:51

File: lento\_60,60-B1

User: rafa.rebello

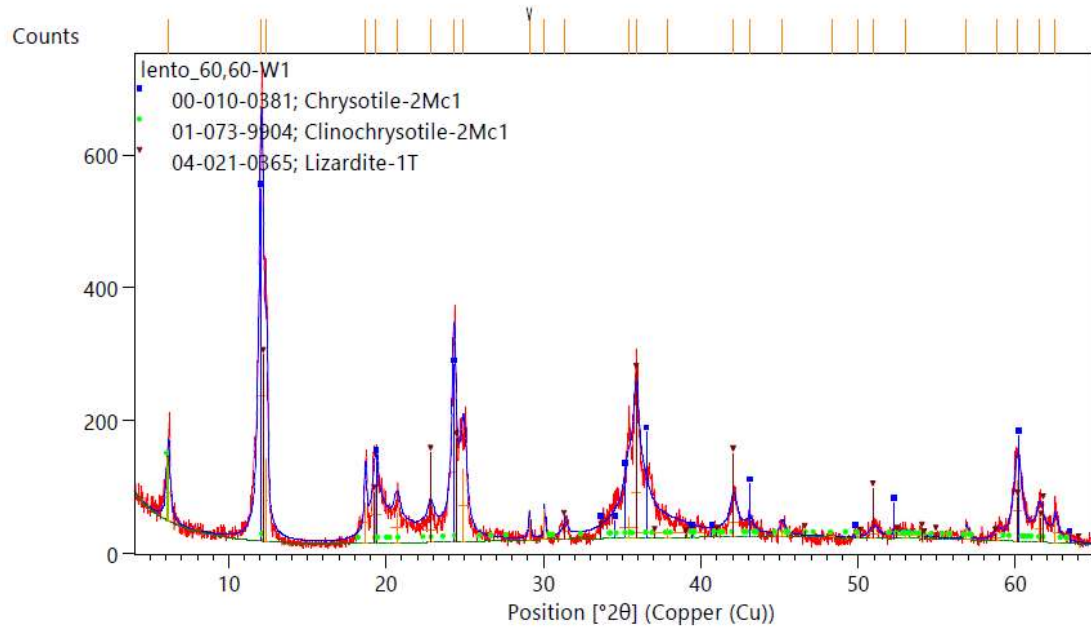


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:21:02

File: lento\_60,60-W1

User: rafa.rebello

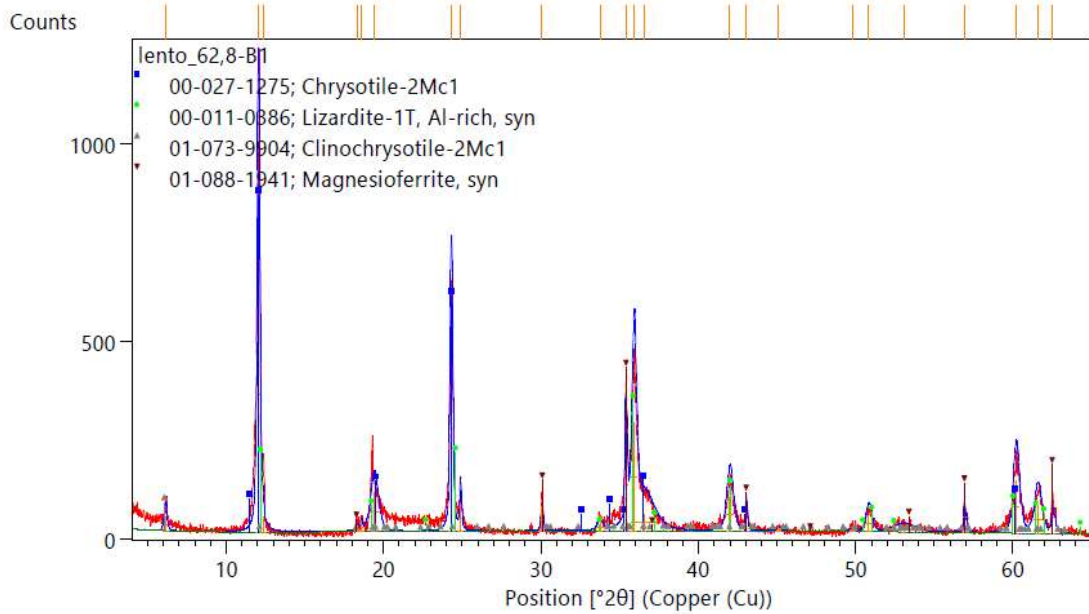


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:33:07

File: lento\_62,8-B1

User: rafa.rebello

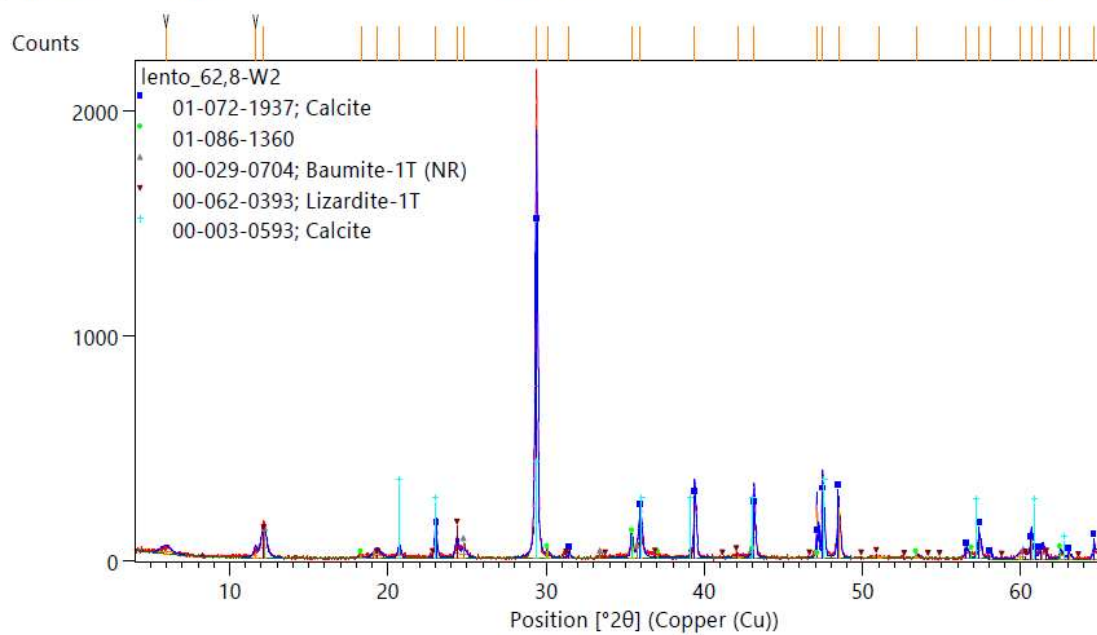


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:34:07

File: lento\_62,8-W2

User: rafa.rebelo

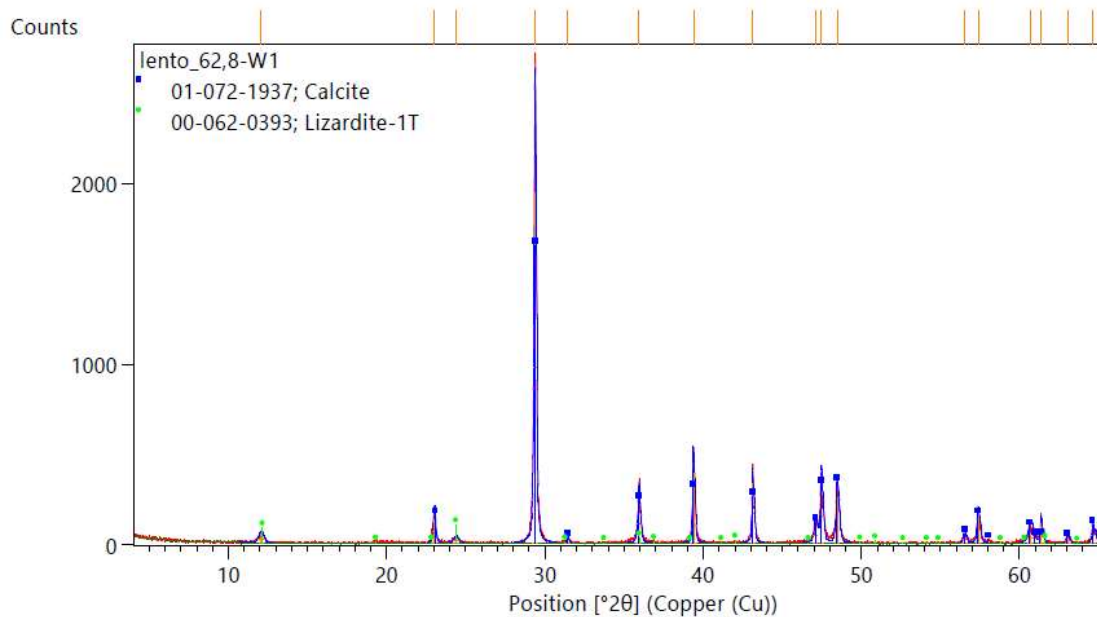


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:33:39

File: lento\_62,8-W1

User: rafa.rebelo



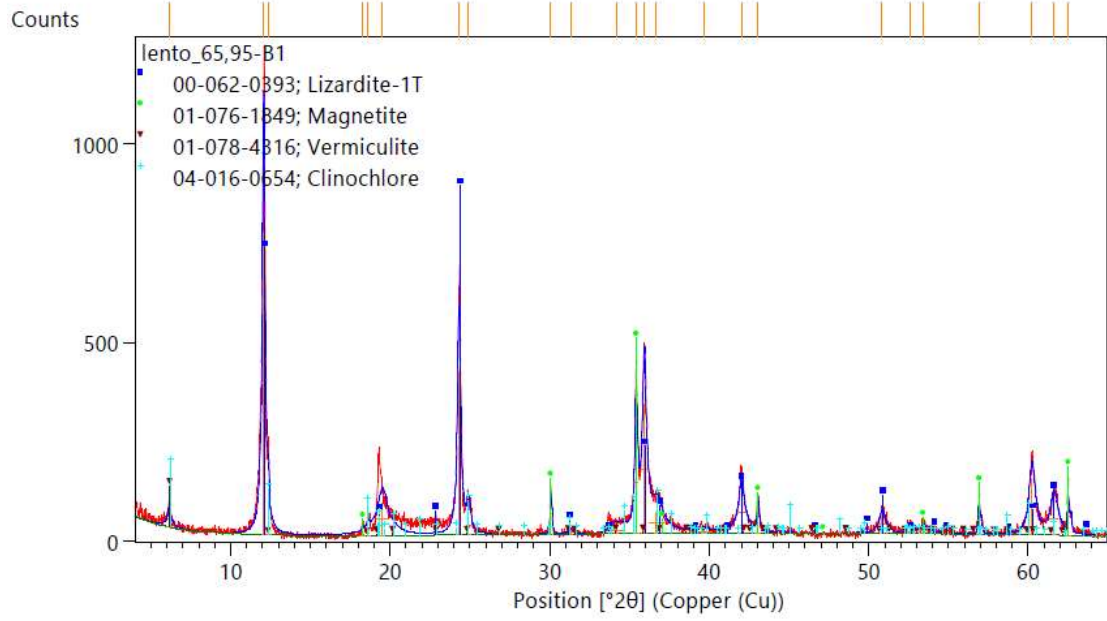
Page: 1 of 1



Date: 05/04/2023 Time: 15:37:15

File: lento\_65,95-B1

User: rafa.rebelo

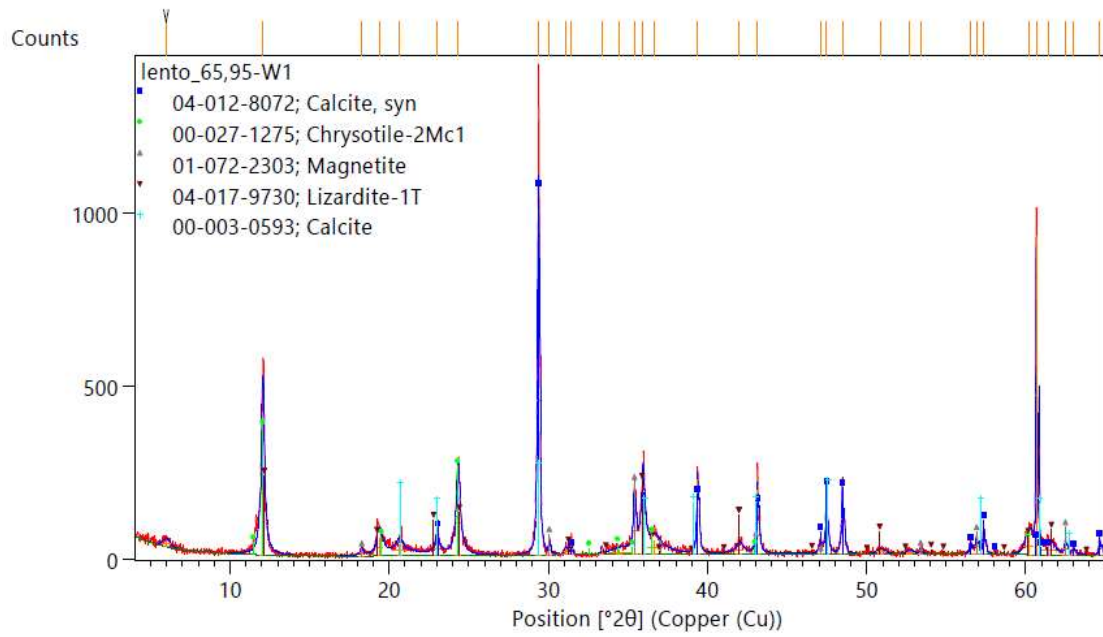


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:37:49

File: lento\_65,95-W1

User: rafa.rebelo

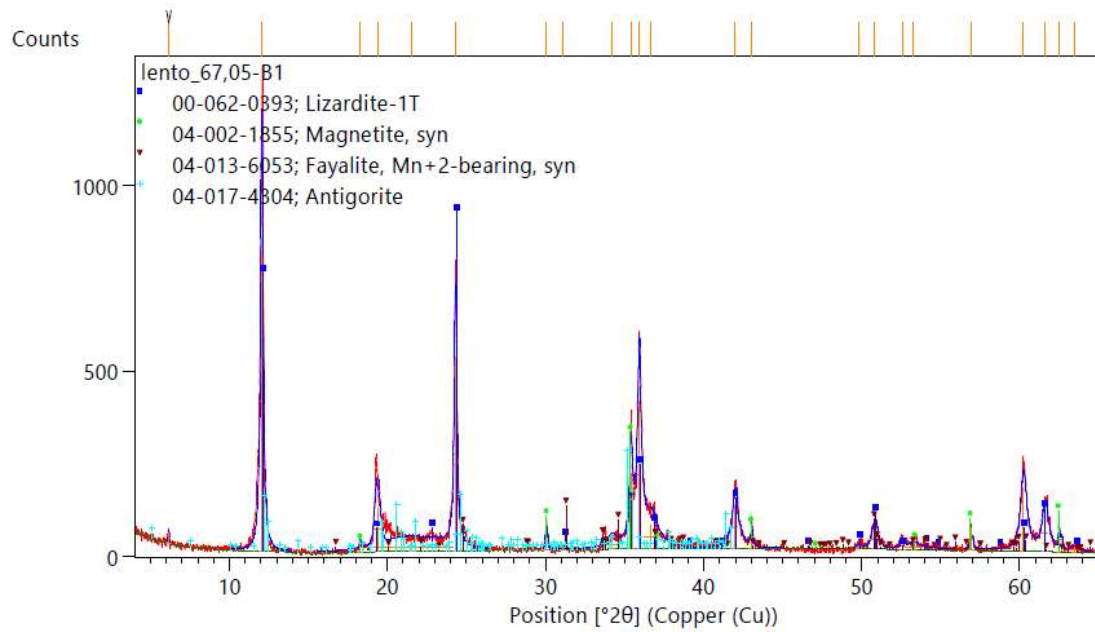


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:40:12

File: lento\_67,05-B1

User: rafa.rebello

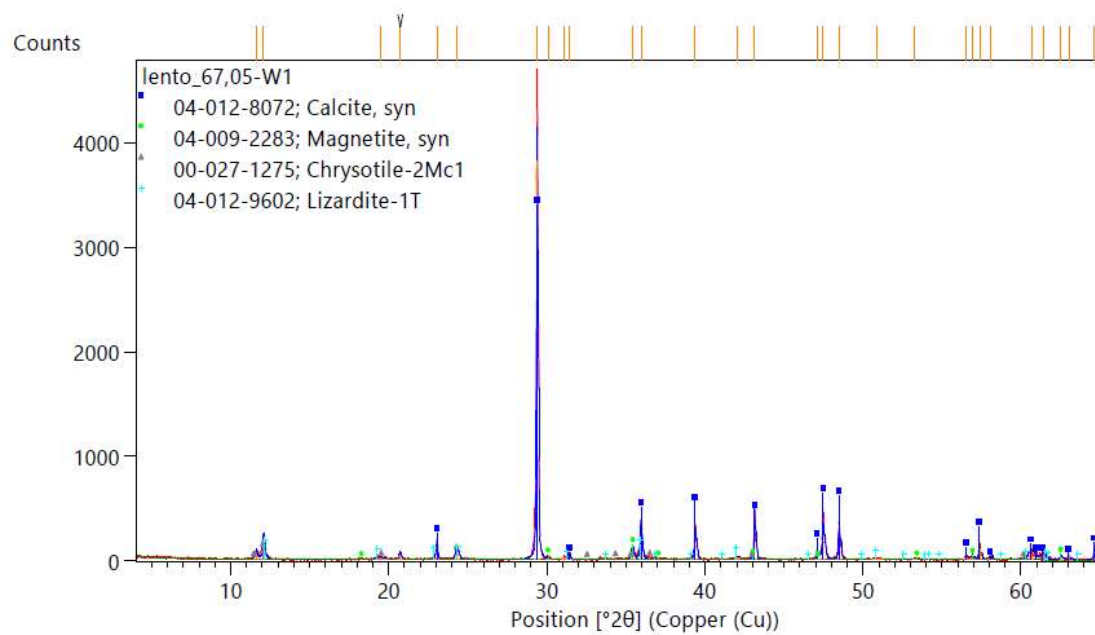


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:40:49

File: lento\_67,05-W1

User: rafa.rebello

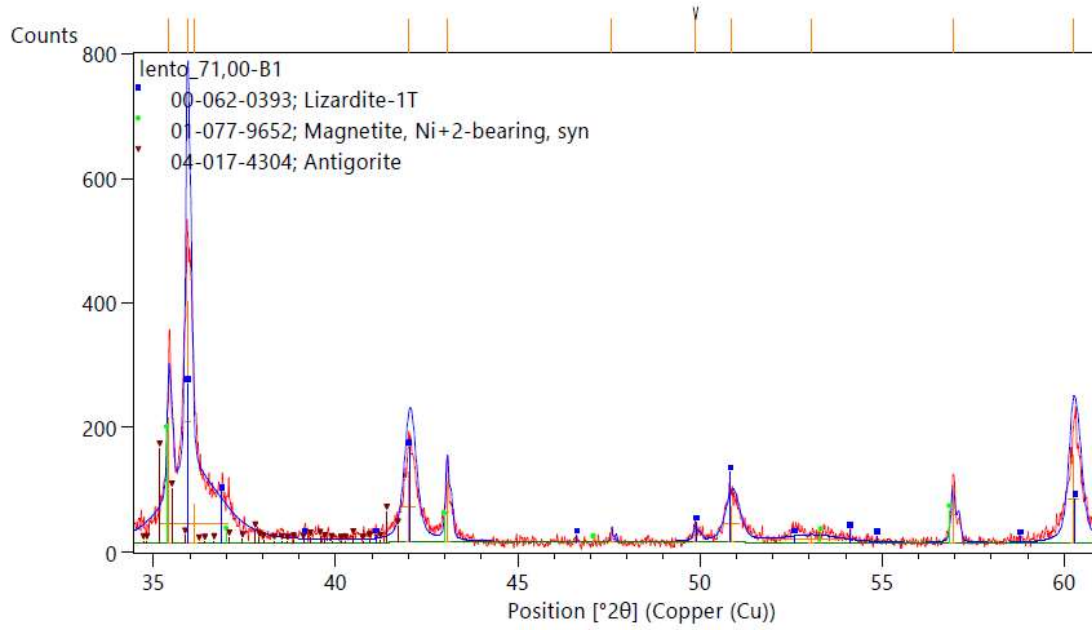


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:42:55

File: lento\_71,00-B1

User: rafa.rebello

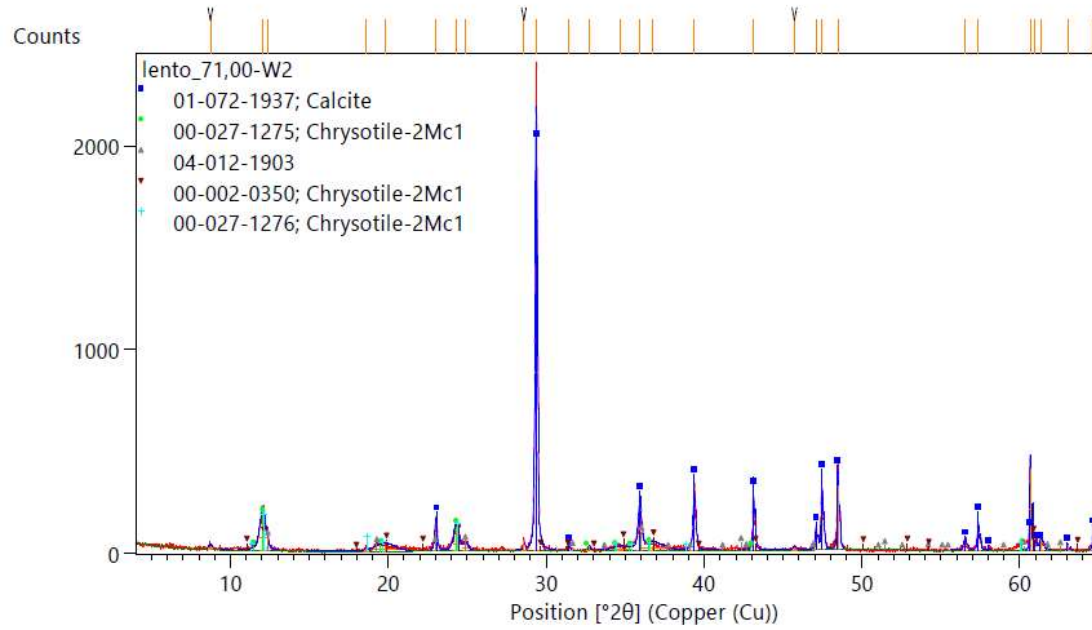


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:44:20

File: lento\_71,00-W2

User: rafa.rebello

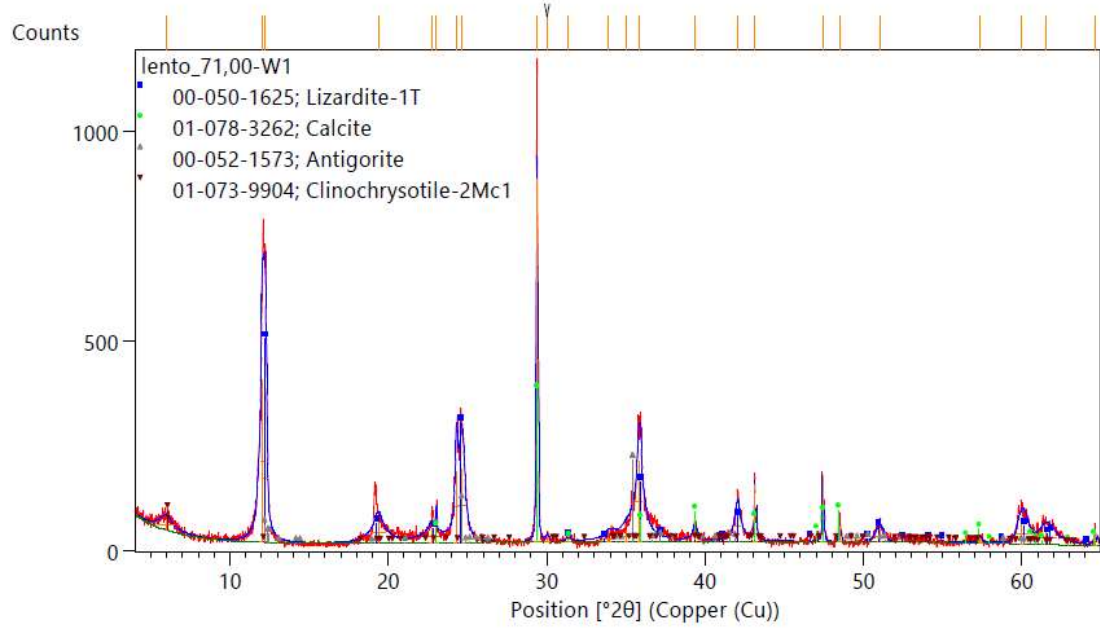


Page: 1 of 1

Date: 05/04/2023 Time: 15:43:29

File: lento\_71,00-W1

User: rafa.rebello

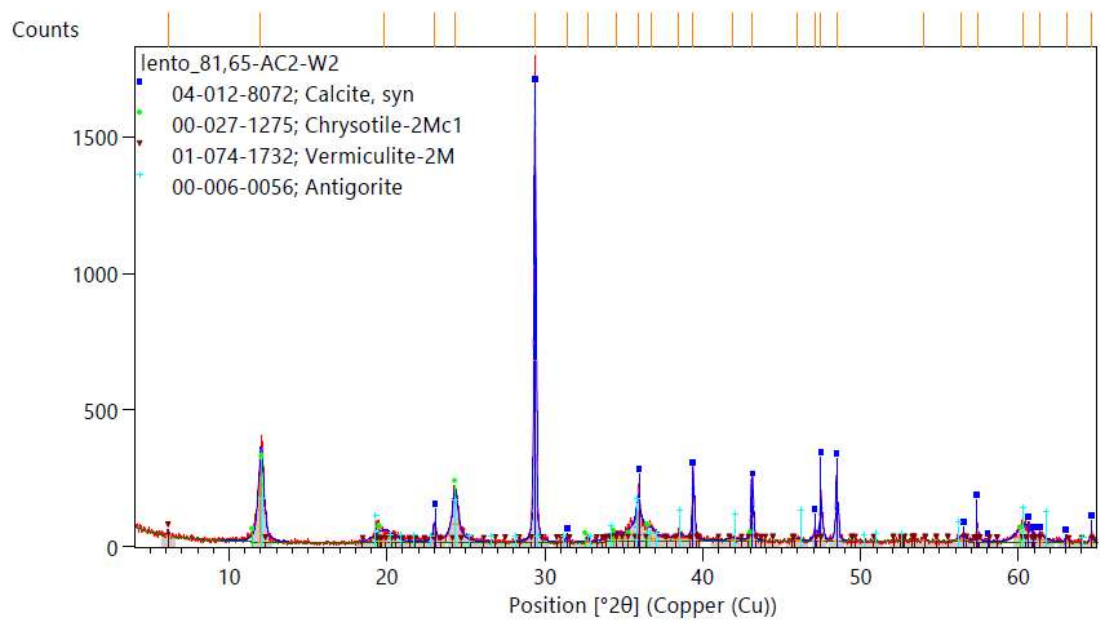


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:02:46

File: lento\_81,65-AC2-W2

User: rafa.rebello

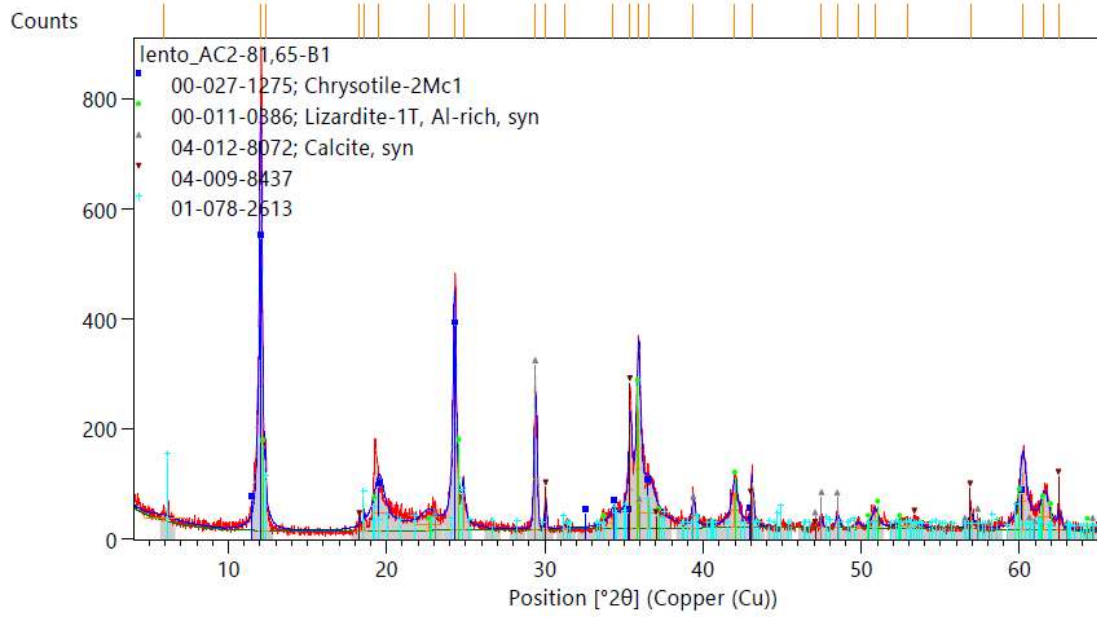


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:03:08

File: lento\_AC2-81,65-B1

User: rafa.rebello

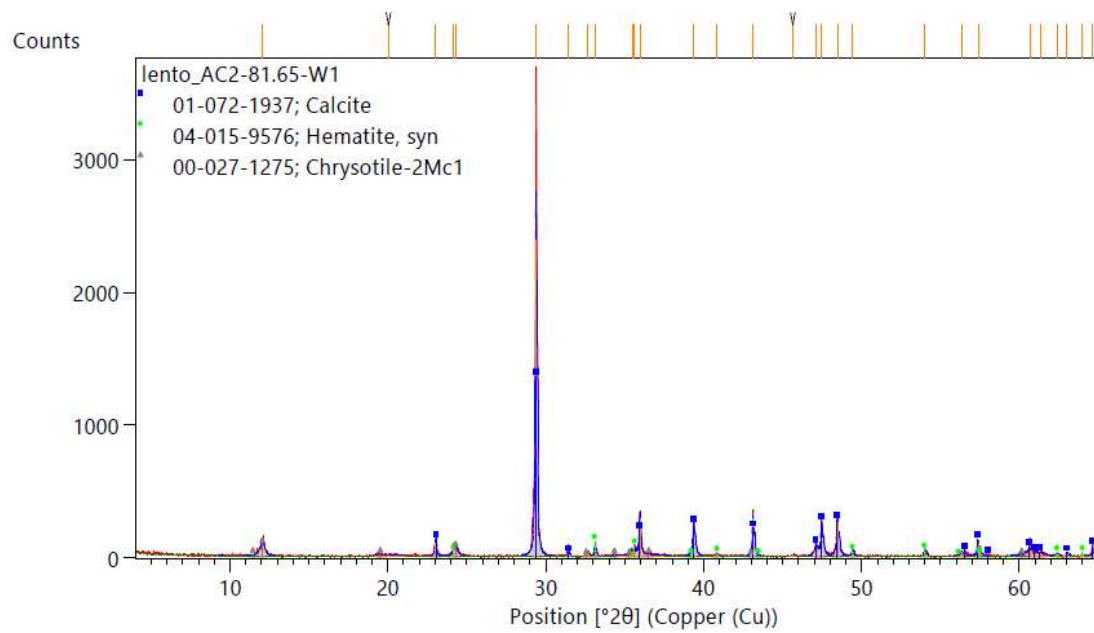


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:03:26

File: lento\_AC2-81

User: rafa.rebello

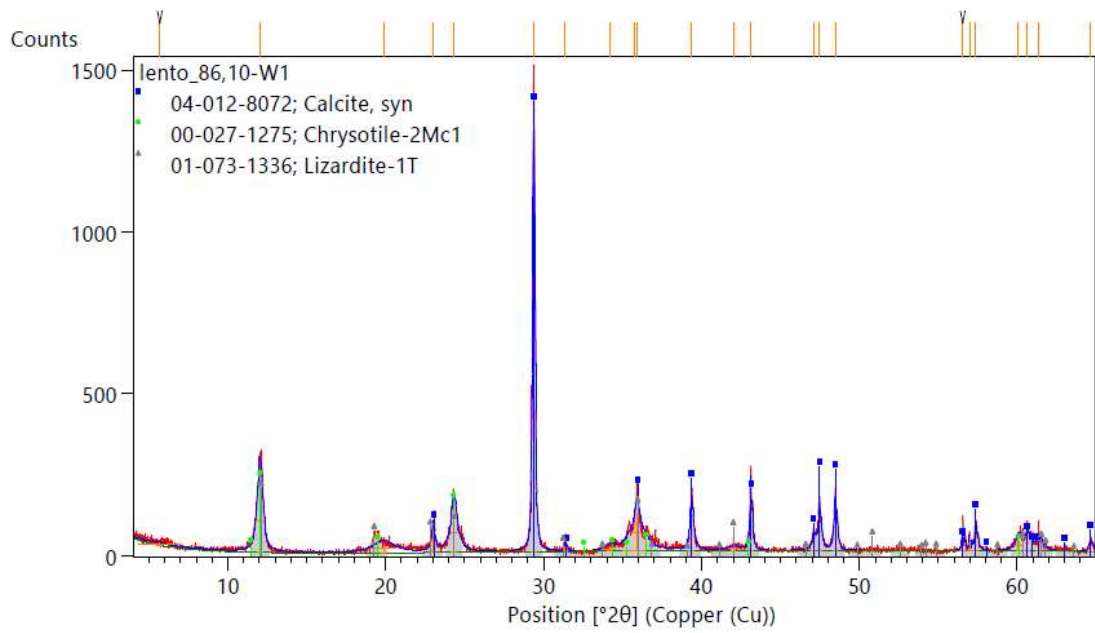


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:06:04

File: lento\_86,10-W1

User: rafa.rebello

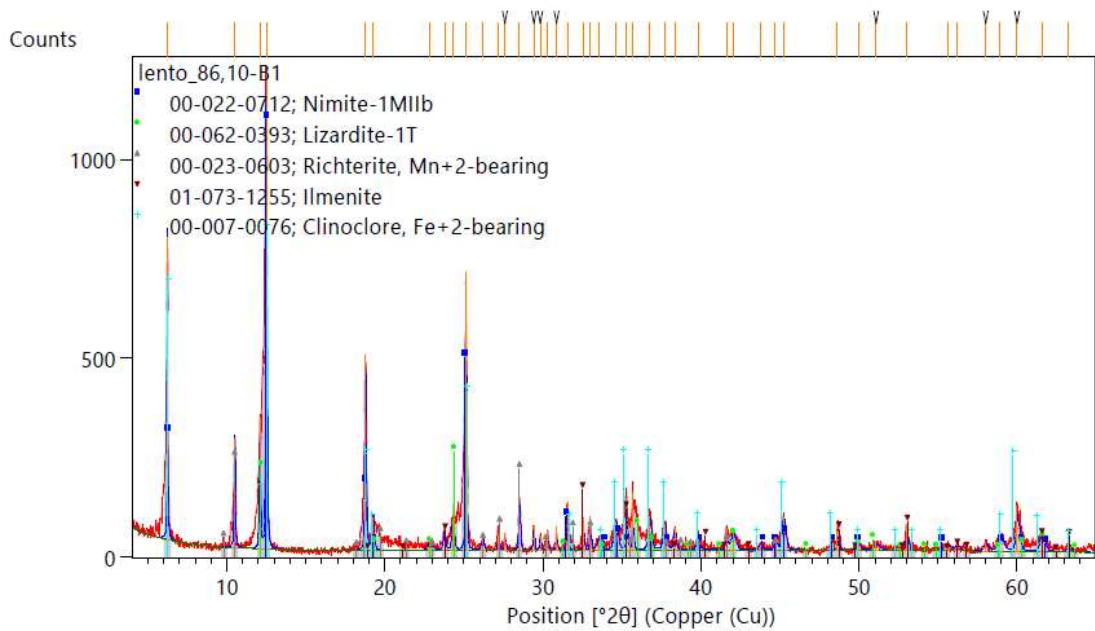


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:05:44

File: lento\_86,10-B1

User: rafa.rebello

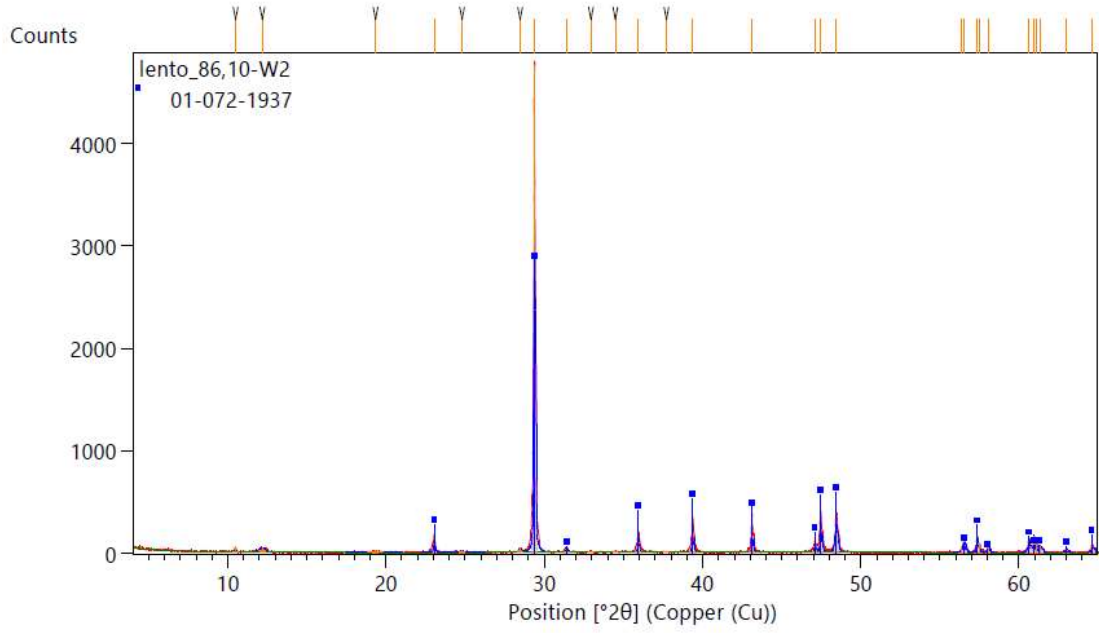


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:06:19

File: lento\_86,10-W2

User: rafa.rebello

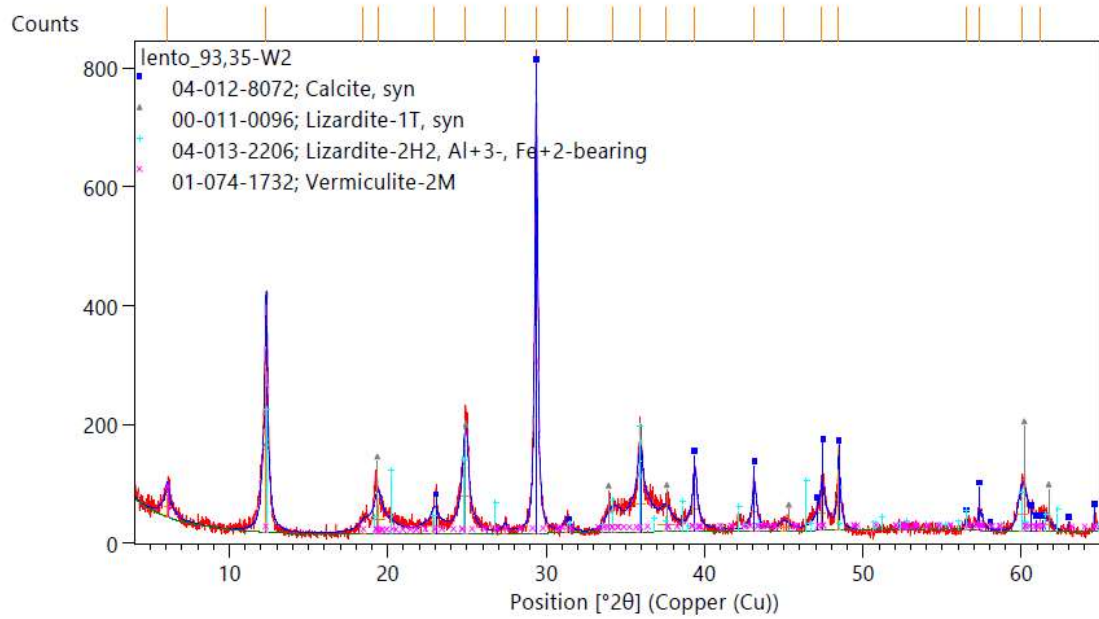


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:10:08

File: lento\_93,35-W2

User: rafa.rebello

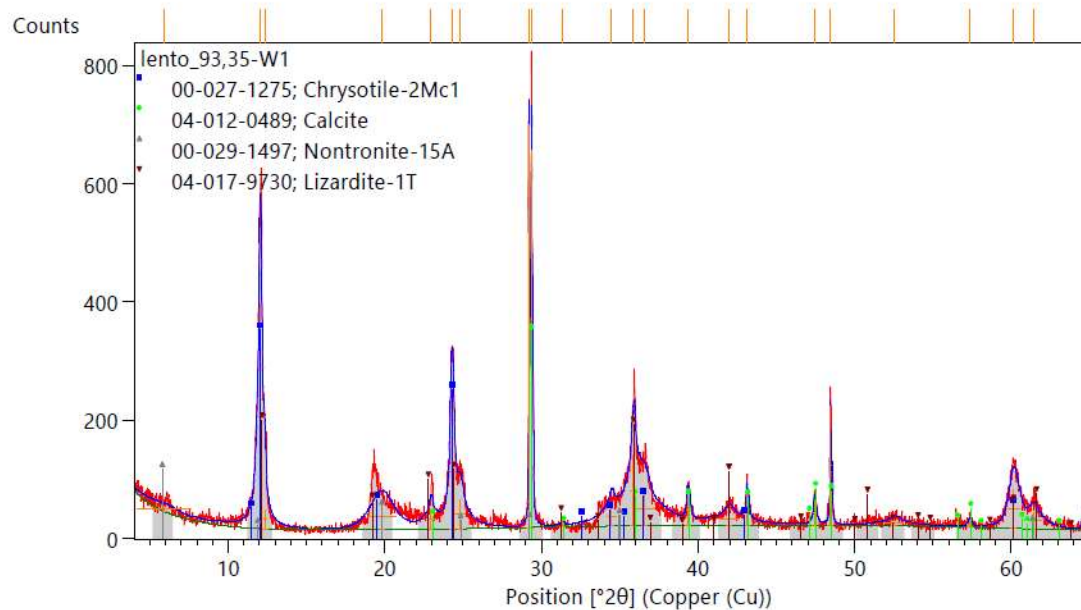


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:09:55

File: lento\_93,35-W1

User: rafa.rebello

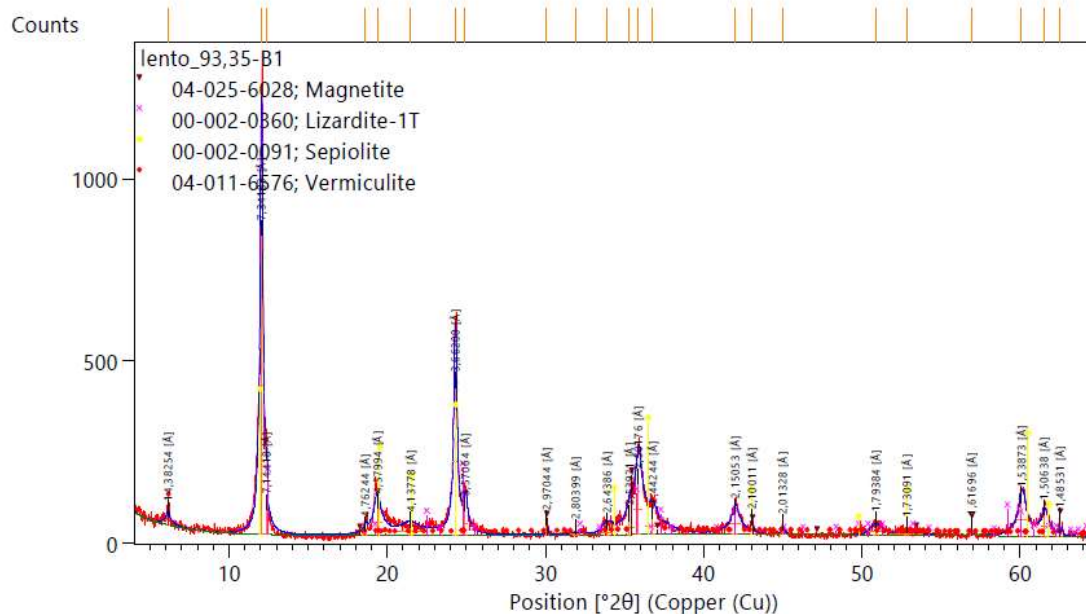


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:09:42

File: lento\_93,35-B1

User: rafa.rebello



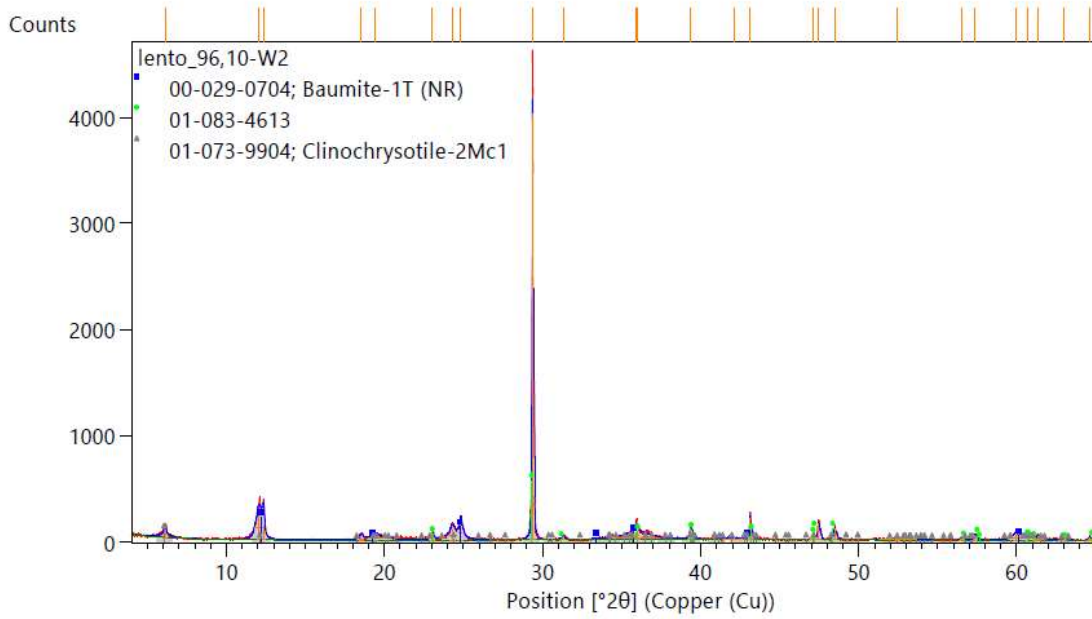
Page: 1 of 1



Date: 23/08/2023 Time: 02:17:34

File: lento\_96,10-W2

User: rafa.rebello

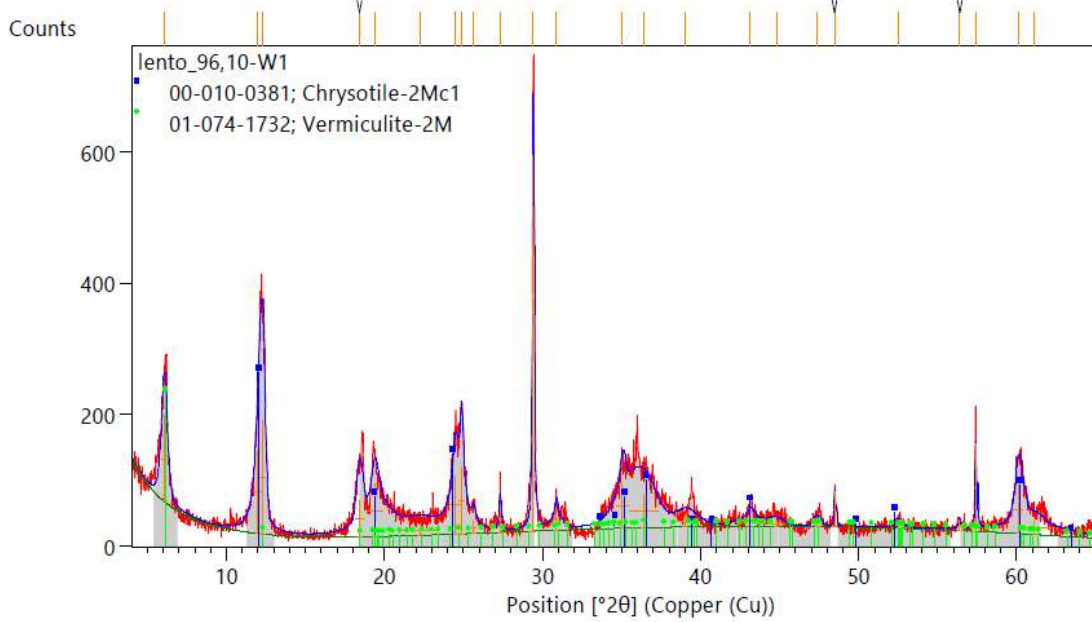


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:17:15

File: lento\_96,10-W1

User: rafa.rebello

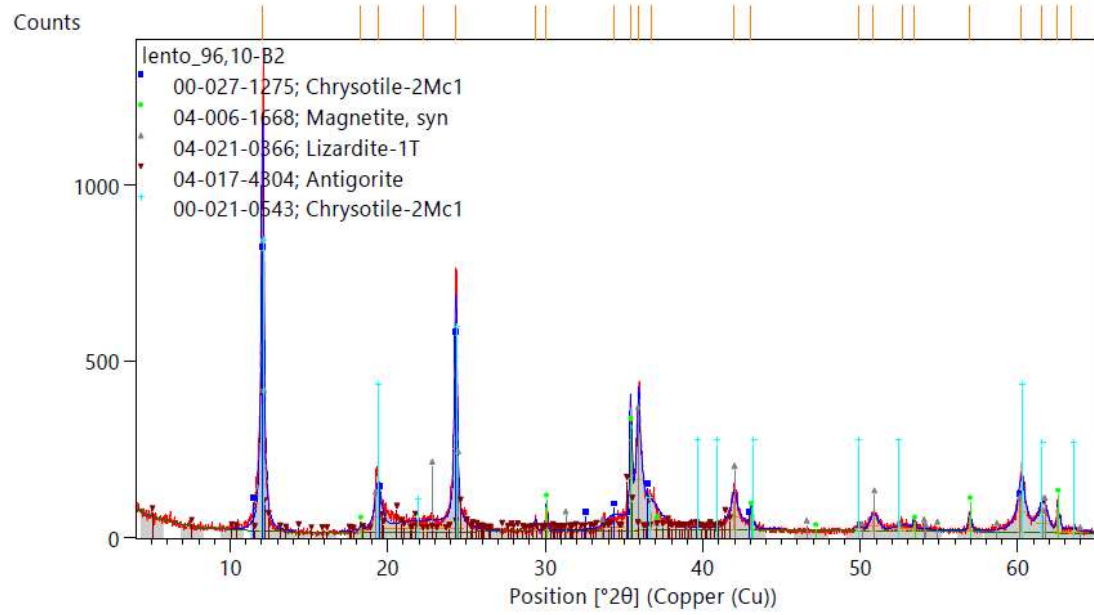


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:16:52

File: lento\_96,10-B2

User: rafa.rebelo

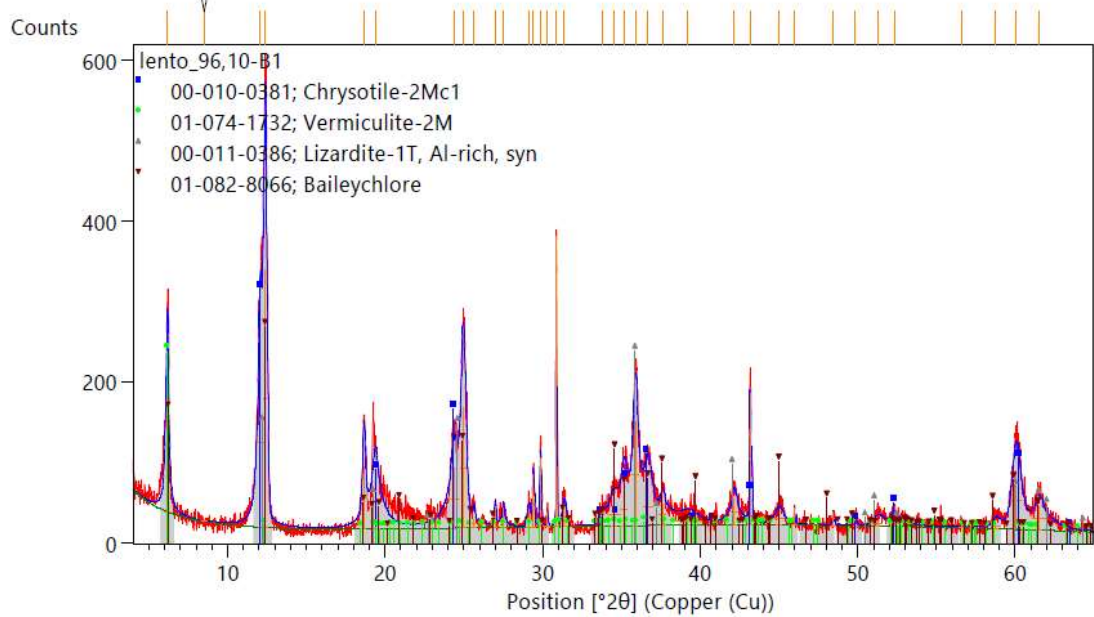


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:16:33

File: lento\_96,10-B1

User: rafa.rebelo

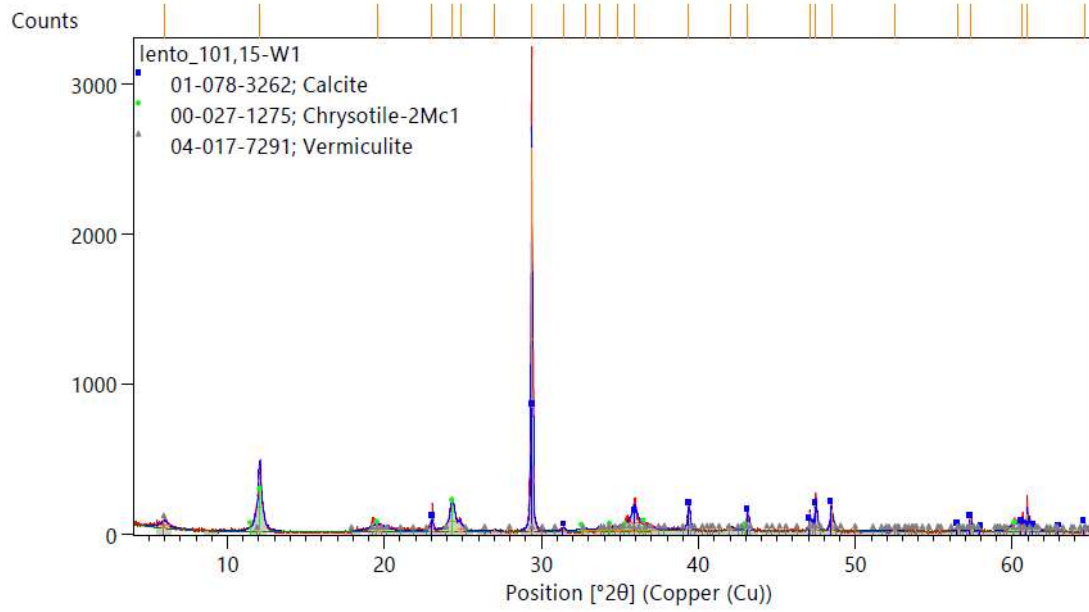


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:19:01

File: lento\_101,15-W1

User: rafa.rebello

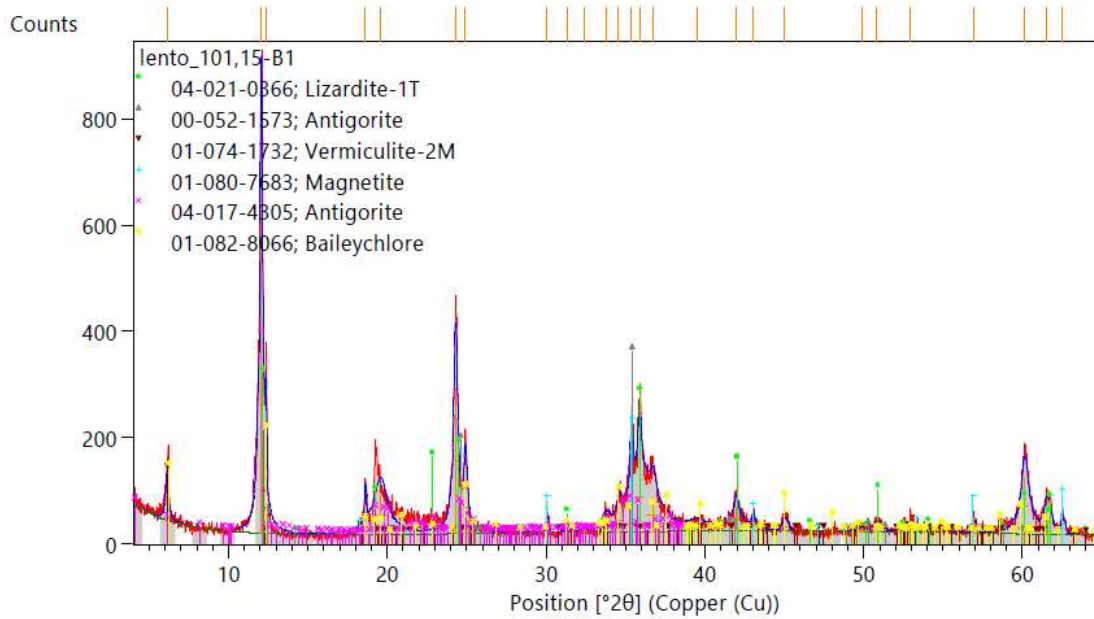


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:18:49

File: lento\_101,15-B1

User: rafa.rebello

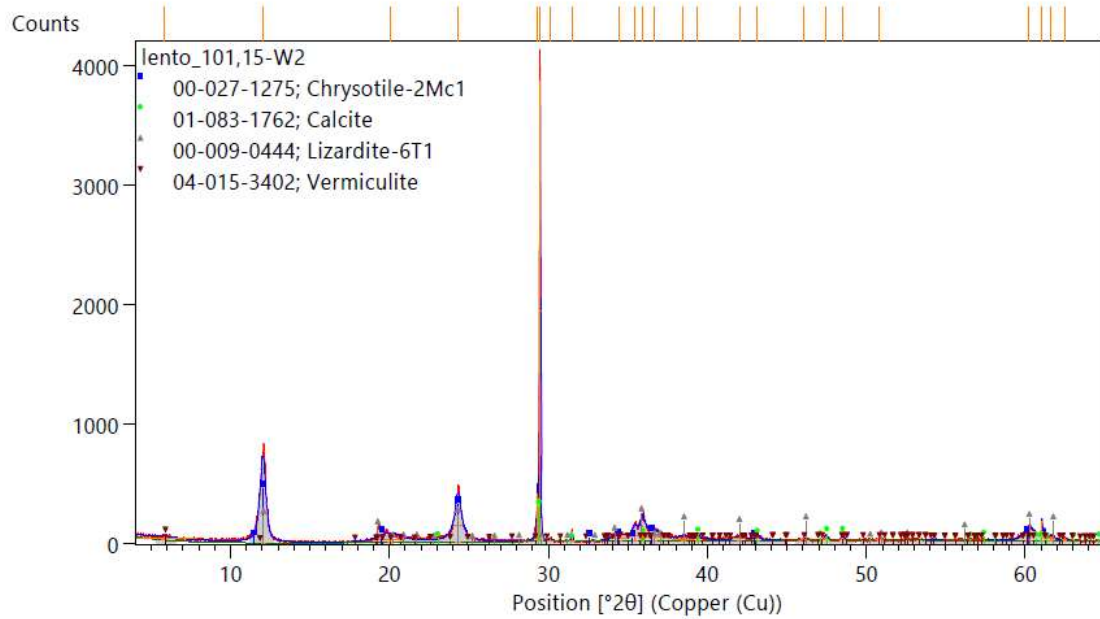


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:19:13

File: lento\_101,15-W2

User: rafa.rebello

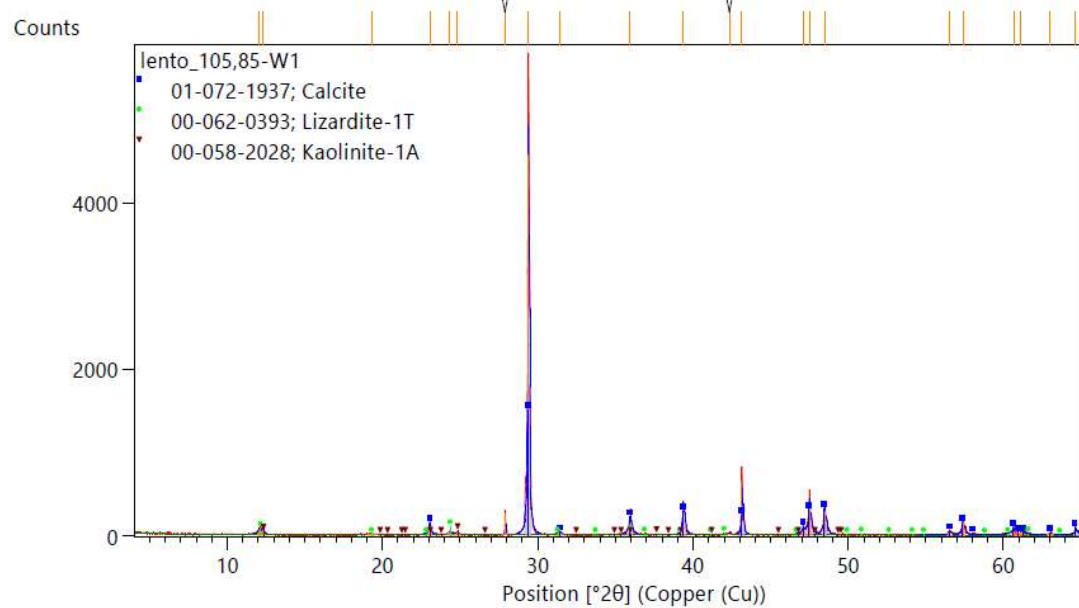


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:21:57

File: lento\_105,85-W1

User: rafa.rebello

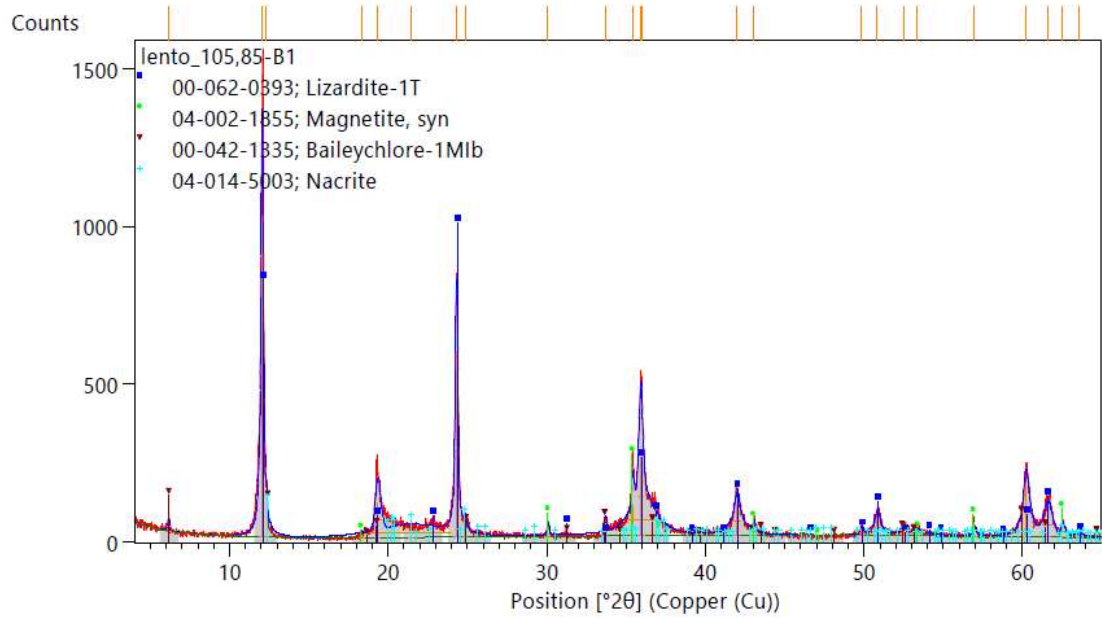


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:21:44

File: lento\_105,85-B1

User: rafa.rebello

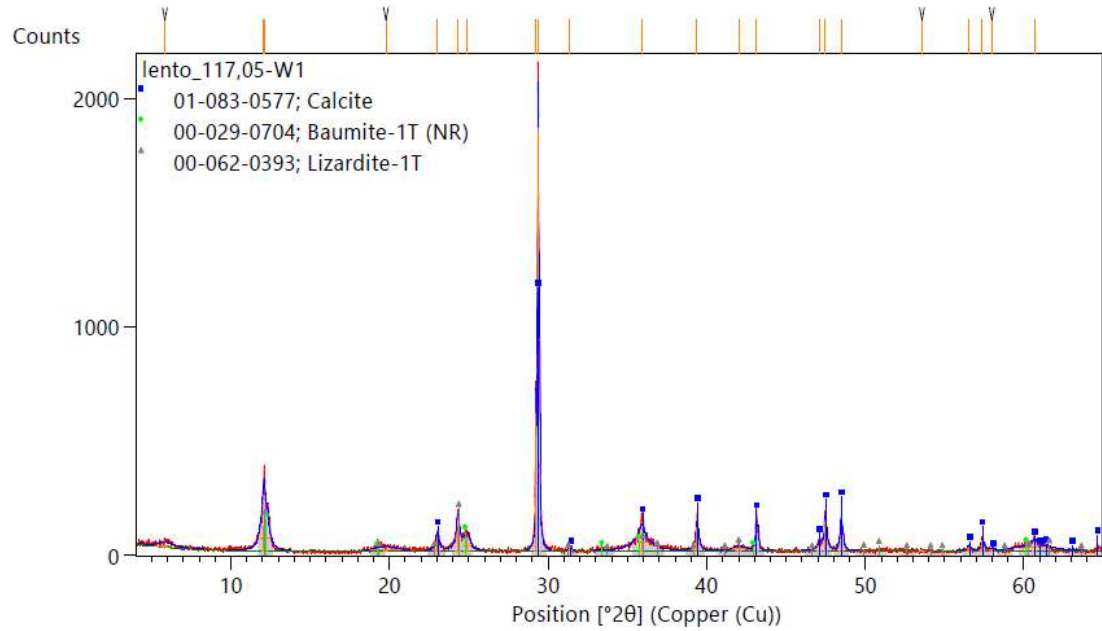


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:23:25

File: lento\_117,05-W1

User: rafa.rebello

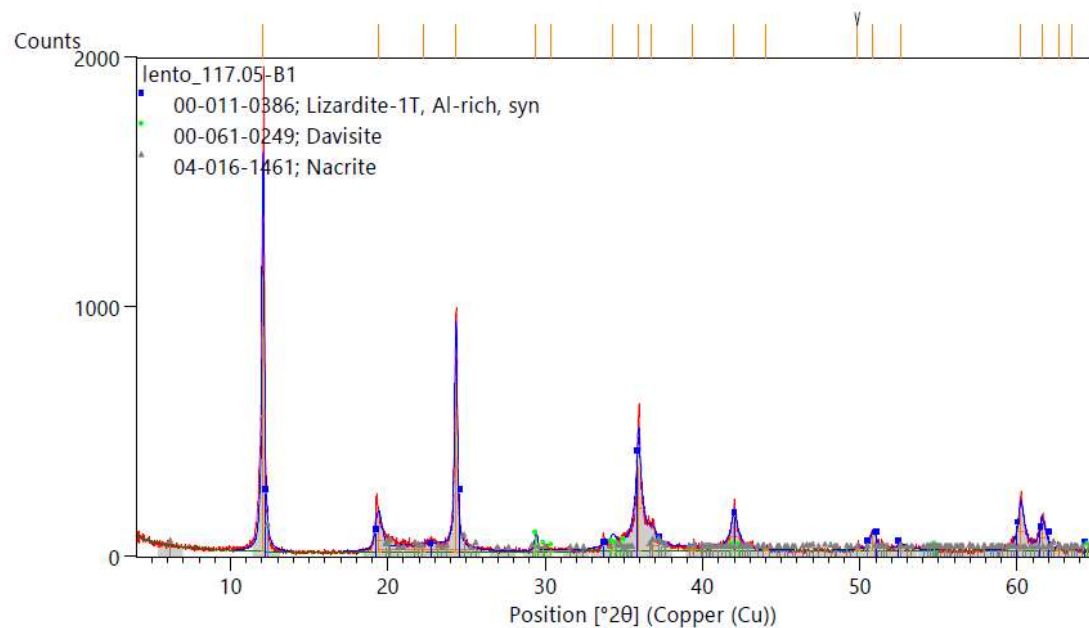


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:23:11

File: lento\_117

User: rafa.rebelo

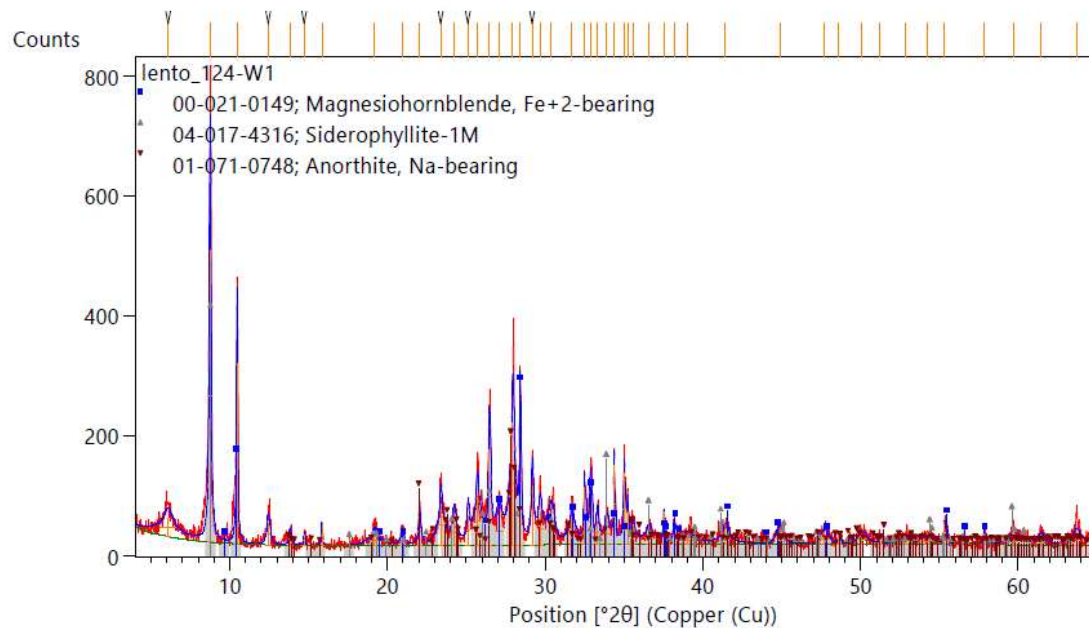


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:24:13

File: lento\_124-W1

User: rafa.rebelo

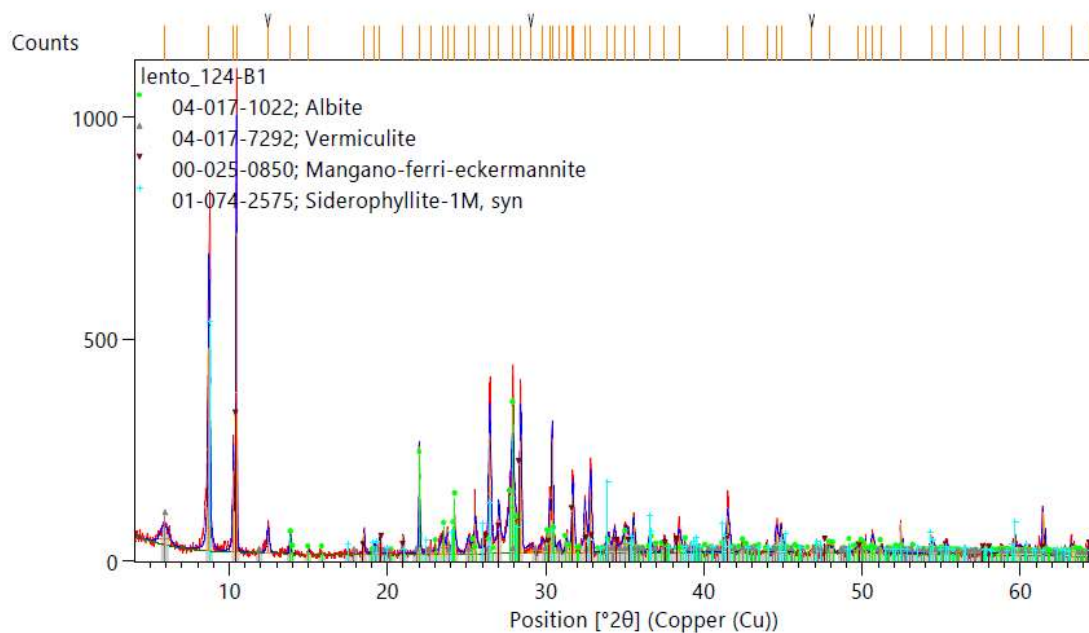


Page: 1 of 1

Date: 23/08/2023 Time: 02:24:04

File: lento\_124-B1

User: rafa.rebello



Page: 1 of 1

## Anexos 2: Constituição química

### Constituição química das amostras totais da sondagem AC1

- Elementos maiores

<b>AC1</b>	Sc (ppm)	V (ppm)	Cr (ppm)	Co (ppm)	Ni (ppm)	Zn (ppm)	Ga (ppm)	Y (ppm)	Zr (ppm)	Mo (ppm)
94,25	9	7	8	n. d.	7	18	1	3	8	2
146,00	10	4	10	7	8	2	n. d.	2	4	1

	Cs (ppm)	Ce (ppm)	Nd (ppm)	Tl (ppm)	Pb (ppm)	U (ppm)
94,25	n. d.	20	8	3	11	n. d.
146,00	6	20	10	2	9	1

-Elementos traço e menores

<b>AC1</b>	F (%)	MgO (%)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (%)	SiO <sub>2</sub> (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	SO <sub>3</sub> (%)	Cl (%)	K <sub>2</sub> O (%)	CaO (%)	TiO <sub>2</sub> (%)	MnO (%)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (%)
94,25	0,345	19,854	1,545	4,448	0,010	0,041	0,078	0,827	28,161	0,077	0,195	1,745
146,00	n. d.	20,124	1,176	5,266	0,010	0,092	0,084	0,322	28,678	0,056	0,097	1,030

	Ni (%)	Cu (%)	Br (%)	Rb (%)	Sr (%)	Ba (%)	LOI (%)
94,25	0,003	0,002	0,002	0,002	0,004	0,011	42,590
146,00	0,003	0,001	0,003	0,001	0,014	0,007	42,980

### Constituição química das amostras parciais da sondagem AC1





### Constituição química das amostras parciais da sondagem AC1

AC1	Na2O (%)	MgO (%)	Al2O3 (%)	SiO2 (%)	P2O5 (%)	SO3 (%)	Cl (%)	K2O (%)	CaO (%)	TiO2 (%)	Fe2O3 (%)	V2O5 (%)
94,25B1	0,019	3,436	3,396	14,855	0,797	0,062	0,104	10,276	43,813	1,570	20,135	0,077
94,25W1	n. d.	3,301	0,471	2,786	0,508	0,046	0,190	1,899	79,450	0,252	9,796	n. d.
171,20W1	n. d.	2,325	1,719	9,563	0,524	0,148	0,059	6,74	60,883	0,695	15,695	0,029
171,20G1	n. d.	1,084	13,627	35,142	1,125	0,538	0,041	10,652	14,974	5,2	15,763	0,219
171,20R1	n. d.	1,806	11,875	34,96	3,258	0,238	n. d.	5,926	10,081	3,476	26,816	0,178
	Cr2O3 (%)	MnO (%)	Co3O4 (%)	NiO (%)	CuO (%)	ZnO (%)	Ga2O3 (%)	Br (%)	Rb2O (%)	SrO (%)	ZrO2 (%)	BaO (%)
94,25B1	0,060	0,503	0,069	0,120	0,170	0,091	0,038	0,007	0,050	0,030	0,049	0,094
94,25W1	n. d.	1,074	n. d.	0,101	0,027	0,013	n. d.	0,015	0,009	0,018	n. d.	n. d.
171,20W1	0,067	0,87	n. d.	0,095	0,087	n. d.	n. d.	n. d.	0,026	0,316	n. d.	n. d.
171,20G1	0,153	0,21	0,086	0,33	0,128	0,032	0,037	0,005	0,065	0,296	0,211	n. d.
171,20R1	0,151	0,178	n. d.	0,266	0,321	0,038	n. d.	n. d.	0,049	0,106	0,105	n. d.
	CeO2 (%)	As2O3 (%)	Bi2O3 (%)	MoO3 (%)	Nd2O3 (%)	PbO (%)	PdO (%)	SeO2 (%)				
94,25B1	0,179	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.				
94,25W1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0,046	n. d.				
171,20W1	0,107	0,021	n. d.	n. d.	n. d.	0,03	n. d.	n. d.				
171,20G1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0,021	0,038	n. d.	0,021				
171,20R1	n. d.	n. d.	0,141	0,032	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.				

Anexo 3: Análise de Componentes Principais

**Análise de Fatores**

**Matriz de correlações**

		P2O5	Na2O	Al2O3	SiO2	LOI	MnO
Correlação	P2O5	1,000	,937	,673	,619	-,722	,209
	Na2O	,937	1,000	,689	,723	-,787	,226
	Al2O3	,673	,689	1,000	,357	-,853	,667
	SiO2	,619	,723	,357	1,000	-,612	-,305
	LOI	-,722	-,787	-,853	-,612	1,000	-,440
	MnO	,209	,226	,667	-,305	-,440	1,000
	SO3	-,392	-,363	-,585	-,114	,486	-,499
	Fe2O3	,730	,685	,671	,240	-,775	,485
	TiO2	,841	,789	,848	,341	-,821	,516
	K2O	,867	,878	,703	,791	-,845	,150
	CaO	,575	,528	,842	,255	-,708	,597
	MgO	-,855	-,834	-,933	-,534	,873	-,491

**Matriz de correlações**

		SO3	Fe2O3	TiO2	K2O	CaO	MgO
Correlação	P2O5	-,392	,730	,841	,867	,575	-,855
	Na2O	-,363	,685	,789	,878	,528	-,834
	Al2O3	-,585	,671	,848	,703	,842	-,933
	SiO2	-,114	,240	,341	,791	,255	-,534
	LOI	,486	-,775	-,821	-,845	-,708	,873
	MnO	-,499	,485	,516	,150	,597	-,491
	SO3	1,000	-,504	-,483	-,386	-,381	,491
	Fe2O3	-,504	1,000	,872	,663	,452	-,702
	TiO2	-,483	,872	1,000	,773	,697	-,894
	K2O	-,386	,663	,773	1,000	,600	-,863
	CaO	-,381	,452	,697	,600	1,000	-,872
	MgO	,491	-,702	-,894	-,863	-,872	1,000

**Teste de KMO e Bartlett**

Medida Kaiser-Meyer-Olkin de adequação de amostragem.		,407
Teste de esfericidade de Bartlett	Aprox. Qui-quadrado	429,957
	gl	66
	Sig.	<,001

**Matrizes anti-imagem**

		P2O5	Na2O	Al2O3	SiO2	LOI
Covariância anti-imagem	P2O5	,016	,004	,001	,002	,001
	Na2O	,004	,008	,001	,002	,002
	Al2O3	,001	,001	,000	,000	,000
	SiO2	,002	,002	,000	,001	,000
	LOI	,001	,002	,000	,000	,000
	MnO	,008	,001	,001	,003	,002
	SO3	,038	,025	,006	,009	,006
	Fe2O3	,002	,002	,000	,001	,001
	TiO2	,005	,005	,001	,002	,001
	K2O	,005	,005	,001	,001	,001
	CaO	,001	,001	,000	,000	,000
	MgO	,001	,001	,000	,000	,000
	Correlação anti-imagem	P2O5	,598 <sup>a</sup>	,389	,675	,600
Na2O		,389	,453 <sup>a</sup>	,894	,851	,891
Al2O3		,675	,894	,405 <sup>a</sup>	,975	,988
SiO2		,600	,851	,975	,242 <sup>a</sup>	,994
LOI		,593	,891	,988	,994	,411 <sup>a</sup>
MnO		,205	,033	,258	,415	,341
SO3		,644	,588	,752	,708	,718
Fe2O3		,592	,891	,986	,991	,997
TiO2		,522	,809	,917	,957	,944
K2O		,662	,888	,968	,914	,944
CaO		,636	,901	,995	,987	,995
MgO		,667	,895	,998	,982	,991

**Matrizes anti-imagem**

		MnO	SO3	Fe2O3	TiO2	K2O
Covariância anti-imagem	P2O5	,008	,038	,002	,005	,005
	Na2O	,001	,025	,002	,005	,005
	Al2O3	,001	,006	,000	,001	,001
	SiO2	,003	,009	,001	,002	,001
	LOI	,002	,006	,001	,001	,001
	MnO	,086	,037	,003	,009	,003
	SO3	,037	,222	,010	,022	,021
	Fe2O3	,003	,010	,001	,002	,002
	TiO2	,009	,022	,002	,005	,004
	K2O	,003	,021	,002	,004	,004
	CaO	,001	,005	,000	,001	,001
	MgO	,001	,002	,000	,000	,000
	Correlação anti-imagem	P2O5	,205	,644	,592	,522
Na2O		,033	,588	,891	,809	,888
Al2O3		,258	,752	,986	,917	,968
SiO2		,415	,708	,991	,957	,914
LOI		,341	,718	,997	,944	,944
MnO		,694 <sup>a</sup>	,269	,321	,433	,187
SO3		,269	,303 <sup>a</sup>	,723	,621	,737
Fe2O3		,321	,723	,348 <sup>a</sup>	,928	,939
TiO2		,433	,621	,928	,444 <sup>a</sup>	,859
K2O		,187	,737	,939	,859	,417 <sup>a</sup>
CaO		,296	,723	,994	,938	,958
MgO		,288	,736	,989	,933	,966

**Matrizes anti-imagem**

		CaO	MgO
Covariância anti-imagem	P2O5	,001	,001
	Na2O	,001	,001
	Al2O3	,000	,000
	SiO2	,000	,000
	LOI	,000	,000
	MnO	,001	,001
	SO3	,005	,002
	Fe2O3	,000	,000
	TiO2	,001	,000
	K2O	,001	,000
	CaO	,000	,000
	MgO	,000	4,574E-5
	Correlação anti-imagem	P2O5	,636
Na2O		,901	,895
Al2O3		,995	,998
SiO2		,987	,982
LOI		,995	,991
MnO		,296	,288
SO3		,723	,736
Fe2O3		,994	,989
TiO2		,938	,933
K2O		,958	,966
CaO		,329 <sup>a</sup>	,998
MgO		,998	,435 <sup>a</sup>

a. Medidas de adequação de amostragem (MSA)

**Comunalidades**

	Inicial	Extração
P2O5	1,000	,861
Na2O	1,000	,894
Al2O3	1,000	,903
SiO2	1,000	,893
LOI	1,000	,861
MnO	1,000	,892
SO3	1,000	,461
Fe2O3	1,000	,678
TiO2	1,000	,877
K2O	1,000	,937
CaO	1,000	,685
MgO	1,000	,949

Método de Extração: análise de Componente Principal.

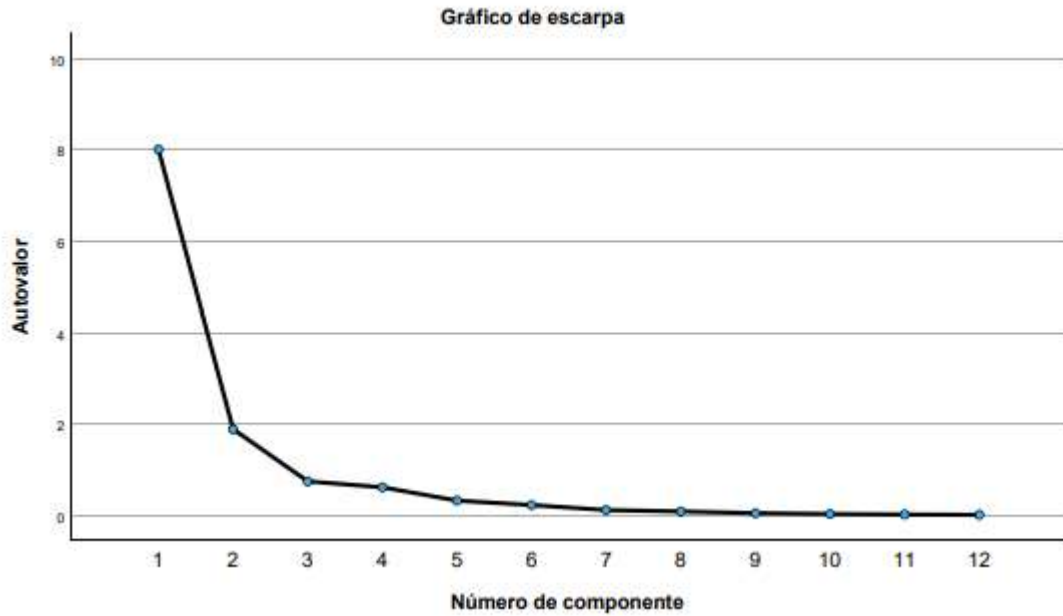
**Variância total explicada**

Componente	Total	Autovalores iniciais		Somadas de extração de carregamentos ao quadrado	
		% de variância	% cumulativa	Total	% de variância
1	8,007	66,723	66,723	8,007	66,723
2	1,883	15,689	82,413	1,883	15,689
3	,736	6,132	88,545		
4	,606	5,047	93,592		
5	,313	2,607	96,199		
6	,215	1,796	97,995		
7	,104	,869	98,863		
8	,074	,619	99,483		
9	,037	,305	99,787		
10	,018	,150	99,938		
11	,007	,062	100,000		
12	2,828E-5	,000	100,000		

**Variância total explicada**

Componente	Somas de extração de ... % cumulativa
1	66,723
2	82,413
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

Método de Extração: análise de Componente Principal.



**Matriz de componente<sup>a</sup>**

	Componente	
	1	2
MgO	-,974	
TiO2	,929	-,120
LOI	-,927	
Al2O3	,911	-,272
K2O	,894	,370
P2O5	,887	,274
Na2O	,886	,331
Fe2O3	,811	-,146
CaO	,778	-,281
SO3	-,562	,380
MnO	,494	-,805
SiO2	,561	,760

Método de Extração: análise de Componente Principal.

a. 2 componentes extraídos.

**Correlações reproduzidas**

		P2O5	Na2O	Al2O3	SiO2	LOI
Correlação reproduzida	P2O5	,861 <sup>a</sup>	,876	,733	,705	-,832
	Na2O	,876	,894 <sup>a</sup>	,716	,749	-,834
	Al2O3	,733	,716	,903 <sup>a</sup>	,304	-,834
	SiO2	,705	,749	,304	,893 <sup>a</sup>	-,550
	LOI	-,832	-,834	-,834	-,550	,861 <sup>a</sup>
	MnO	,217	,171	,669	-,335	-,426
	SO3	-,394	-,372	-,615	-,027	,506
	Fe2O3	,679	,670	,778	,344	-,746
	TiO2	,791	,783	,878	,430	-,856
	K2O	,894	,915	,714	,783	-,843
	CaO	,613	,596	,785	,223	-,710
	MgO	-,857	-,855	-,893	-,529	,902
	Resíduo <sup>b</sup>	P2O5		,061	-,060	-,087
Na2O		,061		-,027	-,026	,047
Al2O3		-,060	-,027		,053	-,019
SiO2		-,087	-,026	,053		-,062
LOI		,110	,047	-,019	-,062	
MnO		-,009	,055	-,001	,030	-,014
SO3		,003	,009	,030	-,087	-,020
Fe2O3		,051	,015	-,106	-,104	-,030

**Correlações reproduzidas**

		MnO	SO3	Fe2O3	TiO2	K2O
Correlação reproduzida	P2O5	,217	-,394	,679	,791	,894
	Na2O	,171	-,372	,670	,783	,915
	Al2O3	,669	-,615	,778	,878	,714
	SiO2	-,335	-,027	,344	,430	,783
	LOI	-,426	,506	-,746	-,856	-,843
	MnO	,892 <sup>a</sup>	-,584	,518	,555	,144
	SO3	-,584	,461 <sup>a</sup>	-,511	-,568	-,362
	Fe2O3	,518	-,511	,678 <sup>a</sup>	,770	,671
	TiO2	,555	-,568	,770	,877 <sup>a</sup>	,786
	K2O	,144	-,362	,671	,786	,937 <sup>a</sup>
	CaO	,611	-,544	,672	,756	,592
	MgO	-,499	,556	-,793	-,907	-,862
	Resíduo <sup>b</sup>	P2O5	-,009	,003	,051	,051
Na2O		,055	,009	,015	,006	-,037
Al2O3		-,001	,030	-,106	-,030	-,011
SiO2		,030	-,087	-,104	-,090	,008
LOI		-,014	-,020	-,030	,035	-,001
MnO			,084	-,032	-,038	,006
SO3		,084		,007	,084	-,023
Fe2O3		-,032	,007		,102	-,008



**Correlações reproduzidas**

		CaO	MgO
Correlação reproduzida	P2O5	,613	-,857
	Na2O	,596	-,855
	Al2O3	,785	-,893
	SiO2	,223	-,529
	LOI	-,710	,902
	MnO	,611	-,499
	SO3	-,544	,556
	Fe2O3	,672	-,793
	TiO2	,756	-,907
	K2O	,592	-,862
	CaO	,685 <sup>a</sup>	-,764
	MgO	-,764	,949 <sup>a</sup>
	Resíduo <sup>b</sup>	P2O5	-,037
Na2O		-,068	,020
Al2O3		,057	-,040
SiO2		,032	-,005
LOI		,002	-,029
MnO		-,014	,009
SO3		,164	-,065
Fe2O3		-,220	,091

**Correlações reproduzidas**

	P2O5	Na2O	Al2O3	SiO2	LOI
TiO2	,051	,006	-,030	-,090	,035
K2O	-,027	-,037	-,011	,008	-,001
CaO	-,037	-,068	,057	,032	,002
MgO	,002	,020	-,040	-,005	-,029

**Correlações reproduzidas**

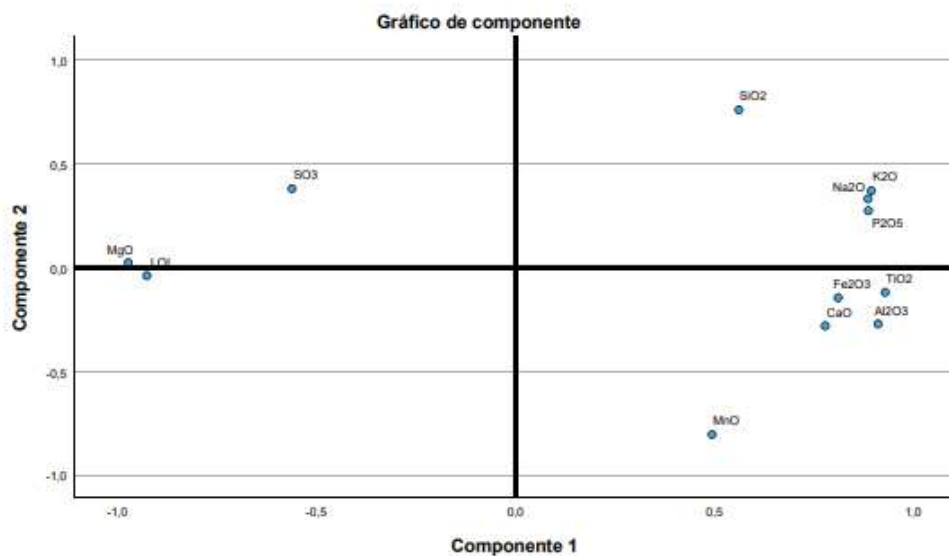
	MnO	SO3	Fe2O3	TiO2	K2O
TiO2	-,038	,084	,102		-,014
K2O	,006	-,023	-,008	-,014	
CaO	-,014	,164	-,220	-,060	,008
MgO	,009	-,065	,091	,013	-,001

**Correlações reproduzidas**

	CaO	MgO
TiO2	-,060	,013
K2O	,008	-,001
CaO		-,107
MgO	-,107	

Método de Extração: análise de Componente Principal.

- a. Comunalidades reproduzidas
- b. Os resíduos são computados entre as correlações observadas e reproduzidas. Há 24 (36,0%) resíduos não redundantes c



## Anexo 4: Protocolo adotado para extração de material genético

### **DNA Extraction from Sediments or Soils**

Extracting total high molecular weight DNA from sediments and soils samples. The protocols with small modifications can be applied to other solids such as rocks and minerals.

Duration: 2.5 h + variable DNA precipitation step

Adapted from: Vetriani *et al.*, 1999 AEM

#### **Materials**

- 2 ml Eppendorf tube (a total of 5 for each samples)
- 1.5 ml Eppendorf tube (one for each samples)

#### **Equipment**

- Bench-top Microcentrifuge up to 16.000xg
- Vortex
- Dry incubator @ 37 °C
- Water bath warmed @ 65°C
- Chemical Hood
- Pipets P1000 and P200

#### **Solutions**

- Extraction buffer EX (50mM Tris-HCL pH 8.0, 20 mM EDTA pH 8.0, 100 mM NaCl)
- SDS 20%
- Lysozime 100 mg/ml
- Proteinase K 20 mg/ml
- Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol 25:24:1
- Chloroform:Isoamyl alcohol 24:1
- Isopropanol 100%
- Sodium Acetate 3M
- Ethanol 70% ice cold
- Tris-HCl buffer pH 8.0 50mM

## Procedure

1. Add 850 µl of extraction buffer EB to a clean sterilized 2 ml tube;
2. Add ca. 0.8 g of sediment;
3. Add 100 µl of Lysozyme [100 mg/ml]. Incubate shaking @ 37 °C for 30’;
4. Add 5 µl of Proteinase K [20 mg/ml]. Incubate shaking @ 37°C for 30’;
5. Vortex for 1’;
6. Add 50 µl of 20% SDS. Incubate 1 h @ 65 °C in waterbath inverting every 15-20’;
7. Vortex for 1’;
8. Centrifuge 3’ @ 14,000xg. Recover supernatant in clean 2 ml tube;
9. Add 350 µl of EB buffer to the sediment pellet, invert ca. 50 times and centrifuge again. Recover supernatant in previous tube;
10. Add 1 vol (ca 1 ml) of Phenol:Chloroform:IAA. Invert 100 times or until emulsion forms;
11. Centrifuge 3’ @ 14,000xg. Recover aqueous phase (generally top phase) to clean 2 ml tube;
12. Add 1 vol of Chloroform:IAA. Invert 100 times or until emulsion forms;
13. Centrifuge 3’ @ 14,000xg. Recover aqueous phase (generally top phase) to clean 2 ml tube;
14. Add 0.1 vol of Na-Acetate and 0.7 vol of Isopropanol. Invert several time and incubate. Incubation can be carried out overnight @ Room Temperature or +4°C or for a shorter amount of time (2h @ -20°C) depending on the sample and expected output;
15. Centrifuge 30’ @ 14,000xg @ 4°C. Carefully remove supernatant,
16. Add 0.5 ml of EtOH 70% ice cold and Invert tube several times;
17. Centrifuge 5’ @ 14,000xg. Carefully remove supernatant. Air dry for ca. 20’ or speedvac for 5’;
18. Resuspend in 50 µl of Tris buffer or PCR grade water and transfer in clean 1.5 ml tube;
19. Run 3 µl on 1-1.5% agarose gel to check presence of high quality DNA and preserve the rest of the DNA @ -20 °C clearly labelled.

## Expected results

Expect a clear high molecular weight band (~20 kb or higher) from each sample. A small amount of DNA degradation in the form of a smear can be expected. Reduce vortexing and pipetting steps if this becomes excessive.

### **Common problems, troubleshooting and solutions**

- Phase inversion during the phenol:chloroform extraction step (step 11) might happen in samples with high salinity or in the presence of compounds that can change the aqueous phase density.
- Excessive degradation of the DNA can happen with certain samples, If this is due to the extraction procedure (and not by sample collection or preservation) you can reduce it by reducing vortexing and lysis steps.
- In case of low or no DNA is extracted, it is possible to extract in parallel from multiple aliquots of the same sample and combine the different pellets during step 18 using the same volume to resuspend multiple DNA pellets.
- The final DNA might still contain inhibitors. These can be removed in different ways, depending on the amount of DNA available and the intended use.