



Anexo I – Coluna estratigráfica da sondagem P6

Anexo II – Coluna estratigráfica da sondagem CM5

Anexo III – Procedimento para a extracção de palinomorfos recorrendo ao hexametafosfato de sódio e a ácidos fortes

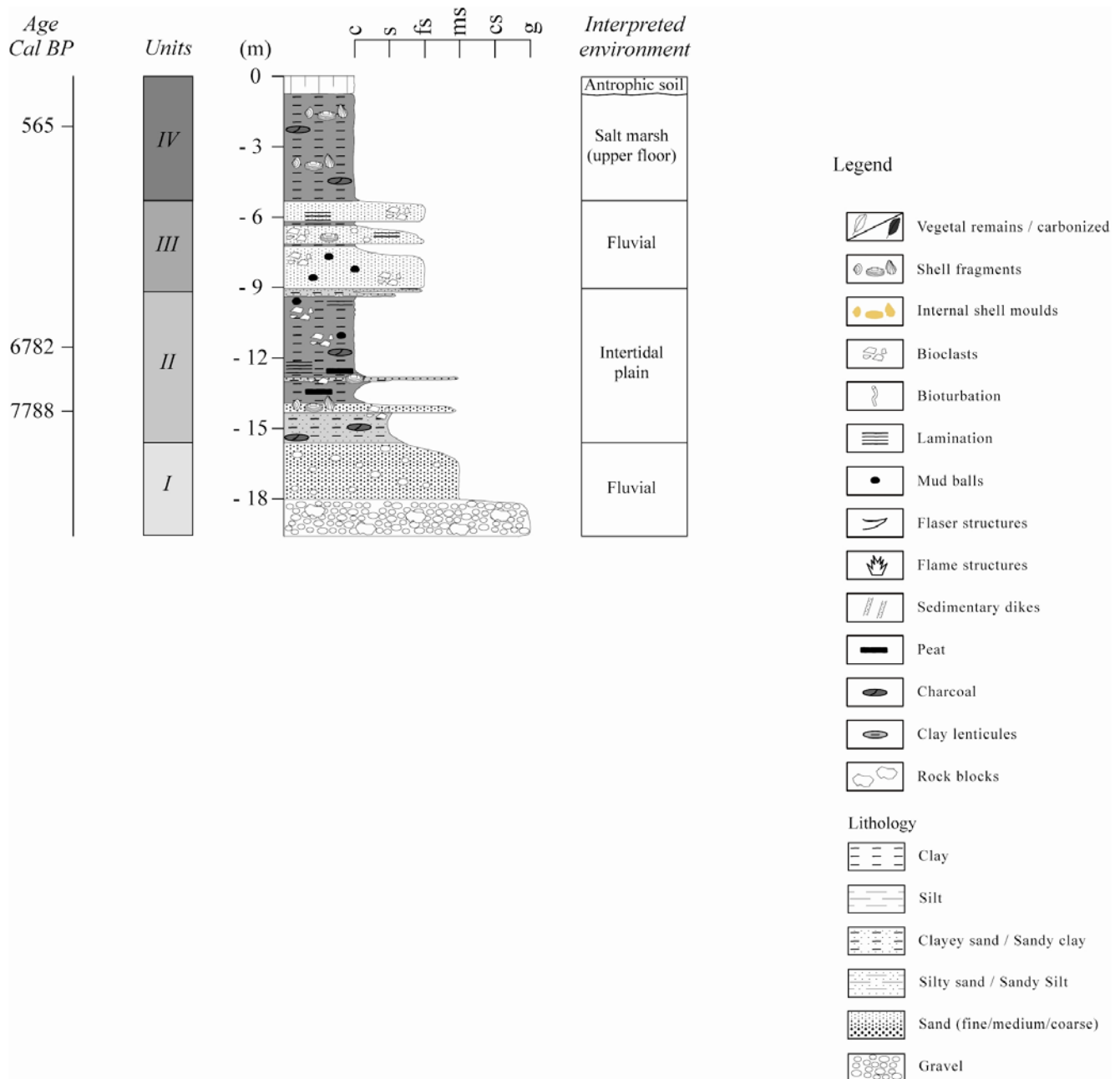
Anexo IV – Resultados relativos à sondagem P6

Anexo V – Fórmula de cálculo da riqueza do sedimento

Anexo VI – Resultados relativos à sondagem CM5

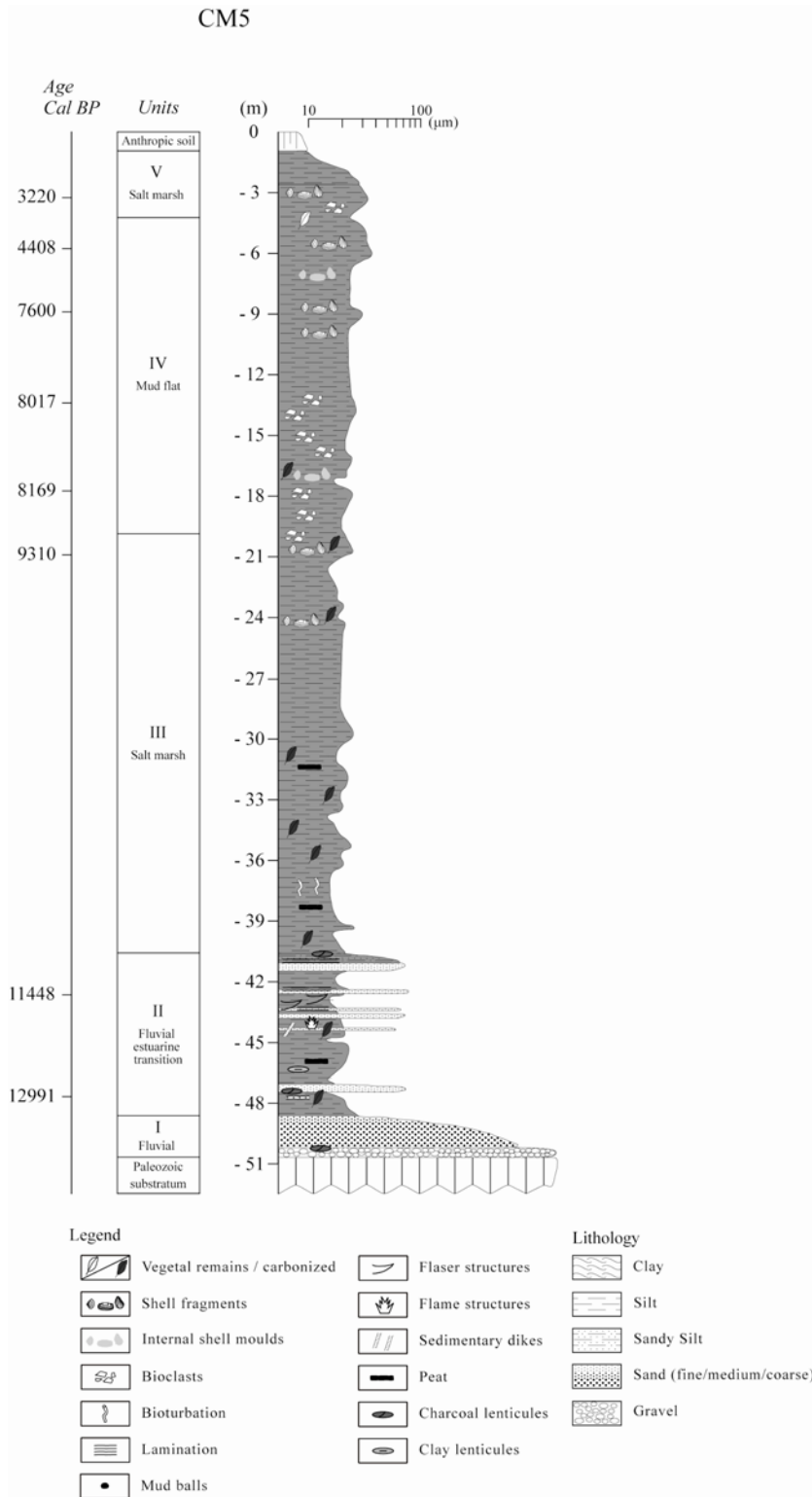
Anexo VII – Fórmula do cálculo da percentagem de recuperação

## Anexo I



**Figura 7.1** – Coluna estratigráfica da sondagem P6 (cedida pelo Centro de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Algarve).

## Anexo II



**Figura 7.2** – Coluna estratigráfica da sondagem CM5 (cedida pelo Centro de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Algarve).

### **Anexo III**

#### Procedimento para a extração de palinomorfos recorrendo ao hexametáfosfato de sódio

A amostra, previamente pesada e desfeitos possíveis torrões, é colocada num copo de precipitação (1000 ml) a que se adiciona 400 ml de água destilada quente, para evitar possíveis contaminações, (este procedimento é imprescindível em amostras do Quaternário) e duas ou três gotas de um detergente forte (por ex: Fairy). Agita-se a mistura e deixa-se em repouso de um dia para o outro.

No dia seguinte coloca-se o copo numa placa de aquecimento que permita a agitação mecânica da amostra. Assim que o conteúdo do copo se encontre quente adiciona-se 50 ml de hexametáfosfato de sódio (ex: Calgon<sup>®</sup>). A amostra deverá permanecer na placa e sob agitação por 20 minutos.

Após, se possível, a preparação deverá ser mudada para um copo de maior volume (ex: 2000 ml), deverá ser adicionada água destilada até perfazer o volume do copo e agitar. Deverá permanecer em repouso por 4 horas.

No final das 4 horas as amostras deverão ser decantadas. Este procedimento deve ser realizado com todo o cuidado, uma vez que se podem perder alguns palinomorfos que ainda se encontrem em suspensão.

As decantações devem prosseguir até terem sido eliminadas as argilas. Sempre que é feita a decantação dever-se-á adicionar mais Calgon<sup>®</sup> e água destilada (se possível quente, pois facilita a acção do Calgon<sup>®</sup>). Dever-se-á aguardar mais 4 horas até à próxima decantação, período previsto para que os palinomorfos assentem.

Assim que a amostra não apresente muitas argilas, deverá ser passada por um crivo de 10 µm. É um processo moroso devido à apertada malha do crivo. A aplicação de um esguicho de água destilada ajuda a que possíveis poros da malha sejam descongestionados. Após a utilização do crivo, este deverá ser submetido a ultrasons por 10 minutos para que seja feita uma limpeza eficaz.

O resíduo que restou no crivo deverá ser centrifugado com água destilada por 5 a 8 minutos a 2500 r.p.m.. Esta operação deverá ser repetida se, no final da mesma, a água que representa o sobrenadante não se encontrar completamente transparente.

A água deverá ser eliminada do tubo de centrifugação por decantação, se permanecer alguma humidade nos bordos internos do tubo, a mesma deverá ser eliminada com o auxílio de papel absorvente.

Ao resíduo deverá ser adicionado líquido denso (ex. Cloreto de Zinco – ZnCl<sub>2</sub>). Este deverá ser centrifugado por 10 minutos a 500 r.p.m.. Este procedimento também poderá ser realizado sem o recurso à centrifugadora. Para tal, basta que seja adicionado o líquido denso ao resíduo, a mistura deverá ser bem mexida e dever-se-á aguardar no mínimo duas horas.

Após a centrifugação (ou após o período de repouso caso não seja realizada a centrifugação) o sobrenadante deverá ser colocado num copo de precipitação de 1000 ml ao qual deverá ser adicionada água destilada, permitindo assim que o líquido denso possa ser diluído (a fim de evitar a destruição da rede do próprio crivo). Todo o conteúdo do copo deverá ser passado novamente pelo crivo de 10 µm. O resíduo que nele permanecer deverá ser colocado num pequeno frasco de vidro (de preferência escuro) e devidamente etiquetado.

O resíduo que permaneceu no tubo após a centrifugação com os líquidos densos poderá, igualmente, ser guardado em frasco apropriado e devidamente etiquetado (não esquecendo de fazer a referência que é o resíduo).

É sempre possível colocar as amostras sob a acção do ácido clorídrico antes de iniciar o procedimento, para previamente eliminar os carbonatos, mas desta forma poderão ser eliminados alguns dinoflagelados.

#### Procedimento para a extracção de palinomorfos recorrendo a ácidos fortes

Da mesma forma que o procedimento descrito anteriormente, a amostra é previamente pesada e desfeitos os torrões que possam existir. A amostra deve ser colocada em copo de teflon ao qual será adicionado ácido clorídrico a 37 % em pequena quantidade para averiguar se ocorre reacção. Se esta ocorrer dever-se-á adicionar mais ácido. A reacção

com o ácido muitas vezes leva à formação de espuma. Para evitar que transborde basta adicionar umas gotas de álcool a 96 %.

Assim que cesse a reacção com o HCl, adiciona-se água destilada, permanecendo em repouso por uma hora. Após este período, o excesso de água deverá ser eliminado por decantação, o depósito deverá ser centrifugado com água destilada por oito minutos a 2000 r.p.m.. Retirada a água o depósito deverá ser colocado novamente num copo de teflon.

A este resíduo junta-se o ácido fluorídrico. A adição deve ser lenta e feita com o maior cuidado. Qualquer contacto com o mesmo poderá ser extremamente doloroso e perigoso, recomenda-se o uso de luvas e bata, não esquecendo que o seu manuseio deverá ser feito em hotte própria. Deverá ser adicionado ácido até cerca de metade do volume do copo, que deve ser convenientemente fechado e colocado sob uma placa agitadora a 50 °C, onde permanecerá por 24 horas.

Após estar 24 horas no agitador, a amostra é colocada num copo de precipitação de 1000 ml ou maior, ao qual é adicionada água destilada, se a amostra se encontrar muito incrustada e aderente ao copo de teflon poderá ser removida com o auxílio de uma espátula. Fica em repouso na hotte por um período de 4 horas.

Após este período a amostra deve ser primeiramente decantada e depois passada por um crivo de 125 µm, o resíduo que permanecer no crivo é eliminado. Ao que passou no crivo deverá ser adicionado Calgon<sup>®</sup> e água destilada e fica em repouso por 4 horas.

Após este período a amostra deverá ser cuidadosamente decantada, e se ainda permanecer uma elevada quantidade de argilas deverá novamente ser adicionado Calgon<sup>®</sup> e água destilada e permanecer novamente em repouso. Este procedimento deverá ser repetido tantas vezes quantas as necessárias.

A centrifugação para eliminação da água e posterior centrifugação com os líquidos densos até ser obtido o resíduo final é feita de modo semelhante ao anteriormente descrito para o tratamento com hexametáfosfato de sódio.

## Anexo V

### Cálculo da Riqueza do Sedimento

**Fracção do resíduo analisado (f):**

$$f(\%) = (v/V) \times (l/L) \times 100$$

v – volume colocado sobre a lâmina ( $\mu\text{l}$ )

V – volume do resíduo ( $\mu\text{l}$ )

l – diâmetro do campo do microscópio x número de linhas observadas (mm)

L – largura útil da lâmina (mm)

**A riqueza (r) de palinomorfos por grama do sedimento será dada por:**

$$r = [n \times (100/f)] / m$$

n – número total de esporos e pólenes contabilizados

f – a fracção do resíduo analisado (%)

m – massa do sedimento (gr)

**Figura 7.3** - Fórmula de cálculo da riqueza do sedimento (Diniz, 1984).

## Anexo VII

### Cálculo da Percentagem de Recuperação

$$\text{Percentagem de recuperação} = \left[ \frac{((VT \times LI)/vI)}{Lp} \right] \times 100$$

VT – volume total do resíduo ( $\mu\text{l}$ )

LI – nº de esporos de *Lycopodium* na lâmina

vI – volume colocado na lâmina ( $\mu\text{l}$ )

Lp – nº de esporos de *Lycopodium* na pastilha

Figura 7.4 – Fórmula de cálculo da percentagem de recuperação.