



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México

UNAM
POSGRADO
Ciencias del Mar y
Limnología



**“EVALUACIÓN DE TÉCNICAS PIROLÍTICAS EN LA DETECCIÓN
DE BIOMARCADORES ORGÁNICOS EN ANÁLOGOS MARCIANOS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS
(QUÍMICA ACUÁTICA)

PRESENTA

Q. JOSÉ ENRIQUE IÑIGUEZ PACHECO

Director de Tesis: Dr. Rafael Navarro González

Comité Tutorial: Dr. Martín Merino Ibarra
Dra. Elva Escobar Briones
Dra. Luz Elena Vera Ávila
Dr. Vladimir Basiuk Evdokimenko

México, D.F., Junio 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios del Instituto de Ciencias Nucleares (UNAM), lugar en el cual donde se realizó esta tesis, en los proyectos de investigación con el apoyo de DGAPA-UNAM (proyecto IN101903, IX120204-1), CONACYT (proyecto No. V5810-F), al CONACYT por la beca de Maestría otorgada con número de registro 190221. A Christopher P. McKay de Space Science Division, NASA Ames Research Center, Moffett Field por el apoyo brindado para las expediciones al Desierto de Atacama y a los proyectos Astrobiology Science and Technology for Exploring Planets Program y Biomolecular Systems Research Program, ambos auspiciados por la NASA.

Al Dr. Rafael Navarro González, por su amable dirección y paciencia durante la realización del proyecto.

A mi familia: Mis padres, hermanas, mis sobrinos por su gran y constante amor.

A mis siempre confiables amigos: Israel, Jeffrey, Oscar, Juan Manuel Serrano y Rocío por el inmenso cariño y apoyo que me han brindado en toda ocasión.

A mis compañeros de laboratorio: Pepe, Julio, Ezequiel, Paola, Octavio, Jessica, Arturo, Sofía, Silvia, Claudia, Antonieta, Cruz y Carolina C. por todas las alegrías, gran apoyo e invaluable consejos durante el desarrollo de la maestría.

A los investigadores y profesores: Dr. Martín Merino, Dra. Elva Escobar, Dra. Luz Elena Vera, Dra. Sandra Ramírez, Dr. Vladimir Basiuk Dr. Luis Miranda, M. en C. Jesús Pastor, por todos sus gentiles consejos y orientación.

Al Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología Dr. Vilaclara, Diana, Gabriela, Lupita y Chantal por su gentil apoyo durante mi estancia en la maestría.

A mis compañeros de maestría: Luis Enrique, Julián, Heidi, Daniela y Carmen cuya pasión por el mar, han dado nuevos bríos a mi trabajo.

A Sr. Salvador Valle, Adrián Osuna y Salvador Ham Lizardi por su invaluable ayuda en el diseño y construcción de los dispositivos empleados en este proyecto de maestría.

INDICE

1	Antecedentes	5
1.1	Propiedades planetarias de Marte	5
1.2	Historia de la búsqueda de vida en Marte	7
1.3	La misión espacial Vikingo	9
1.4	Análogos marcianos	17
1.5	Mineralogía de Marte	20
1.6	Señales de Vida y su detección	22
1.7	Búsqueda de moléculas orgánicas de interés astrobiológico en suelos marcianos	24
1.8	Descomposición y preservación de la materia orgánica	25
1.9	Biomarcadores del ecosistema bacterial	26
1.10	Metodologías de análisis	30
1.11	Técnicas térmicas	30
1.12	Pirólisis	31
1.13	Pirólisis - Cromatografía de gases	31
1.14	Derivatización térmica con hidróxido de tetrametil amino	32
2	Objetivos	35
3	Material y métodos	36
3.1	Pirólisis / Cromatografía de Gases – Espectroscopía de Masas	36
3.2	Metilación Pirolítica en línea	38
3.3	Pirólisis de muestras líquidas	39
3.4	Extracción Soxhlet	39
3.5	Cuantificación de dióxido de carbono	39
3.6	Análisis Elemental	46
3.7	Técnicas espectroscópicas	47
3.8	Resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN)	47

3.9	Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier	47
3.10	Limite de detección de fracciones volátiles.	48
3.11	Modelo de oxidación	48
3.12	Modelos teóricos de oxidación	49
4	Resultados y Discusión	50
4.1	Pirólisis Cromatografía de Gases Espectrometría de Masas.	50
4.2	Metilación Piroclítica en línea	55
4.3	Extracción Soxhlet	57
4.4	Pirólisis de muestras líquidas	59
4.5	Resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN) y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (IRTF)	61
4.6	Modelo de Oxidación	69
4.7	Cálculo de la cantidad de hidrógeno para impedir la oxidación para el caso de los experimentos del Vikingo	75
5	Conclusiones	79
6	Anexo A Espectrometría de Masas	85
7	Anexo B Espectroscopía de ^1H RMN y IRTF	81
8	Referencias	97

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es evaluar las metodologías de pirólisis / cromatografía de gases - espectroscopía de masas (Pi/CG-EM) para la identificación de materia orgánica de origen biogénico en sedimentos análogos a Marte, debido a que la pirólisis formará parte de las pruebas de la misión del 2009 al planeta en búsqueda de vida presente ó pasada.

Se estudió el desempeño de la pirólisis en suelos y sedimentos terrestres análogos a Marte, se evaluó el efecto de minerales marcianos sobre la volatilización y oxidación de la materia orgánica durante la pirólisis, se implementa y evalúa la técnica de metilación pirolítica en línea, se obtienen los extractos orgánicos y se caracterizaron mediante estudios espectroscópicos de IRFT y ¹H-RMN, además se creó un modelo teórico de oxidación pirolítica de materia orgánica en suelo marciano.

La pirólisis es útil para muestras que contengan mas del 0.5% de materia orgánica, la técnica es fuertemente afectada por las sales férricas típicas de la mineralogía marciana. La metilación pirolítica no es aplicable para muestras con muy baja cantidad de materia orgánica. La extracción soxhlet y caracterización espectroscópica proporcionaron la funcionalización de los compuestos orgánicos contenidos en las muestras. El modelo teórico de oxidación prevé que no se observará materia orgánica sí esta no se encuentra en niveles mayores a ppm para el caso del suelo marciano.

Se concluye que la Pi-CG/EM puede funcionar para la búsqueda de materia orgánica en la superficie de Marte, si se realizan procedimientos de extracción y preconcentración de la muestra. El resultado de esta investigación muestra que puede existir materia orgánica en la superficie de Marte y que debido a los procesos de oxidación pirolítica, las sondas de amartizaje Vikingos no pudieron detectarla, dándole nuevo ímpetu a la búsqueda de vida en el planeta.

1. ANTECEDENTES

Propiedades planetarias de Marte

Marte tiene una órbita más grande y elíptica que la Tierra, pero tiene una duración de la rotación al sol es de 24 horas y 37 minutos, denominados soles, con una inclinación 25° al plano orbital, el cual es aproximado al de la Tierra (23.3°), como resultado, el año marciano es casi dos veces más largo que el de la tierra (687 días) (Albee 2000).

Marte tiene cerca de 6800 kilómetros de diámetro, aproximadamente la mitad del diámetro y un octavo del volumen de Tierra. El área que comprende su superficie es similar al continental terrestre, la fuerza de gravedad en la superficie es solamente el 38% al de la Tierra. La atmósfera está compuesta de bióxido de carbono (95%), con cantidades pequeñas de nitrógeno (2.7%), argón (1.6%) y de oxígeno (0.13%); con trazas de agua. La presión atmosférica (7 mbars) es menor del 1% que en la Tierra y varía cerca del 25%, con una capacidad calorífica baja, por lo que la temperatura superficial varía aproximadamente entre: $+27$ a -133 °C; el agua líquida no puede existir en la superficie bajo las condiciones presentes de presión y temperatura, sin embargo, el hielo del agua puede existir durante todo el año o gran parte de él a una cierta profundidad dentro del sedimento marciano en gran parte del planeta. Asombrosamente, esta delgada atmósfera tiene una circulación y dinámica complejas con una variedad amplia de fenómenos climáticos: circulación atmosférica, nubes altas de hielo, neblinas bajas, heladas y tormentas de polvo masivas.

Periódicamente Marte tiene tormentas de polvo que envuelven al planeta; comenzando típicamente en la primavera meridional, las dunas, los arenales y las rocas son talladas por el viento. También sirven de evidencia de la actividad eólica. La circulación y la dinámica total de la atmósfera muestran semejanza y diferencias con la Tierra, que son dominadas por los ciclos estacionales y climáticos del bióxido de carbono, el agua y el polvo.

Marte se puede dividir en el ecuador en dos terrenos muy diversos. El hemisferio sur es antiguo, similar a la Luna, lleno de cráteres, preservado desde el período de 4.6 - 3.9 millones de años cuando todos los planetas terrestres fueron altamente bombardeados con meteoritos. Los llanos más jóvenes y más bajos de las tierras bajas del hemisferio norte contienen abundante evidencia de una actividad volcánica, tectónica, y erosional más reciente. (Figura 1.2.A) (Albee, 2000)

Tabla 1.1. Propiedades planetarias de Marte (tomadas de Lewis, 2004)

Propiedad	Valor
Masa (Kg.)	6.421×10^{23}
Cifras Masa (Tierra = 1)	0.1074
Radio ecuatorial (Km.)	3.397×10^3
Radio ecuatorial (Tierra = 1)	5.326×10^{-01}
Densidad media (gm/cm ³)	3.94
Distancia media al sol (Km.)	2.279×10^8
Distancia media al sol (Tierra = 1)	1.523
Período de rotación (horas)	24.622
Período de rotación (días)	1.025
Período orbital (días)	6.869×10^2
Velocidad orbital media (Km./seg)	24.13
Excentricidad orbital	9.3×10^{-2}
Inclinación del eje (grados)	25.19
Inclinación orbital (grados)	1.850
Gravedad de superficie en Ecuador (m/sec ²)	3.72
Albedo geométrico	0.15
Temperatura mínima en la superficie (°C)	-140
Temperatura promedio en la superficie (°C)	-63
Temperatura máxima en la superficie	20°C
Presión atmosférica (bars)	7×10^{-3}
Composición porcentual atmosférica	
Dióxido de carbono (CO ₂)	95.32
Nitrógeno (N ₂)	2.7
Argón (Ar)	1.6
Oxígeno (O ₂)	0.13
Monóxido de carbono (CO)	0.07
Vapor de agua (H ₂ O)	0.03
Neón (Ne)	2.5×10^{-4}
Kriptón (Kr)	3×10^{-5}
Xenón (Xe)	8×10^{-6}
Ozono (O ₃)	3×10^{-6}

Historia de la búsqueda de vida en Marte

Marte es el cuarto planeta desde el Sol y es llamado comúnmente “el planeta rojo” debido a la coloración presente en las rocas, el suelo oxidado y el cielo, que va desde el rojo hasta el rosa. Esta característica permitió a los antiguos observadores contemplar el planeta en el cielo. Los romanos le confirieron su nombre en honor al dios de la guerra; los egipcios le llamaban “Her Descher” lo que significa “la Roja”.

Mucho antes de la exploración espacial, a Marte se le consideraba como el mejor candidato para descubrir vida extraterrestre. La primera especulación de vida está basada en las observaciones realizadas por el italiano Giovanni Schiaparelli en 1877, cuando al trazar el primer mapa detallado del planeta, describió estructuras semejantes a canales en la superficie del planeta. La mala traducción al inglés de “canalis” se transformó en la idea de que podía tratarse de vías o conductos de agua construidas por una civilización avanzada. (Figura 1.1) En 1910 fue retomada la idea por Percival Lowell, que al considerar que Marte era un planeta seco planteó que se trataba de un sofisticado sistema de irrigación, que transportaba agua de los cascos polares a las grandes poblaciones ecuatoriales. Posteriormente en el año de 1938, cuando Orson Welles transmitió en la radio el clásico de ficción “La Guerra de los Mundos” (War of the Worlds) basado en la novela de H.G. Wells, muchas personas de la época creyeron que se trataba de una invasión de marcianos, lo que creó pánico entre los radioescuchas.

Otra de las razones por la cual los científicos esperaban encontrar vida en Marte antes de la exploración espacial, fue debido a los fenómenos de cambio de coloración estacional superficial, lo cual se especulaba se trataba de algún tipo de actividad vegetal durante los meses calientes.

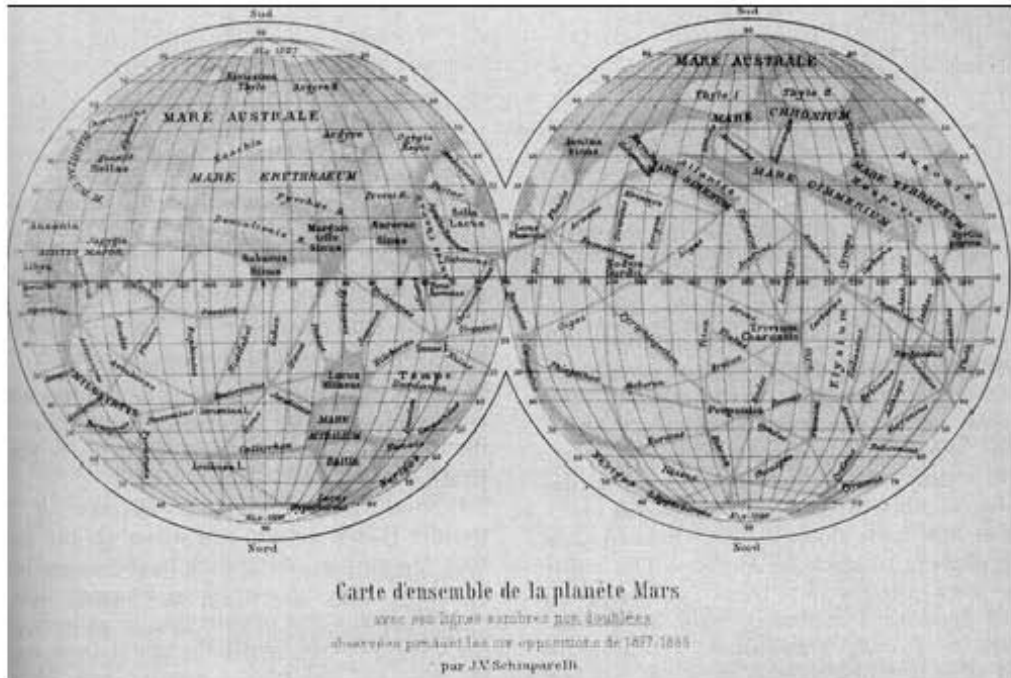


Figura 1.1. Mapa de Marte realizado por Giovanni Schiaparelli, a fines del siglo XVII

(Tomado de <http://www.astro.sunysb.edu/>)

Estas especulaciones de vida fueron descartadas por las fotografías tomadas por los orbitadores Mariner IV, V y VII, en julio de 1965, mostrando que el relieve del planeta es una superficie heterogénea debida a las colisiones de meteoritos (Figura 1.2.A y B). Estas sondas aportaron adicionalmente información sobre la composición atmosférica, la que se constituye principalmente por CO₂ y la composición de los casquetes polares, agua y hielo seco (CO₂ sólido). Para 1972 la tecnología de adquisición de imágenes mejoró considerablemente por lo que las imágenes obtenidas por el Mariner IX, proporcionaron más características topológicas y entre ellas, formas similares a los meandros terrestres, dándole nuevo impulso a la especulación de vida pasada en Marte, resultando en la misión Vikingo (Titus, 2004).

En 1975 con la llegada del orbitador y las sondas de amartizaje Vikingo, se determinó que en el pasado de Marte debió existir agua en grandes cantidades y que, en alguna parte de la historia, el planeta debió ser más caliente y húmedo.

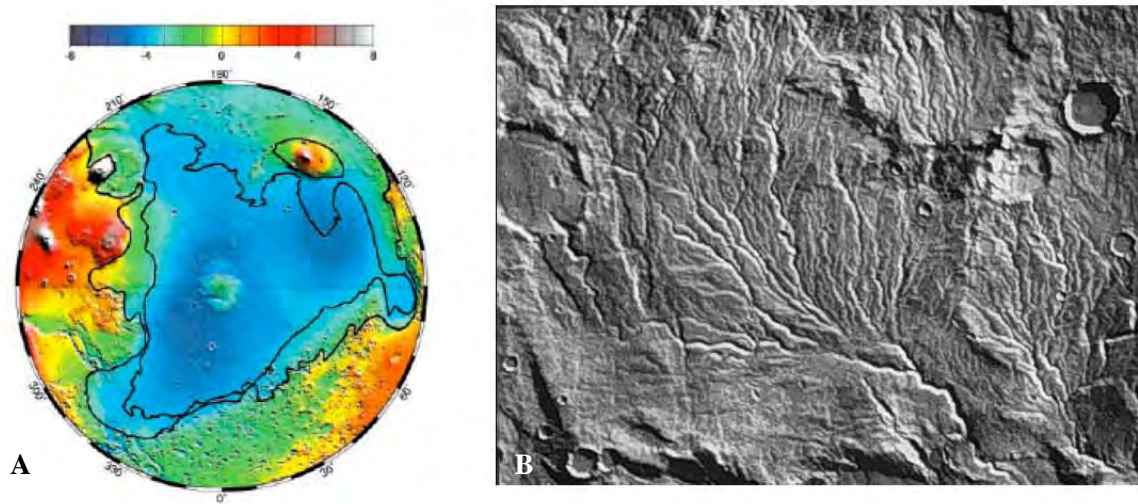


Figura 1.2. (A) Evidencia altimétrica y geopotencial de los antiguos mares en el hemisferio norte de Marte (escala de profundidad en Km.), en el cual se observa el suavizado de la superficie atribuido a la presencia de agua (Tomado de Head J.W 1999). (B) Patrón dendrítico de las cuencas marcianas (Dasch, Pat y Allan Treiman. "Ancient Life on Mars").

La misión espacial Vikingo

A mediados de los años 70's la agencia espacial americana envió dos vehículos idénticos llamados Vikingo 1 y 2 para recabar información geofísica, química y biológica de Marte. Una sus principales metas era esclarecer la presencia de vida en el planeta. Para lograr esta finalidad las sondas de amortizaje Vikingos llevaban consigo tres experimentos biológicos, los cuales comprendían: 1) Liberación pirolítica (PR, pyrolytic realize), 2) Liberación de compuestos marcados (LR, labeled realize) y 3) intercambio de gases (GEX, gas exchange). Adicionalmente llevaban un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG/EM) como la plataforma química de análisis, que podía medir la composición y abundancia de compuestos orgánicos (Klein et al., 1977).

Una de las mayores metas de la misión Vikingo fue la detección de materia orgánica en la superficie de Marte, y de existir, determinar su abundancia y composición, con la esperanza de poder inferir los ambientes químicos y físicos en los que pudieron ser sintetizados.

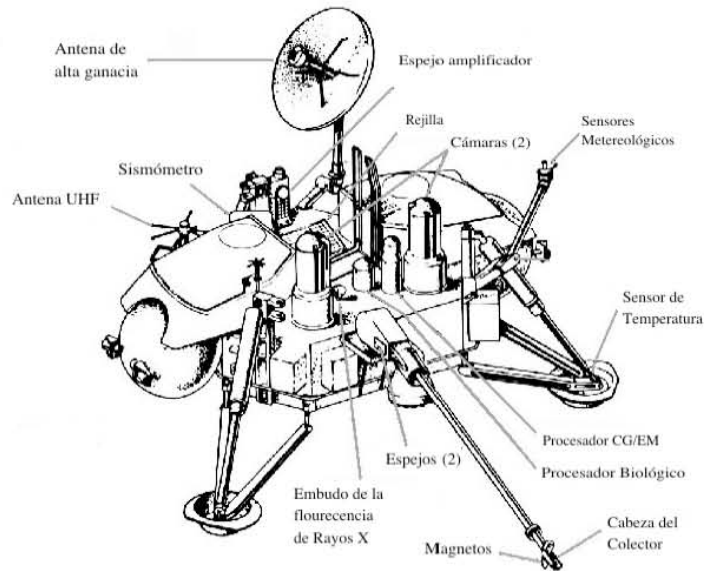


Figura 1.3. Esquema del instrumental científico transportado por las sondas de amortizaje Vikingos (tomado de <http://tes.asu.edu>).

Los experimentos de liberación pirolítica, liberación de compuestos marcados y de intercambio de gases pretendían detectar actividad biológica, partiendo de la hipótesis que de existir un metabolismo activo en Marte, este deberá estar limitado por la disponibilidad de agua, o que deberá poseer un metabolismo heterótrofo basado en el carbono. Tomando en cuenta esto, los experimentos utilizaron ya sea mezclas acuosas o concentradas de una gran variedad de compuestos orgánicos, considerando que las condiciones de incubación deberán ser similares a las presentes en el planeta (Klien, 1977).

El experimento de liberación pirolítica (PR) pretendió mostrar la capacidad del suelo marciano de convertir CO ó CO₂, o ambos, en materia orgánica en presencia o ausencia de luz solar artificial (333-1000 nm). Esto llevándose de la siguiente manera: Una muestra del suelo fue introducida a una de las diversas cámaras de incubación, la cual fue sellada y se removieron los gases atmosféricos sustituyéndolos por la mezcla de CO y CO₂ isotópicamente marcados. La muestra fue incubada por un tiempo predeterminado a 15°C, en presencia o ausencia de luz. Después de la incubación, los gases de la cámara fueron evacuados y el sedimento fue calentado a 625 °C, los compuestos orgánicos que pudieron

ser volatilizados fueron conducidos a una columna recubierta con CuO mediante un flujo de helio, la cual oxidaría los compuestos orgánicos a CO₂ para su posterior determinación en el detector de radiación (Horowitz et al, 1977)

Una prueba control realizada consistió en calentar a 160 °C por tres horas a una muestra de sedimento, que tuvo como objetivo esterilizar todo microorganismo presente en la muestra. El análisis de la muestra control no produjo la liberación de compuestos orgánicos mostrando que el proceso pudiera ser realizado biológicamente. Los experimentos tuvieron un número reducido de réplicas, dejando dudas con respecto a los resultados de los análisis y considerándolos inconcluyentes. Resultados posteriores en laboratorio en la Tierra demostraron que el mismo proceso se realiza mediante catálisis abiótica por minerales que contienen óxidos de hierro (magnetita, hematita y maghematita), montmorillonita y arcillas enriquecidas con hierro (Horowitz et al., 1977; Klein et al., 1977).

El experimento de intercambio de gases (GEX) pretendió que mediante la exposición del suelo marciano a una solución acuosa de metabolitos se generara desprendimiento de gases, ésto siendo monitoreado mediante cromatografía de gases. De los resultados se observó un desprendimiento sustancial de oxígeno durante las primeras 2.8 horas y el posterior aumento significativo de CO₂, lo cual se interpretó como un efecto de los compuestos inorgánicos perteneciente a la matriz mineral, que descompusieron los sustratos y que llevó a la emisión del vapor (Oyama y Verdal, 1997; Klein, 1977b).

El experimento de liberación de compuestos isotópicamente marcados (LR) buscó la detección de metabolismo o de crecimiento microbiano mediante radiorespirometría. El procedimiento experimental comenzó agregando 1 cm³ de nutrientes consistente en agua destilada con compuestos orgánicos simples (formiato, glicolato, glicina, D- y L- alanina y D- y L- lactato), isotópicamente marcados con ¹⁴C (8 μC/μmol) que fueron agregados a 0.5 cm³ de muestra de suelo. Después de la adición la muestra se incubó aproximadamente por diez días, donde cualquier organismo con suerte consumiría los nutrientes y a su vez liberaría gases enriquecidos con carbono 14, el cual debería ser detectado (la respuesta

típica de los organismo terrestres es que pueden liberar CO₂, CO ó CH₄, como producto de su metabolismo). El resultado fue una importante evolución de gases radioactivos. El experimento blanco fue realizado con tres horas de precalentamiento a 160 °C (al igual que la liberación pirolítica) del sustrato, el cual no dió la liberación de gas; lo anterior, soportó la noción de que se trata de una respuesta biológica (Levin y Straat, 1977).

La misión pretendió llevar consigo un laboratorio de análisis químico a la superficie del planeta, en el cual se consideró incluir un método de extracción y preconcentración acoplado a CG/EM, pero por cuestiones de tamaño y seguridad éstas no fueron agregadas a las sondas.

Tomando en consideración la gran irradiación existente en la superficie del planeta, sólo se esperan moléculas pequeñas de la descomposición fotoquímica de la atmósfera. La concentración esperada de los compuestos propuestos a encontrarse en Marte por los equipos se presenta en la tabla 1.2.

Para lograr esta meta se llevó un equipo de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas, como una técnica de alta sensibilidad y alta selectividad estructural. Dada la necesidad de la miniaturización de los componentes a enviarse, se descartaron los métodos de extracción y concentración de vía húmeda, se utilizó un dispositivo de termovolatilización, siendo éste un método simple y confiable para el análisis de muestras superficiales (Biemann et al., 1977a, b).

Tabla 1.2. Límites de detección para los compuestos esperados en las planicies marcianas. † para dilución 400:1, ‡ para dilución 8000:1 (Biemann et al., 1977a)

Compuesto	Rango del límite de detección (ppm)
Compuestos simples	
Metanol	<300-3,000†
Etanol	<9-90
Formaldehído	<1,200-12,000‡
Etano	<1,200-12,000‡
Propano	<3-30
Hidrocarburos alifáticos	
Butano	<1-30
Hexano	<0.5-10
Octano	<0.15-10
Hidrocarburos aromáticos	
Benceno	<0.5-80
Tolueno	<0.5-30
Naftaleno	<0.0015-0.5
Compuestos oxigenados	
Acetona	<10-2,500
Furano	<0.05-1
Metió-furano	<0.15-2
Compuestos nitrogenados	
Acetonitrilo	<0.5-10
Benzonitrilo	<0.015-2
Compuestos azufrados	
Tiofeno	<0.015-0.5
Metil tiofenona	<0.015-0.5

El gas utilizado en la termovolatilización durante los primeros experimentos fue CO₂ con la finalidad de evitar la posible reducción catalítica o térmica de los compuestos volatilizados. Las muestras del suelo pudieron ser calentadas a diferentes temperaturas preprogramadas desde 50, 200, 350 hasta 500 °C obteniendo la temperatura seleccionada entre 1 a 8 segundos dentro de la cámara de pirolización, permaneciendo así durante 30 s. Los compuestos liberados fueron acarreados por flujo de hidrógeno al cromatógrafo, y posteriormente fueron conducidos a un divisor de flujo, el cual protegía el equipo de masas de la pérdida de vacío y de una sobre entrada de los analitos. La columna utilizada fue una Tenax-CG (2,6 difenil-p-óxido de fenilo) recubierta con poli-metafenoxileno. Esta columna fue diseñada para maximizar la separación y transferencia de los compuestos orgánicos a niveles por debajo de partes por millón. El programa de temperatura utilizado por el cromatógrafo inicia con una isoterma a 50 °C por 12 minutos, seguido de un incremento

lineal hasta 200 °C durante 18 minutos y manteniéndola durante 18, 36 ó 54 s. El flujo de la columna fue ajustado a 2.5 mL/min. mediante un restrictor de flujo localizado en el tanque de hidrógeno (Biemann, 1979).

El análisis de espectroscopía de masas fue realizado en la modalidad de impacto electrónico operado a 70 eV, con un rango de masa de 11 a 215 m/e, realizando 10.24 ciclos de adquisición por segundo. La temperatura de la cámara de ionización era mantenida a 225 °C.

Las muestras analizadas por este experimento fueron tomadas en la planicie Chryse (VL-1, tomada por el Vikingo 1) y de la planicie Utopía (VL-2, tomada por el Vikingo 2). Para los análisis realizados en esta última localidad se cambió el CO₂ como gas presente en la termólisis, en su lugar se utilizó el hidrógeno utilizado por el cromatógrafo, con la finalidad de mejorar la cuantificación de CO₂ desprendido de la muestra. Además de impedir la oxidación por parte de los minerales del regolito marciano, ésto fue propuesto después de la interpretación de diversas muestras por esta técnica en los diferentes experimentos biológicos realizados por el Vikingo 1 (Biemann et al., 1977b).

El apropiado funcionamiento del equipo de CG/EM en la superficie de Marte fue verificado por la identificación de CH₃Cl, como disolvente residual de la limpieza del equipo antes de ser enviado al planeta. Otros compuestos identificados fueron los provenientes del sangrado de la columna al encontrarse a altas temperaturas. La vida útil de ambos equipos fue de 8 1/2 y 7 meses respectivamente, durante los cuales se realizaron 4 análisis de pirólisis en cada Vikingo.

El experimento de cromatografía de gases - espectrometría masas no llevó a la detección de ningún compuesto orgánico encontrado en el regolito marciano [siendo el regolito definido como capa de material heterogéneo suelto proveniente de la roca planetaria sólida] (Banin, 2005), presente como hidrato. Esto fue comparado con los resultados realizados a las

muestras de la Antártica y del meteorito Murchinson, obtenidos por versiones de laboratorio de los equipos llevados por los Vikingo, llegando a concluir que la concentración de los compuestos orgánicos debe encontrarse por debajo de los límites de detección (ppb). Por lo que a pesar de los diferentes resultados a favor de la existencia de vida en Marte por parte de los experimentos biológicos, los resultados fueron declarados como discutibles por el momento debido a las inconsistencias e irreproducibilidades (Klein, 1977).

Por otro lado, el hecho de que el experimento de Pi-CG/EM no detectara ningún compuesto orgánico resultó contradictorio con los resultados de los experimentos de liberación pirolítica (PR) y liberación de compuestos marcados (LR). Esto originó gran controversia entre los científicos encargados de los diferentes experimentos y fue necesario realizar más experimentos. Las réplicas de los experimentos de CG/EM y LR se realizaron con suelos de la Antártica ya que poseen cantidades similares de baja concentración de materia orgánica y revelaron que la sensibilidad del Pi-CG/EM no era suficiente para detectar las concentraciones bajas estimadas para el suelo marciano, esta falta de sensibilidad del CG/EM no pudo confirmar los resultados del experimento de LR (Biemann, 1979).

Existe gran especulación sobre las posibles formas inorgánicas que pudieran explicar los resultados de la misión Vikingo, se proponen diversos iones oxidantes (y superoxidantes) y la formación fotoquímica de peróxido de hidrógeno en la atmósfera alta. Contrariamente a las hipótesis que la superficie oxidante destruyó los compuestos orgánicos que probablemente existieron, evidencia de las misiones Mariner 9 [Espectroscopía infrarroja con interferometría (IRIS, por sus siglas en inglés)], Pathfinder y el observatorio Kitt Peak claramente demostraron que Marte no presenta una superficie altamente oxidante, dejando el problema sin resolver la existencia de algún compuesto oxidante en la superficie de Marte (Toulmin et al., 1977).



Figura 1.4. Imagen de la superficie marciana obtenida por la sondas de amortizaje del Vikingo 2, (<http://mpfwww.jpl.nasa.gov/mpf/mars.html>)

Las diferentes teorías que tratan de explicar la formación de los oxidantes y su comportamiento durante los experimentos biológicos del Vikingo, se pueden agrupar en dos categorías: (Quinn et. al., 2005)

1. *Foto-producción de oxidantes en la atmósfera:* La fotólisis de la atmósfera por radiación solar ultravioleta puede generar compuestos como H, OH, HO₂, H₂O₂, O₂, O₃. Algunas de estas especies oxidantes pueden absorberse y difundirse dentro del sustrato, oxidando la materia orgánica presente. La producción fotoquímica de oxidantes decae al atardecer y se considera que ciertos oxidantes, como el peróxido de hidrógeno, podrían depositarse sobre la superficie y acelerar el proceso después del atardecer (Barth et al., 2004). El peróxido de hidrógeno ya ha sido identificado en la atmósfera de Marte (Encrenaz et al., 2004).
2. *Foto-producción de oxidantes en la superficie:* Las interacciones entre la radiación ultravioleta y la superficie del suelo pueden originar la descomposición de la materia orgánica debido a la formación de radicales superóxido en la superficie de óxidos de

titanio, o en las matrices de silicatos. Debido a los defectos sobre oxígenos no enlazados, ocasionados por la ruptura de la unión Si-O, estos radicales son móviles y pueden migrar a través de los planos del silicato, por lo que el suelo y el polvo podrían ser oxidantes fuertes sin que la atmósfera sea por sí misma oxidante (Quinn et al., 2005).

Análogos Marcianos

De todos los planetas terrígenos Marte y la Tierra han ocupado posiciones similares en términos de distancia solar, historia de condensación y dotación de material proveniente de la nébula solar (Moroz y Mukhin, 1978), por lo que las características de la superficie en ambos planetas debieron ser muy similares durante sus estados juveniles. Marte estuvo cubierto por abundante agua y con condiciones superficiales similares a las que poseía la Tierra primigenia durante las primeras etapas de su historia (Carr y Wänke, 1992; Summons 1996).

El estudio de los análogos terrestres de Marte está enfocado en cumplir con alguno (o varios) de los siguientes objetivos (Farr, 2004):

- a) Detectar vida o sus vestigios.
- b) Determinar el clima presente o pasado y causantes.
- c) Determinar los procesos geológicos que han creado y modificado a Marte.
- d) Preparar la exploración humana.

El estudio de los procesos similares que operan en Marte se realiza mediante el uso de análogos terrestres, que hacen más fácil de extrapolar los fenómenos planetarios y menos delimitados a determinadas zonas. Ciertos lugares han sido estudiados recurrentemente para el caso de Marte, entre ellos encontramos por su importancia a: el desierto de Atacama en Chile, el desierto de Mohave (el Valle de la Muerte) en Arizona, los valles secos de la

Antártica, el río Tinto en España, el desierto de la Joya en Perú, la planicie de Panoche en California y el simulante marciano (JSC Mars-1) (Farr, 2004).

- El desierto de Atacama es el desierto más seco del mundo, de esta extrema aridez cabe resaltar su nivel bajo de erosión y acumulación de sales poco comunes como: percloratos, yodatos y nitratos en suelo. Su registro geológico de hiper-aridez se remonta desde el mioceno (Clarke, 2005), con precipitación de unos cuantos milímetros por década (McKay et al., 2003). Los estudios microbiológicos presentan una tendencia de diversidad heterotrófica bacteriana en relación con la cantidad de agua disponible y en la región más árida del desierto no se encontraron bacterias cultivables (Navarro et al., 2003).
- El desierto de Mohave en la región del valle de la muerte, en particular, es importante por la accesibilidad y la variedad de locaciones con procesos geológicos relevantes al estudio de Marte. Las cuencas de este desierto son un excelente análogo marciano ya que contiene un paleo-lago y evaporitas (Farr, 2004) compuestas de halita (sal de roca, NaCl), yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y glauberita ($\text{Na}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2$) (Douglas, 2004).
- Los valles secos de la Antártica, fueron durante muchos años los mejores análogos marcianos (Wentworth, 2005), estudiados por los procesos polares que incluyen el permafrost y el lavado de masas entre otros tipos de procesos geológicos. (Farr, 2004). Durante la preparación de los experimentos biológicos y químicos de la misión Vikingo y su posterior discusión, se utilizaron muestras de esta zona debido a la baja cantidad de materia orgánica y nula detección de organismos, como referencia de suelos marcianos (Biemann et al., 1979). Los procesos geológicos y climáticos similares con Marte pueden resumirse en: (Wentworth, 2005)

- Temperaturas bajas en promedio (-20 °C)
 - Fuertes vientos, desecantes
 - Carencia de lluvia
 - Escasas nevadas
 - Sublimación
 - Ciclos de hielo y deshielo
 - Baja humedad
 - Alta radiación solar
 - Sales (suelos ricos en sulfuros y cloruros)
- El Río Tinto posee un ambiente extremadamente ácido (el pHs varia entre 1 y 5) con una alta concentración de metales pesados (3-20 g de hierro por litro de agua), sorprendentemente se encuentra vida en el río, donde la biomasa está compuesta de eucariontes, arqueas y bacterias hierro-oxidantes, que han existido por más de 300,000 años (Amarat et al., 2002; de Lope et al., 2002). El río Tinto es un modelo del cómo posiblemente se auto-asocia el hierro en la generación de minerales biológicamente mediados, predominantemente dominado por la presencia del catión Fe^{+3} . Este sistema se propuso como un valioso análogo a los valles Meridiani en Marte (Fernández-Remolar, 2004).
- El simulante de regolito marciano (JSC Mars-1) fue desarrollado específicamente para la investigación, siendo la fracción menor de 1 mm de ceniza volcánica intemperizada del cono del volcán Pu'ú Nene, de una isla de Hawai, siendo reconocido como el análogo con similares propiedades espectrales marcianas. La composición química del simulante concuerda con los datos obtenidos por las misiones Vikingo y Pathfinder (Ver Tabla 1.3) en tres diferentes locaciones, por que se considera es globalmente distribuido por el viento (Allen, 1998 y Simões, 2003). La principal diferencia entre el JSC Mars-1 y Marte, es que el simulante contiene 4.1×10^{-7} gramos de materia orgánica por gramo de suelo, provenientes de microorganismos (Allen, 2000).

Mineralogía de Marte

Los primeros análisis geológicos en la superficie de Marte fueron realizados por la misión Vikingo, proporcionando la composición elemental mediante la técnica de fluorescencia de rayos X (FRX) con gran precisión en elementos de $Z > 10$, en dos sitios de amartisage de ambas sondas Vikingos, separados entre ellos aproximadamente 65,000 Km. (Bibring, 2001). Junto con los meteoritos marcianos recuperados en la Tierra, éstas las únicas muestras de superficie marciana analizadas hasta antes de la misión Pathfinder (1998), la cual contaba con un espectrómetro de rayos X de protón alfa (EPARX, por sus siglas en inglés), aportando resultados similitudes a los obtenidos por los Vikingo, concluyendo que el suelo marciano es el producto de intemperismo de rocas ígneas (Ver tabla 1.3). A diferencia de su antecesor el EPARX trabaja en tres modalidades de interacción con la materia pudiendo cuantificar todos los elementos a excepción del hidrógeno y helio, con mayor precisión, analizando seis muestras de suelo y cinco rocas (Reider et al., 1997; Economou, 2001).

Tabla 1.3. Comparación de la composición química de los suelos de Marte obtenida por las misiones Vikingo y Pathfinder con el simulante marciano. (Tomado del Allen, 1998)

Óxido	VL-1	VL-2	PathFinder	JSC Mars-1	
	Peso %*	Peso %*	Peso %†	Peso %¶	Peso %¶
SiO ₂	43	43	44	34.5	43.5
Al ₂ O ₃	7.3	7	7.5	18.5	23.3
TiO ₂	0.66	0.56	1.1	3	3.8
Fe ₂ O ₃	18.5	17.8	16.5	12.4	15.6
MnO	N.A.	N.A.	N.A.	0.2	0.3
CaO	5.9	5.7	5.6	4.9	6.2
MgO	6	6	7	2.7	3.4
K ₂ O	<0.15	<0.15	0.3	0.3	0.6
Na ₂ O	N.A.	N.A.	2.1	1.9	2.4
P ₂ O ₅	N.A.	N.A.	N.A.	0.7	0.9
SO ₃	6.6	8.1	4.9	N.A.	N.A.
Cl	0.7	0.5	0.5	N.A.	N.A.
Total	89	89	89.5	79.3	100

* Difracción de fluorescencia de rayos X (promedio de 3 muestras).

† Espectrómetro de rayos X de partículas alfa.

¶ Difracción de fluorescencia de rayos X.

N.A. No analizado

El robot Opportunity identificó Jarocita en la superficie de Marte, mediante las espectroscopías: Mossbauer, infrarroja y de rayos X de partículas alfa (EPARX) (Showstack, 2004), que junto con su morfología de deposición (por ejemplo, Figura 1.5), sugiere que su formación proviene de una solución acuosa, lo cual implica un ambiente acuoso y más amigable a la vida en Marte en el pasado (Forray, 2004). El medio que generó estos minerales debió ser bastante ácido, presumiblemente por la oxidación del dióxido de azufre proveniente del vulcanismo temprano marciano. De los minerales identificados en las recientes misiones a Marte, la jarocita y la palagonita son los que tienen mayor interés astrobiológico (Kerr, 2004).

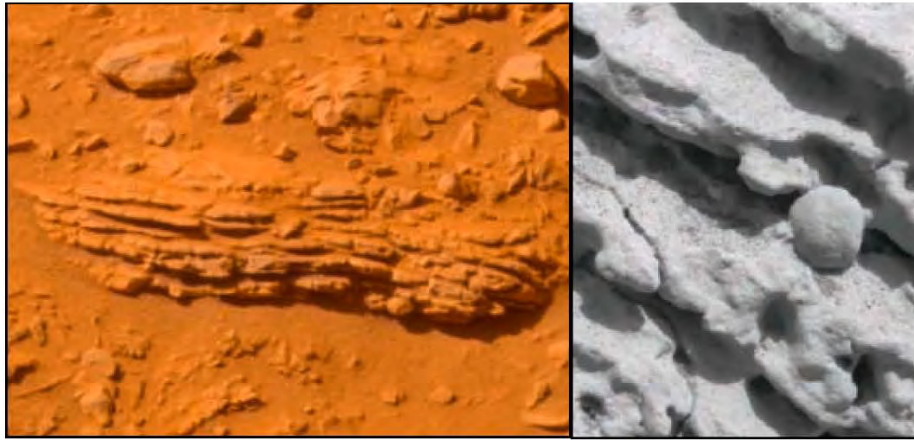


Figura 1.5. Fotografías tomadas por el Opportunity a la izquierda de una roca de origen volcánico con patrones de sedimentación acuosa, a la derecha, evaporita marciana con una esférula de hematita tomada de Kerr, 2004.

Jarosita

La Jarosita, $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, un sulfato hidratado de hierro y potasio es un mineral extenso en la naturaleza, relacionado sobre todo con la alteración de sulfuros presentes en los drenajes ácidos de minas (Dutrizac y Jambor, 2000; Stoffregen et al., 2000), con la actividad volcánica o pos-volcánica (alteración de rocas volcánicas en fumarolas ácidas) (Johnston, 1977; Fulignati, et al., 2002), o la actividad hidrotermal con o sin la implicación de actividad bacteriana.

Recientemente se ha encontrado en afloramientos en la superficie de Marte. La presencia de este sulfato acuoso y su morfología de depósito sugieren una formación acuosa, (Elwood et al., 2004).

Palagonita

La palagonita es un mineral del tipo gel amorfo o microcristalino, formado por un mecanismo hidrolítico de disolución / precipitación, se asocia con la alteración de ceniza volcánica (Nelson et al., 2005), siendo muy similar espectralmente al suelo marciano en las áreas más brillantes (en las regiones del visible, infrarrojo cercano y lejano del espectro electromagnético). En ella se han replicado los experimentos de liberación de compuestos marcados a similitud de los realizados por los Vikingos, proporcionando resultados poco concluyentes (Davis, 1999).

Señales de vida y su detección

Cualquier forma de vida que cubra la superficie de un planeta interactuará con las fases sólidas y líquidas con las que se encuentre en contacto e impondrá un gradiente termodinámico en su medio ambiente. La vida consecuentemente actuará como una fuerza motora en una serie de transformaciones químicas de importancia planetaria, como ejemplo en la acumulación de entropía negativa por parte de los organismos vivos (Walter, 1976).

En la tierra, la vida durante los últimos 3.5 Ga. ha modificado sustancialmente la litosfera, hidrosfera y atmósfera, un ejemplo es la biosedimentación microbiana representada por los estromatolitos y arrecifes coralinos (Walter, 1976). Otros ejemplos típicos en el cual la vida a modificado el equilibrio químico son: (Summons, 1996).

- El desequilibrio redox en la superficie del planeta causado por oxígeno liberado por la fotosíntesis.
- La gran cantidad de sulfuro de hidrógeno liberado por las bacterias sulfuro-reductoras en el fondo marino.

- La persistente presencia de gases meta-estables en la atmósfera como O₂, N₂ y CH₄.
- Desequilibrio isotópico (por ejemplo entre el oxígeno del agua, y el oxígeno de la atmósfera).

Existen varios minerales biogénicos, que tienen cristalografías, morfologías y cocientes isotópicos distintivos que los hacen distinguibles de sus contrapartes abióticamente producidos de la misma composición química. Esos minerales resultan de procesos de mineralización biológicamente controlados, formados en un medio orgánico estable, fuera del equilibrio (Brack et al., 1999).

Tabla 1.4. Ejemplos de biomarcadores de vida característicos y métodos de detección
(adaptado de Simoniet, 1998)

Tipo de compuesto	Fuente común biótica	Método analítico de detección
1. Compuestos lábiles relacionados a procesos bióticos recientes		
Aminoácidos / péptidos	Toda la vida	CG, Pi-CG
Azúcares / polisacáridos	Flora (alguna fauna)	CG
Nucleótidos	Toda la vida	Métodos específicos
Lípidos insaturados	Toda la vida	CG, CG/EM
2. Lípidos relacionados con biosíntesis en periodos geológicos anteriores		
Hidrocarburos alifáticos	No específicos / ambiguos	CG, CG/EM, CG-IR/EM
Isoprenoides	Biogénico	CG, CG/EM, CG/IR/EM
Ésteroides	Flora / Fauna	CG, CG/IR/EM
Triterpenos	Flora / microbios	CG, CG/IR/EM
Diterpenos	Flora / microbios	CG, CG/IR/EM
Pigmentos	Flora / microbios	HPLC-EM, HPLC-IR-EM
Biopolímeros	Flora / microbios	Pi-CG/EM
Biomarcadores nuevos y desconocidos	-	CG-EM, Pi-CG/EM

Los organismos también dejan registro de su existencia cuando el material de los cuerpos se degrada después de la muerte, una minúscula fracción de sus compuestos orgánicos (entre 10⁻³ y 10⁻⁴%) escapa de la descomposición al ser sepultado formando parte del nuevo sedimento (el resto de los componentes son remineralizados como CO₂), formando los principales biopolímeros (debidos a la humificación y subsiguiente transformación a polímeros inorgánicos de carbono), resultando en la formación del kerógeno, un agregado

polimérico (ácido-insoluble y químicamente inerte) de hidrocarburos alifáticos y aromáticos (Durand, 1980).

En la búsqueda de vida más allá de la Tierra, los microorganismos han mostrado ser los mejores prospectos para encontrar la posible vida en un ambiente extraterrestre, empleando las características estructurales, funcionales y químicas como patrón para identificar comunidades microbiológicas en habitats fuera de la Tierra (Summons, 1996).

Búsqueda de moléculas orgánicas de interés astrobiológico en suelos marcianos

La búsqueda de compuestos orgánicos en Marte comenzó con la misión Vikingo, la cual buscó rastros de vida en la superficie y subsuperficie (<10 cm). El equipo de cromatografía de gases / espectroscopía de masas que utilizaron las sondas de amortizaje, no detectó ningún compuesto orgánico en niveles de ppm. A pesar de ello, el no encontrar materia orgánica en la superficie, fue probablemente debido a que el método de cromatografía de gases no fue diseñado para trabajar con compuestos no volátiles y compuestos térmicamente frágiles como los ácidos orgánicos, incluyendo aminoácidos y al ácido benzoico. Sin embargo se estima que es posible encontrar compuestos orgánicos en niveles por debajo del límite de detección de los Vikingos (Buch, 2003).

Para las próximas exploraciones a Marte en búsqueda de posibles signos de vida, no solamente se enfocará en compuestos clave como los aminoácidos, si no más bien en moléculas más pequeñas como los ácidos carboxílicos, los cuales pueden ser intermediarios meta-estables de materia orgánica bajo condiciones oxidantes (Buch, 2003), o derivados de compuestos aromáticos (Pietrogrande et al., 2004).

Para analizar cualquier tipo de carbón encontrado en la superficie de Marte es necesario poder distinguir el origen del material entre biogénico y abiótico. Esto puede ser realizado mediante el uso de instrumentos como son la espectroscopía Raman e Infrarrojo ó por

pirólisis / cromatografía de gases-espectroscopía de masas (Pi-CG/EM), que podría darnos la proporción isotópica e idea de la quiralidad de las moléculas (Westall, 2000).

Los marcadores potenciales de vida de origen marciano para materia orgánica biótica, deben contener: (Westall et al., 2000).

1. Estructuras características de origen biótico (ejemplos: isoprenoides acíclicos, terpenoides, esteroides, etc.)
2. Reducción de ^{13}C en el coeficiente isotópico de la materia orgánica (indicando que los organismos han desarrollado fotosíntesis).
3. Quiralidad con configuración biológica, por ejemplo de aminoácidos y carbohidratos.
4. Serie homóloga de componentes con una distribución no aleatoria de átomos de carbono.

En orden de importancia, los compuestos orgánicos en el material marciano que deberían estar presentes son: Compuestos volátiles de bajo peso molecular (hidrocarburos, ácidos alquílicos y peroxi-ácidos); compuestos de peso molecular medio (hidrocarburos, ácidos alquílicos, alcoholes, aminoácidos, purinas) y componentes macromoleculares (Kerógeno, oligo- y polipéptidos) (Westall et al., 2000).

Descomposición y preservación de la materia orgánica

En el término “materia orgánica”, orgánica significa literalmente “compuestos derivados de organismos vivos”. Originalmente, basado en la idea que estos compuestos eran extraídos de organismos vivos y otros productos naturales. En el siglo XIX se redefinió el concepto a raíz de la síntesis de compuestos “orgánicos” a partir de compuestos inorgánicos, como lo demostró el famoso experimento realizado por Friedrich Wöhler en 1828 (Wade, 1993).

El proceso de degradación o descomposición de la materia orgánica es conocido como humificación, que mediante los procesos de síntesis y polimerización, produce agregados químicos que se denominan ácidos húmicos. Estos, poseen estructuras aromáticas complejas y variables, tienen masa molecular entre los 10,000 y 50,000 g/mol y varían su composición bioquímica dentro de un amplio rango. Entre sus componentes principales están los carbohidratos, proteínas, polipéptidos, ácidos nucleicos, grasas, ceras, resinas, ligninas, etc. Son color oscuro y constituyen la fracción edáfica del suelo (Fitz, 1978).

Los restos vegetales y animales también pueden ser fragmentados hasta sus componentes básicos, como el nitrógeno, fósforo y azufre a este proceso se le llama remineralización.

Biomarcadores del ecosistema bacterial

Cuando los organismos son aislados de su habitat pueden ser sometidos a análisis bioquímicos tales como: la determinación de la biomasa, el contenido de proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, azúcares etc, obteniéndose un patrón bioquímico detallado de los biomarcadores que constituyen una muestra, con esto se puede establecer la especie principal y su estado metabólico (activo, inactivo o extinto). Por lo que un biomarcador es una serie de compuestos orgánicos, que al estar correlacionados con una síntesis bioquímica genéticamente dirigida, son útiles en la búsqueda de vida, ya que no pueden ser sintetizados por procesos abióticos (Simoneit, 1998 y 2004).

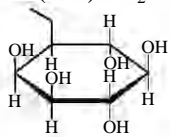
Ejemplos de la relación entre los biomarcadores y la actividad bacteriana son los aminoácidos y otras bio-sustancias lábiles, que son usadas para la elucidación de vida más reciente en los registros geológicos, mientras que los hidrocarburos saturados de la serie del hopano son usados para registros más antiguos, siendo los hopanoides los últimos productos de diagénesis de biohopanoides, caracterizándose por la pérdida de grupos funcionales y de algunos átomos de carbono en las cadenas laterales del hopanoide precursor (Farrimond et al., 2000).

El concepto de biomarcador se puede ilustrar con los lípidos de las bacterias, los cuales están relacionados con el desarrollo y evolución de la fotosíntesis oxigénica y la aerobiosis en la Tierra, siendo estos procesos el corazón del ciclo moderno del carbono y sustento de los organismos superiores (Simoneit 1998).

Los fosfolípidos constituyentes de las membranas bacterianas, se consideran como importantes indicadores de la biomasa viva, debido que presentan una proporción constante en la masa de la célula, que después de la muerte celular se degradan rápidamente (Chapelle, 1993). Los fosfolípidos están constituidos por una cadena larga de ácidos grasos y grupos fosforilo. Dependiendo del grado de insaturación y longitud de cadena, cada fosfolípido tendrá diferentes propiedades químicas y biológicas (Tabla 1.5).

Los lípidos son los mayores constituyentes de las membranas biológicas y tienen un papel muy importante en el proceso de transducción de señales químicas. La composición bacteriana de lípidos también es característica para diversas especies en una comunidad. Existen dos grandes grupos de fosfolípidos: uno es la fosfoglicina y el otro son los esfingofosfolípidos y esfingomiélin (Ver figura 1.6). (Summons, 1996)

Tabla 1.5. Clases comunes de glicerofosfolípidos. (Tomado de Wang, 2003)

Nombre del X-OH	Formula del -X	Nombre del fosfolípido
Agua	-H	Ácido Fosfatídico
Colina	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3^+$	Fosfatilcolina
Etanolamina	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$	Fosfatiletanolcolina
Glicerol	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	Fosfatilglicerol
Mio-inositol		Fosfatildilinositol
Serina	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$	Fosfatilserina

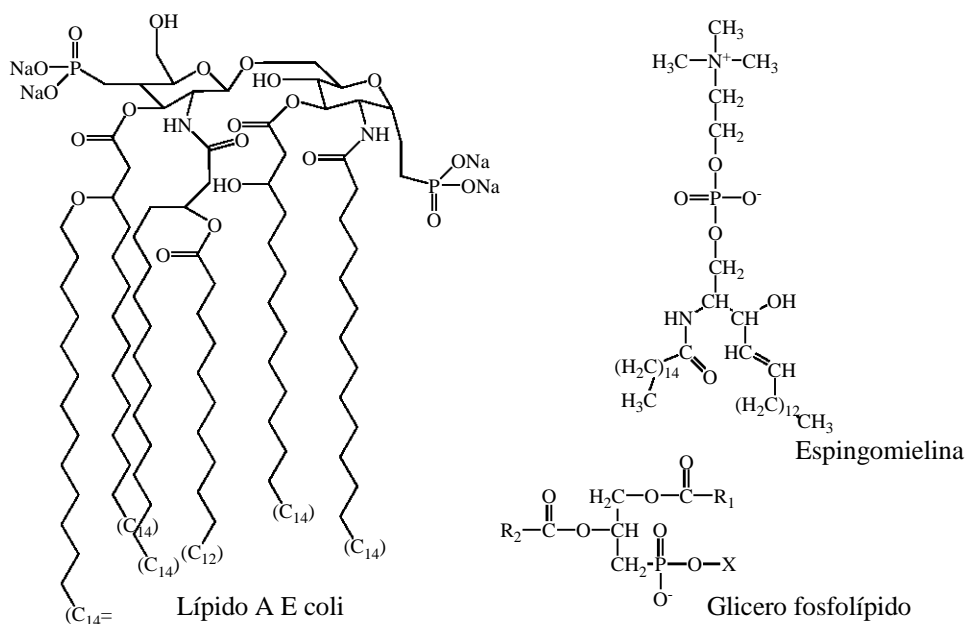


Figura 1.6. Ejemplos estructuras típicas de fosfolípidos. (Adaptado de Wang, 2003)

Dos ejemplos de precursor-producto en biomarcadores son los isoprenoides y los hopanoides. El fitol y otros precursores de isoprenoides se encuentran en la clorofila y en algunas biomembranas, mientras que los hopanoides son componentes de la membrana celular bacteriana. Los isoprenoides y hopanoides son la forma más documentada de biomarcadores alquílicos y cíclicos para bacterias. Es importante resaltar que los compuestos pueden ser alterados para dar un gran número de derivados de biomarcadores cuya estructura todavía es rastreable a su precursor (Figura 1.7).

Los hopanoides abarcan una clase de lípidos pentacíclicos de triterpenoides, encontrados predominantemente en las membranas de las bacterias (Härtner et al., 2005; Farrimond, 2000). Estos hopanoides son de gran importancia ya que dan funcionalidad y estabilidad a la membrana bacteriana, bioquímicamente derivan del escualeno. Las estructuras de los hopanoides se pueden clasificar en dos grupos: Los de cadena simple con esqueleto de C₃₀-hopano y los de cadena alargada resultantes del acoplamiento de la estructura C₃₀-hopano con cadenas laterales polifuncionalizadas (Figura 1.7) (Härtner et al., 2005). Realizan funciones de reconocimiento como hormonas en animales,

pigmentos fotosintéticos, transportadores de electrones y estabilizadores de membrana celular (Kannenberg y Poralla 1999).

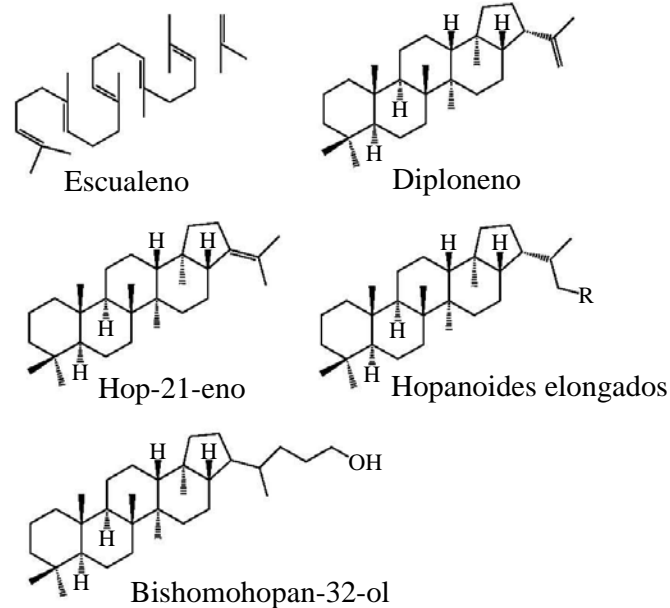


Figura 1.7. Proceso de diagénetico de transformación del escualeno a diferentes hopanoides(izquierda). Tomado de Härtner et al., 2005

Los hopanoides se han detectado en cerca de 30% de todas las bacterias investigadas, incluyendo una amplia gama de las bacterias Gram.-negativo y Gram.-positivo. Ocurren predominante en bacterias aerobias, tales como metanotrofas, heterótrofas, y cianobacteria. Los hopanoides también se han encontrado en algunas bacterias facultativas anaerobias, donde el hopanoide bacterial en común es bacterihopanetol (Rohmer et al., 1992).

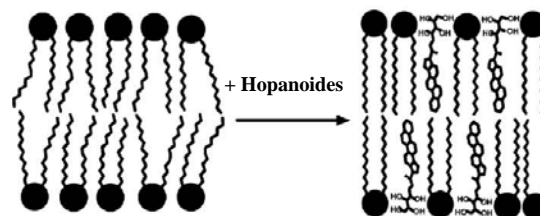


Figura 1.8. Ilustración de la función de los hopanoides en la membrana celular. Tomado de Kannenberg y Poralla 1999

Los hopanoides aparecen en el petróleo y en minas de carbón, tanto para sedimentos recientes como para antiguos, estos hopanoides generalmente tiene una cadena lateral alargada que sugiere un origen bacteriano. La diversidad en las variantes estructurales son el resultado de procesos químicos y físicos de maduración realizados en los sedimentos durante millones de años (Figura 1.9) (Kannenberg y Poralla 1999; Damsté et al., 1999).

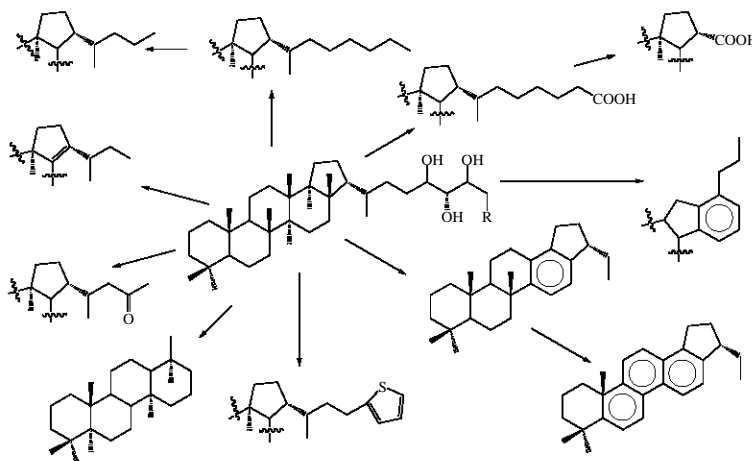


Figura. 1.9. Ejemplos de biogeohopanoideos y su hipotético origen a partir del bacteriohopanetetol. Adaptado de Kannenberg y Poralla 1999.

Metodologías de Análisis

Técnicas térmicas

Las técnicas térmicas son un procedimiento conveniente de transformación de sustancias relativamente grandes previo a su análisis por espectroscopía de masas (EM). El proceso se lleva a cabo mediante un programa de temperaturas definido, el rango de temperaturas utilizadas van desde 300 hasta 1200 °C, que se emplea para realizar la ruptura y fragmentación de una sustancia para su posterior detección, cuantificación e identificación. Una de las fortalezas de la técnica es producir una curva de concentración en función del tiempo y temperatura de una mezcla compleja de sustancias o de un microorganismo, proporcionando información cualitativa y un patrón de la muestra en estudio (Snyder, 2005).

Pirólisis

La pirólisis es definida como el rompimiento de una macromolécula en fragmentos pequeños usando solamente energía térmica. El comportamiento de las macromoléculas a elevadas temperaturas es dependiente de la fuerza relativa de unión de los enlaces que constituye a la molécula. La mayor parte de la degradación de las moléculas es el resultado de reacciones de radicales libres iniciadas por el rompimiento del enlace, y los productos de estas reacciones son reflejo de la estructura molecular, estabilidad de los radicales libres, de las sustituciones y rearrreglos internos.

Es importante reconocer que las macromoléculas se rompen en forma característica y que otra muestra de la misma molécula calentada a la misma temperatura se romperá exactamente de la misma manera, haciendo que el análisis de los productos de degradación sea reproducible para el estudio de la macromolécula original (Wampler, 1999)

A cualquier temperatura suficiente para romper enlaces la molécula empezará a degradarse, pero a temperaturas relativamente bajas la degradación podría ser muy lenta para ser analíticamente útil. A altas temperaturas la molécula está sujeta a demasiada energía y se degradaría excesivamente, creando solamente fragmentos muy pequeños y frecuentemente no específicos. El punto clave en la pirólisis analítica es seleccionar una temperatura en la cual la macromolécula es degradada dando fragmentos característicos, pero lo suficientemente rápida para poder analizar los fragmentos por otras técnicas. Los pirolisadores pueden calentar hasta temperaturas de 1400 °C, pero la mayoría del trabajo analítico se realiza usando temperaturas entre 500 y 800 °C (Wampler, 1999).

Pirólisis – Cromatografía de Gases

La pirólisis (Pi) desde hace décadas ha sido empleada como técnica analítica, aún precedente a la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM) y a la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (IRTF), pero al conjuntarla con

la habilidad de la cromatografía de gases (CG) de separar y analizar los productos de pirólisis convierte a la pirólisis-cromatografía de gases (Pi-CG) en una poderosa combinación de análisis para la caracterización de materiales.

La pirólisis permite a la cromatografía de gases analizar sustancias y muestras que por sí misma no podría, creando compuestos volátiles de estos materiales, pero existen materiales que para su interpretación requieren primero de una eficiente separación de los compuestos. La combinación de la pirólisis con la cromatografía de gases puede ser utilizada como herramienta de rutina por los analistas permitiendo analizar una mayor diversidad de muestras (Wampler, 1999).

Derivatización termolítica con hidróxido de tetrametil amonio (HTMA)

Durante los procesos termolíticos, la recombinación de los productos de pirólisis resulta en la generación de nuevos e inesperados compuestos, esto puede ser de utilidad si a una reacción pirolítica se le adiciona un reactivo, el cual se combinará con los productos de pirólisis para formar los nuevos compuestos, los cuales lleven a la determinación estructural de la macromolécula (Challinor, 2001).

Un ejemplo de derivatización pirolítica es cuando una mezcla de compuestos que contienen grupos funcionales ácidos es mezclada con el hidróxido de tetrametilamino y al ser calentados rápidamente, se obtienen los metil-derivados respectivos de los compuestos con el grupo funcional ácido, este proceso es conocido como metilación pirolítica (Challinor, 2001).

El proceso de recombinación es llevado en fase gaseosa, en la cual los productos de pirólisis son convertidos en sus metil-derivados. El mecanismo se compone de una hidrólisis a alta temperatura, con una ruptura hidrolítica en los enlaces éster y éter por la reacción de una base fuerte (HTMA) formando rápidamente sus sales y su posterior disociación térmica.

La reacción de metilación termolítica por pirólisis, junto a cromatografía de gases, o cromatografía de gases-espectrometría de masas, ha sido aplicada a la caracterización química de materiales naturales y sintéticos, incluyendo lípidos, resinas, ceras, suelos, sedimentos, productos de madera, proteínas y carbohidratos (Challinor, 2001).

- **Lípidos.-** Los ácidos grasos de los triglicéridos son rápidamente convertidos a sus metil ésteres en un sólo paso, las ventajas del método son que el límite de detección es en el orden de 10 ng. Incluso los ésteres esterílicos que son normalmente resistentes a la saponificación son convertidos eficientemente a sus metil ésteres. Cuando los ácidos grasos libres son calentados en presencia de HTMA no han presentado isomerización.
 - Los ácidos grasos constituyentes de todos los microorganismos han sido determinados con Pi-GC-MS usando el hidróxido de trimetil anilín-amonio como aditivo en la etapa de la pirólisis, generando un perfil químico-taxonómico para una sola colonia, (Challinor, 1996 y 2001).

- **Resinas naturales.-** Las resinas son componentes de las plantas abundantes en la naturaleza, generalmente politerpenos, debido a su alto peso molecular, las técnicas de pirólisis han sido de gran utilidad para la caracterización química de sus ácidos carboxílicos (Challinor, 1993).

- **Lignina.-** La composición de los derivados de lignina di-metoxi y tri-metoxi bencenoides ha sido usada para distinguir maderas suaves y duras, y en particular ha sido útil para distinguir gimnospermas de angiospermas, debido a la distribución de sus compuestos fenólicos, (Challinor, 1996a y 1996b).

- **Polisacáridos.-** La reacción de los carbohidratos con una solución acuosa de HTMA ha reportado su metilación. Estándares de hexosas, pentosas, desoxi-hexosas, lactosa celulosa y almidón presentan un sólo producto de metilación.

- Proteínas.- Las proteínas y oligo-péptidos han presentado la metilación en las uniones O-H y N-H reactivos, la múltiple metilación ocurre en los compuestos que contienen más de uno de estos grupos activos.
- Suelos y sedimentos.- La técnica ha sido empleada para monitorear los orgánicos oxigenados en la materia orgánica en sedimentos, la técnica es capaz de detectar los ésteres de ácidos monocarboxílicos de C₂-C₃₉ y los ésteres de ácidos dicarboxílicos de C₄-C₃₀.
 - La metilación termolítica es capaz de proporcionar mayor información característica de cada suelo de acuerdo a los productos metilados. El descubrimiento de ácidos benzoicos y ácidos alquílicos de cadena larga de ácidos húmicos como los constituyentes principales de diversos suelos, conduce a una re-evaluación de los modelos presentados por la pirólisis convencional.
 - Los biomarcadores característicos de triterpenoide y hopanoide han sido detectados en varias muestras sugiriendo que se encuentran covalentemente unidos a la matriz macromolecular de la estructura de los ácidos húmicos, unidades aromáticas derivadas de ligninas (Challinor, 2001; Chefetz, 2000).

Sin embargo algunos de estos componentes están limitados por la matriz y solamente se realizan acoplamiento con los oxígenos de ésteres metílicos de hidroxi-ácidos durante la degradación térmica, que son atrapados en la estructura macromolecular cuando existe una pirólisis. El uso de técnicas de extracción de gran eficiencia como la extracción de fluido supercrítico podría liberar los compuestos atrapados, (Gobé, 2000).

2. OBJETIVO

Evaluar metodologías pirolíticas que puedan ser realizadas *in situ* que permitan la identificación de material orgánico biogénico en sedimentos análogos a Marte

- Implementar y evaluar las metodologías de pirólisis y metilación pirolítica acopladas a cromatografía de gases – espectroscopía de masas en muestras análogas a diferentes escenarios marcianos.
- Evaluar el efecto producido por los diferentes minerales presentes en la superficie marciana.
- Desarrollar un modelo de descomposición oxidativa en relación del porcentaje de hierro contenido en el sedimento
- Realizar un caracterización espectroscópica de la materia orgánica en los análogos marcianos.

3. MATERIAL Y METODOS

Recolecta de las muestras

Aproximadamente 500g de la capa superior del sedimento (10 cm de la superficie), fueron recolectados con espátulas de polietileno estériles y almacenados en bolsas estériles de polietileno (Whirlpak™). La posición geográfica de las muestras se muestra en la tabla 3.1, las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente hasta el momento del análisis.

Las muestras de los valles secos y #726 de la Antártica son muestras históricas, con las que se calibraron los equipos Vikingo, proporcionadas por el Dr. Christopher McKay, (NASA, Ames Research Center), siendo recolectadas en la década de los setentas. La muestra del glaciar Otway fue proporcionada por la Dra. Monika Krees, (NASA, Ames Research Center) para estudio de una muestra mas reciente de la antártica.

Tabla 3.1 Ubicación geográfica de la muestras analizadas

Muestra	Posición					
	Latitud (N)			Longitud (O)		
Desierto de Atacama						
Yungay	-24°	4'	9.6"	69°	51'	58.8"
Viñedo	-28°	7'	4.5"	69°	55'	8"
La Joya	-16°	44'	23.3"	72°	2'	6.4"
Río Tinto						
Sedimento	37°	43'	28.4"	6°	33'	43.1"
Evaporita	37°	43'	28.4"	6°	33'	43.11"
Valle de Panoche	36°	37'	22.8"	120°	39'	38.4"
Desierto de Mohave	25°	1'	29.3"	118°	0'	41.1"

Pirólisis / Cromatografía de Gases – Espectroscopía de Masas

La muestra de suelo (aproximadamente entre 0.05 a 0.01 g de muestra) se homogenizó en un mortero de ágata se introdujo a un tubo de cuarzo de 2 x 20 mm (diámetro y largo, respectivamente) previamente tapado uno de los extremos con lana de cuarzo. Posterior al llenado el tubo de pirólisis fue tapado con lana de cuarzo. Los tubos al igual que la lana de cuarzo fueron calcinados a 450 °C por 10 horas para eliminar la posible presencia de materia orgánica.

El tubo con la muestra se colocó en el interior de la bobina de platino en la probeta del pirolizador (Pyroprobe 2000 de CDS Analytical), como se observa en la figura 3.1. y posteriormente se introdujo en la cámara de pirolización, donde se desplazó el aire y la humedad con flujo continuo de helio durante tres minutos, la cámara de pirolización se encontraba a 200 °C.

Al término de los tres minutos se pirolizó la muestra con un programa de temperaturas que comenzó con un calentamiento a 200 °C permaneciendo así durante 10 segundos y posteriormente fue calentado a 750 °C mediante una rampa de calentamiento de 10 °C/mseg. La pirolización concluyó con la homogenización por un minuto de los gases generados, que precede a la inyección al cromatógrafo.

La limpieza de la cámara de pirolización se realizó llevando a 1200 °C por un minuto el filamento de platino, con un posterior flujo de helio por 3 minutos. Este proceso se repitió un total de tres veces antes de la introducción de las muestras.

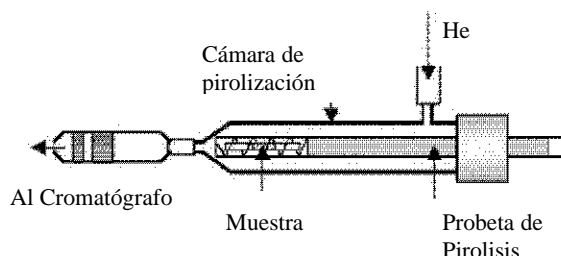


Figura 3.1. Esquema de cámara de pirolización empleada (Adaptado de Wampler, 1999)

Los gases producidos por la pirólisis fueron inyectados al cromatógrafo de gases Hewlett Packard serie 5890 acoplado a un detector de infrarrojo TF5965 y un espectrómetro de masa del tipo cuádrupolo (5889B). El equipo tiene instalada una columna Pora-BOND Q de sílica fundida con fase estacionaria de vinil-estireno, de 50 m de longitud, con diámetro exterior de 0.45 mm y 0.32 mm de interior, con un grosor de película de 5 µm. El programa cromatográfico presentó las siguientes características: Temperatura del inyector de 250 °C,

relación de split de 8.68:1, rampa de calentamiento iniciando a 50 °C con un aumento de 12 °C/min., hasta alcanzar la temperatura de 250 °C, tiempo de análisis es de 30 min., las temperaturas en las zonas transferencia como en el detector son de 250 °C.

El programa del espectrómetro de masas funcionó en modo de barrido continuo de masas (SCAN) de 45 a 100 m/z, en impacto electrónico a 70eV, los espectros obtenidos fueron comparados con la librería Wiley 138, para su identificación.

Metilación Pirolítica en Línea

La muestra (aproximadamente un gramo) se homogenizó en un mortero de ágata, fue colocada en un tubo de ensayo, donde se le agregó 0.5 mL de una solución metanólica al 5×10^{-5} % de hidróxido de tetrametil amonio (HTMA), el disolvente fue removido por un flujo de nitrógeno (99.9% de pureza). La muestra (aproximadamente 0.025g) se introdujo en los tubos de pirolización previamente calcinados, cerrando ambos uno de los extremos con lana de cuarzo, repitiendo el procedimiento utilizado en la pirólisis anteriormente descrito.

El programa cromatográfico presentó las siguientes características: Temperatura del inyector de 250 °C, relación de split de 8.68:1, rampa de calentamiento iniciando a 50 °C con un aumento de 10 °C/min., hasta alcanzar la temperatura de 250 °C, tiempo de análisis de 30 min., y las temperaturas en las zonas transferencia, como en el detector de 250 °C. El método espectroscopía de masa utilizó un rango expandido de masas 10-400 m/z con similares condiciones a las ya descritas.

Pirólisis de muestras líquidas

El extracto o sustancia líquida fue secada mediante un programa de secado del pirolizador que consistió en depositar la muestra gota a gota con una pipeta Pasteur, sobre la superficie laminar de la probeta de pirólisis a 80 °C, que se mantuvo así hasta eliminar el disolvente o concentrar la muestra.

La probeta se insertó en la cámara de pirolización, una vez cerrada la cámara se purgó con un flujo de helio por un minuto, posteriormente la muestra fue llevada a la temperatura de 200 °C durante 10 s., y luego se llevó a 500 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/ms. donde se pirolizó por un minuto, inmediatamente después fue inyectada al cromatógrafo de gases. El método cromatográfico anteriormente utilizado fue modificado para convertirlo en splitless. El método de masas utilizado es el anteriormente descrito para pirólisis convencional.

Extracción Soxhlet

La muestra homogenizada en un mortero de ágata (aproximadamente 10 g) se colocó en un dedal de extracción con poro de 25-50 µm, el cual fue colocado dentro del dispositivo de extracción, la mezcla de disolventes que se utilizó es 2:1 de diclorometano y metanol respectivamente, grado HPLC. La extracción se realizó al menos durante 12 horas. La reducción de disolvente fue realizada mediante una destilación a baja presión, al quedar un volumen aproximado de 5 mL, se transfirió a viales y se terminó de evaporar con un flujo de nitrógeno 99.99% a temperatura ambiente. Todo el material de vidrio utilizado fue calcinados a 450 °C por 10 horas.

Cuantificación de dióxido de carbono y benceno

Preparación de la mezcla de calibración dióxido de carbono

El dióxido de carbono utilizado para la preparación de la curva de calibración es de alta pureza (99.97%), adquirido a la compañía Praxair. Los tanques de los gases se encuentran ubicados dentro de dos cuartos especiales separados del laboratorio principal. Cada tanque

es conectado a un regulador de dos etapas que además tiene un filtro de línea (para partículas menores a $2\ \mu\text{m}$), el cual a su vez se conecta a la tubería de acero inoxidable por medio de la cual fluye el gas hacia el sistema de mezclado donde se prepara la mezcla de calibración. Al final de la tubería, existe una válvula restrictora de flujo para cada línea, que impide el retroceso del gas hacia los tanques.

La mezcla se preparó utilizando una mezcladora Linde FM-4660 la cual está equipada con un medidor de presión Omega DP-350, un medidor de vacío Combitron CM 351 y un medidor de temperatura Omega DP-80. Además consta de ocho canales electrónicos los cuales controlan y miden el flujo másico de gas por medio de conductividad térmica (cada canal es utilizado para un gas específico y está conectado por medio de la tubería de acero con el tanque respectivo, con un flujo máximo por canal de $20\ \text{mL}/\text{min}$ y un mínimo de $2\ \text{mL}/\text{min}$).

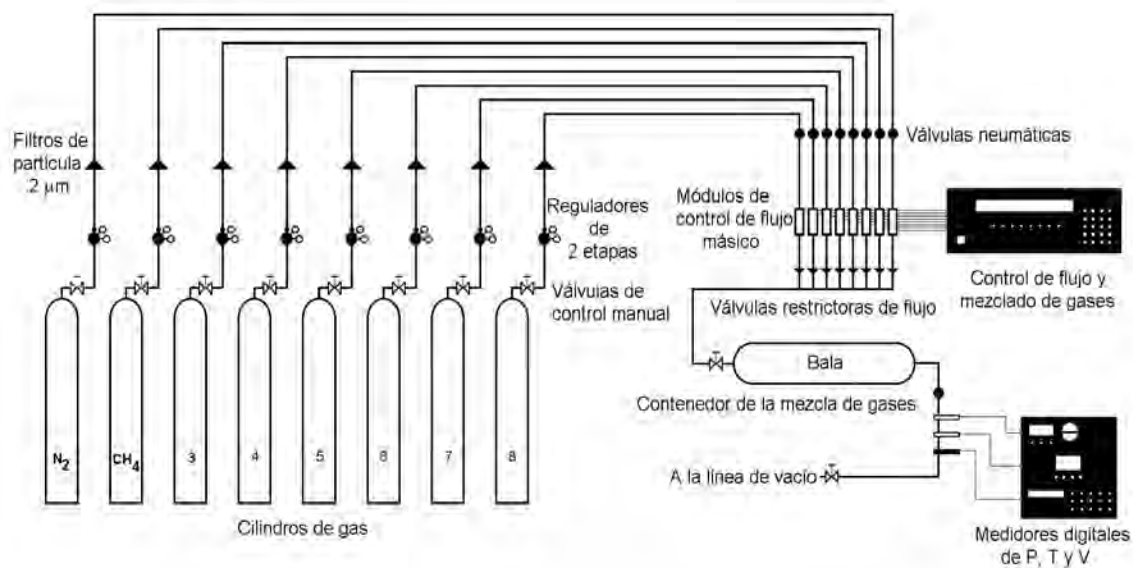


Figura 3.2. Esquema del sistema de mezclado y almacenamiento de la mezcla de CO_2 .

La mezcla de gases se almacenó en una bala (a la cual previamente se le hace un vacío de 8.0×10^{-3} mbar) o cilindro de acero inoxidable de 4 litros de capacidad en donde se expande y termina de mezclarse hasta el momento de su uso (véase la figura 3.2). Posteriormente se

dejó a que terminara de mezclarse por completo por 24 horas. Una vez mezclados los gases se pasó a través de un tubo de acero inoxidable en donde se encuentra una válvula restrictora de flujo de seguridad para evitar que la mezcla de gases regrese o cambie de línea.

La bala se conecta a la línea de vacío a través de una tubería de acero inoxidable, la cual pasa por una válvula neumática y luego por un transductor Omega PX-602, el cual sirve para medir la presión en la bala (conectado al medidor de presión Omega DP-350). Posteriormente la tubería se une a dos válvulas de flujo milimétrico Nupro 55-4BMG y Nupro SS-4BMRG, que sirven para controlar manualmente el flujo de gas de la bala a la línea de vacío. El gas fluye después a través de una válvula de liberación que opera a 1053 mbar (arriba de esta presión se cierran las válvulas neumáticas y detienen el flujo de los gases evitando con esto la posible ruptura de la línea de vacío, lo que podría ocasionar un accidente).

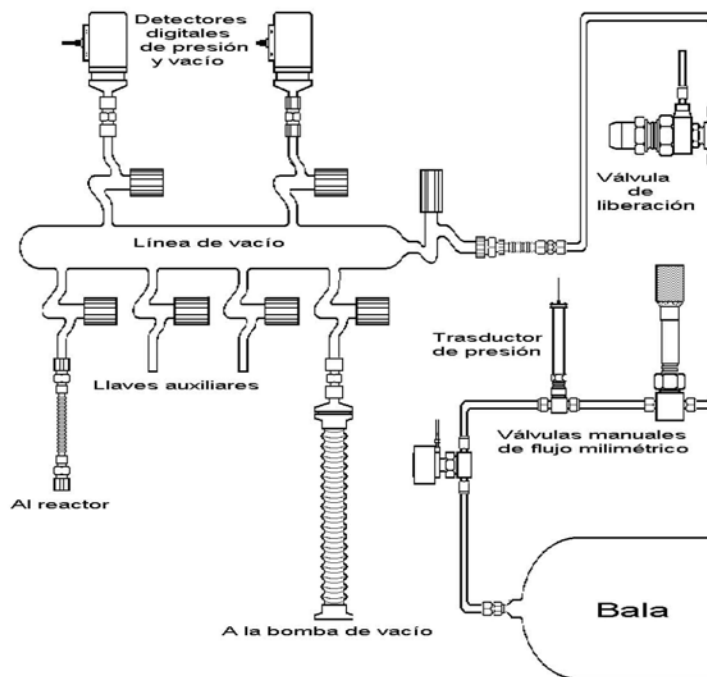


Figura 3.3. Esquema de la línea de vacío y sus componentes.

En la línea de vacío existen dos detectores, uno de vacío mediano (Leybold TR 301 DN16KF modelo 15740 con filamento de tungsteno) que detecta presiones de hasta 9.9×10^{-4} mbar. El segundo es un detector de alta presión (Leybold DI 2000 modelo 15813 con una reproducibilidad de 0.1%) que detecta presiones de 1 mbar a 200 mbar. La presión es leída a través de un medidor de presión Combitron CM 351 que tiene un sistema Leybold para hacer una medición continua de vacío controlado por un microprocesador, el intervalo en el que opera es de 9.9×10^{-4} a 1,053 mbar. En la línea de vacío existen llaves plásticas para alto vacío las cuales están compuestas por tres empaques (o-ring), dichas llaves permiten el llenado y evacuación del reactor utilizado ya que la línea se encuentra conectada a una bomba de vacío por medio de una manguera metálica, como se ilustra en la figura 3.3.

La bomba de vacío es de aspas rotatorias (serie B modelo DUO 008B de Balzers Vacuum Components); tiene una velocidad nominal de flujo de vacío de $11.1 \text{ m}^3/\text{h}$ y alcanza una presión de vacío menor a 2×10^{-3} mbar.

Análisis cuantitativo dióxido de carbono

Para realizar el análisis cuantitativo de los gases obtenidos al desprender el dióxido de carbono de la muestra de sedimento, se realizó una curva de calibración de CO_2 para la cuantificación del mismo liberado de los carbonatos y de la materia orgánica.

Para determinar el volumen del reactor utilizado, se evacuó dicho reactor en la línea de vacío a 1×10^{-3} mbar y se pesó, posteriormente se llenó por medio de la línea de vacío a 500 mbar con una mezcla al 20% de CO_2 , 80% de N_2 (V/V) y se obtuvo el peso. La diferencia de masas es igual a la masa de la mezcla dentro del reactor, con lo que el volumen de dicho reactor se calcula con la ecuación de los gases ideales y se obtuvo un valor de volumen igual a 1.02 ± 0.005 litros, a una temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

La bala se llenó con esta mezcla de la cual se tomaron muestras desde 1,000 hasta 400mbar y se inyectaron en el sistema acoplado de análisis. Posteriormente se realizaron diluciones de la mezcla anterior con nitrógeno con los siguientes factores de dilución 20%, se tomaron muestras a diferentes presiones y se determinaron las respectivas áreas de los picos de CO₂ en cada una de las inyecciones realizadas en el sistema acoplado de análisis. Los valores de presión de CO₂ se transforman en número de moléculas (ecuación 1) utilizando la ecuación de los gases ideales y el número de Avogrado.

$$M_x = \frac{(P V N)}{R T} \quad (1)$$

En donde:

X = Dióxido de carbono (CO₂).

M = Número de moléculas del componente X.

P = Presión parcial del componente X en la mezcla de calibración (mbar)

V = Volumen del reactor utilizado (1.02 ± 0.005 L)

N = 6.022 × 10²³ moléculas · mol⁻¹ (número de Avogrado)

R = 83.140 mbar L mol⁻¹ K⁻¹ (constante de los gases ideales)

T = Temperatura a la cual se realiza el experimento (K).

Para la determinación de la respuesta del equipo, se utilizó el método pirólisis convencional disminuyendo el tiempo de análisis a 10 minutos, con la finalidad de disminuir el tiempo y costos de preparar la calibración.

Con lo que se construyó la curva de calibración: Área de pico = F (número de moléculas de CO₂), es importante mencionar que todas las inyecciones se realizaron por triplicado para poder realizar un análisis estadístico confiable (Véase la figura 3.4).

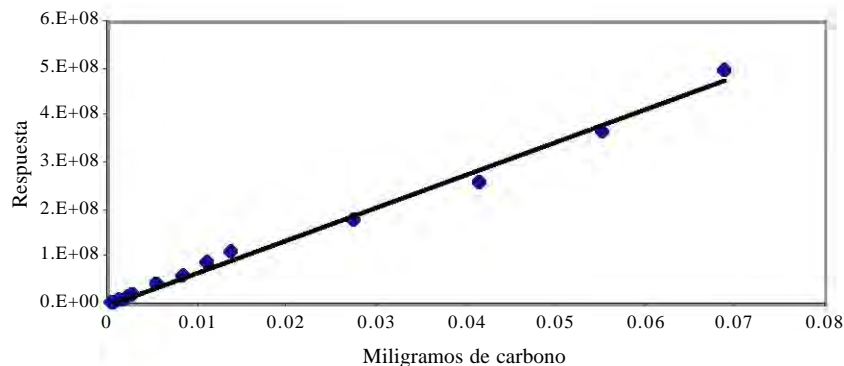


Figura. 3.4. Gráficas de calibración y regresión lineal utilizadas en el cálculo de número de moléculas de CO_2 producidos por la pirólisis.

Análisis cuantitativo benceno

Para realizar el análisis cuantitativo del benceno obtenido al pirolizar la muestra de sedimento, se realizó una curva de calibración de benceno para la cuantificación del mismo liberado de la materia orgánica.

Para determinar el volumen del dispositivo empleado, se evacuó dicho reactor en la línea de vacío a 1×10^{-3} mbar y se pesó, posteriormente se llenó por medio de la línea de vacío a 500 mbar con una mezcla al 20% de CO_2 y se pesó. La diferencia de masas es igual a la masa de la mezcla dentro del reactor, con lo que el volumen de dicho reactor se calcula con la ecuación de los gases ideales y se obtuvo un valor de volumen igual a 205 ± 0.012 mililitros, a una temperatura de 25°C .

Al dispositivo a vacío de 1×10^{-3} mbars, se le introdujo 1 mililitro de benceno grado HLPC adquirido a Aldrich, por medio de un septum, fue llenado con nitrógeno desde 800 hasta 200 mbar, dejando alcanzar el equilibrio con la presión de vapor del benceno y se inyectó en el sistema acoplado de análisis mediante el uso de jeringa de gases de $50 \mu\text{L}$. Posteriormente se realizaron diluciones de la mezcla anterior con nitrógeno en diluciones al 20%, se tomaron muestras a diferentes presiones y se determinaron las respectivas áreas de pico para benceno en cada una de las inyecciones realizadas en el sistema acoplado de

análisis. Los valores de presión de vapor del benceno se transformaron en número de moléculas (ecuación 2) utilizando la ecuación de los gases ideales y el número de Avogrado.

$$M_x = \frac{(P_x V N)}{R T} \quad (2)$$

$$P_x = P_t - P_{N_2}$$

En donde:

X = Benceno (C_6H_6).

M = Número de moléculas de benceno.

P_t = Presión total de la mezcla de calibración (mbar)

P_{N_2} = Presión parcial del nitrógeno en la mezcla de calibración (mbar)

P_x = Presión parcial de benceno en la mezcla de calibración (mbar)

V = Volumen del reactor utilizado (205 ± 0.012 mL)

N = 6.022×10^{23} moléculas \cdot mol⁻¹ (número de Avogrado)

R = 83.140 mbar L mol⁻¹ K⁻¹ (constante de los gases ideales)

T = Temperatura a la cual se realiza el experimento (K).

Para la determinación de la respuesta del equipo, se utilizó el método pirólisis convencional disminuyendo el tiempo de análisis a 10 minutos, con la finalidad de disminuir el tiempo y costos de preparar la calibración (Véase la figura 3.5).

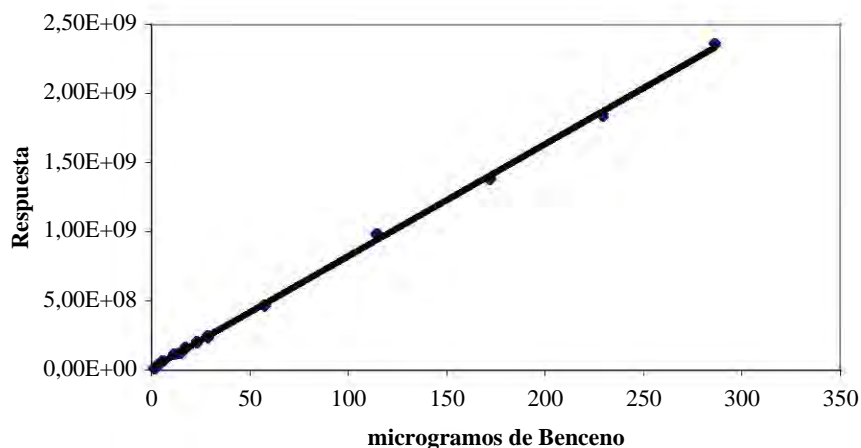


Figura. 3.5. Graficas de calibración y regresión lineal utilizadas en el cálculo de número de moléculas de benceno producidos por la pirólisis.

La cálculos de los datos estadísticos para la curva de calibración se realizaron mediante los métodos de calibración para regresión y correlación en análisis instrumentales considerando 8 grados de libertad en una t de dos colas (Tabla 3.2) (Miller y Miller 2002).

Tabla 3.2. Datos estadísticos para la grafica de calibración para la producción de Dióxido de Carbono y Benceno

Valor	Dióxido de Carbono (CO_2)	Benceno (C_6H_6)
Pendiente	7×10^{12}	8.4×10^6
Ordenada	0	2×10^7
Coefficiente de correlación	0.9939	0.9914
Nivel de confianza	95%	95%
Grados de libertad	8	8
Limite de confianza para la pendiente	$7 \times 10^{12} \pm 6.6 \times 10^{11}$	$8.4 \times 10^6 \pm 2.2 \times 10^5$
Limite de confianza para la ordenada	$0 \pm 1.32 \times 10^7$	$2 \times 10^7 \pm 1.29 \times 10^6$
Limite de detección (m g C)	7.31×10^{-3}	3.79

Análisis elemental

Las determinaciones de carbono y nitrógeno total contenido en el sedimentos fueron realizadas en la unidad de servicios analíticos instrumentales (USAI) de la facultad de química de la UNAM, por lo que en este trabajo solo se mencionan los resultados obtenidos y la descripción general de la técnica.

El análisis elemental fue obtenido en un (FISSONS EA 1108) que es un instrumento diseñado para la determinación de carbono total, hidrógeno, nitrógeno y azufre presentes en un amplio rango de muestras orgánicas e inorgánicas. El principio de operación se basa en la completa e instantánea oxidación de la muestra, la cual convierte toda la muestra orgánica e inorgánica en productos de combustión. Estos gases resultantes de la combustión pasan a través de un horno de reducción y son barridos a la columna cromatográfica donde son separados para posteriormente ser detectados por un detector de conductividad térmica (TCD), el cual da una señal de salida proporcional a la concentración de los componentes individuales de la mezcla. La Tabla 3.3 resume las características de operación del equipo.

Tabla 3.3. Características de operación del analizador elemental

Elementos	C, H, N, S
Rango de medida	100 ppm a 100%
Limite de detección	10 ppm
Exactitud	<0.3% absoluto
Repetibilidad	<0.2% absoluto
Tamaño de muestra (sólidos)	0.1 a 100 mg
Tamaño de muestra (líquidos)	0.1 a 25 μ L
Tiempo de análisis	15 minutos

Técnicas espectroscópicas

Resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN)

Los espectros fueron realizados en el instituto de química, de la UNAM utilizando un espectrómetro Jeol Eclipse de 300 MHz usando metanol ó cloroformo deuterados como disolventes. Los espectros fueron adquiridos durante 20 minutos, utilizando trimetilsilano (TMS) como referencia interna en el caso del cloroformo deuterado. La identificación de los posibles compuestos por los desplazamientos químicos de la mezcla extraída se realizó mediante la comparación de una o múltiples señales en la base de datos de compuestos de la National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) del gobierno japonés (<http://www.aist.go.jp/RIODB/riohomee.html>) haciendo la búsqueda de la señal con una variación del 0.001 ppm. La confirmación se realizó mediante la comparación con el manual Aldrich de resonancia y con los desplazamientos teóricos obtenidos del programa Chemdraw Ultra Ver. 8.0 para Macintosh.

Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier

Los espectros fueron realizados en el instituto de química, de la UNAM obtenidos en un Bruker Tenser 27, en la modalidad de película en cloroformo. Los espectros fueron comparados con los de compuestos factibles obtenidos por resonancia magnética nuclear, con las tablas de asignación de grupos funcionales (Pretsch, 1990)

Limite de detección de fracciones volátiles.

La determinación de la sensibilidad del equipo de CG/EM para las fracciones volátiles se obtuvo al pirolizar una mezcla de suelo con diferentes concentraciones de ácido esteárico (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 y 10%), sobre una matriz mineral (simulante marciano previamente purificado de materia orgánica). Las mezclas de 10 y 5% de ácido esteárico se prepararon usando una balanza Ohaus Analytical Plus, las muestras 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1% se prepararon a partir de las mezclas del 5 y 10% en diluciones consecutivas al 10%; en cada paso de dilución la muestra se homogenizó al menos por 30 min. de mezclado. El procedimiento de preparación de muestras fue el mismo que el indicado en la sección de pirolisis.

Modelo de oxidación

Las muestras para el modelo de oxidación se prepararon mediante la homogenización de la mezcla de 0.1% ácido esteárico con la matriz de suelo, en un mortero de ágata durante 30 minutos de molienda. El pesado de los constituyentes de la muestra fue realizado en una balanza Ohaus Analytical Plus. Las muestras se prepararon por triplicado, fueron analizadas mediante la metodología de pirólisis cromatografía de gases / espectroscopía de masas, para muestras sin derivatización. Las sales férricas utilizadas fueron el óxido férrico (Fe_2O_3) y sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) en diferentes porcentajes variando desde 0.01% hasta 99%. Las matrices de soporte utilizadas fueron sílica gel y mormorilonita sódica, previamente tratadas térmicamente para eliminar la materia orgánica que pudieran poseer (450 °C, durante 12 horas).

Los modelos de oxidación se realizaron utilizando al ácido esteárico como fuente de carbono, debido a que su presencia es común en la materia orgánica de origen biogénico, como parte de las membranas celulares, adicionalmente de ser una molécula simple y estable. Como oxidantes en los modelos se utilizaron al sulfato y el óxido férrico, como el resto de la matriz se utilizó montmorillonita de sodio.

Los compuestos rastreados para el modelo fueron el dióxido de carbono y benceno, en base a su generación se determina el factor de oxidación pirolítica producida por la reducción de los minerales férricos.

Modelos teóricos de oxidación

El cálculo teórico termodinámico para la oxidación del ácido esteárico en presencia de Fe_2O_3 y $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ en una matriz de SiO_2 fue realizado utilizando el software FactSage (Bale, 2002). Los parámetros empleados son: Temperatura de 750 °C, presión de 1 atmósfera, concentración del 0.1% de ácido esteárico constante, concentraciones de las sales férricas desde el 99.9% hasta 0.1%, y dióxido de silicio completando el 100% de las diferentes concentraciones.

Para el caso de la determinación de hidrógeno teórico necesario para evitar la oxidación de la materia orgánica en una cámara de pirolización emulando las condiciones del experimento del Vikingo 2, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones: Superficie de reacción de $100 \mu\text{m}^2$, una monocapa de ácido esteárico y una concentración de hidrógeno equivalente a diez veces el volumen de la capa de ácido esteárico. En el modelo se realizó observando el efecto que produce el cambio de presión de durante el proceso de pirólisis.

4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Pirólisis - Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas.

El análisis por Pi-CG/EM a 750 °C en los diferentes análogos marcianos mostró que la detección y caracterización de la materia orgánica fue factible en la mayoría de los casos, donde el contenido de materia orgánica total (MOT) era mayor de 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ de suelo (ver tabla 4.1), como es para las muestras del Desierto de Atacama (Viñedo), Desierto de la Joya en Perú, los sedimentos del río Tinto en España, valle de Panoche en California y el Desierto en Mohave (en el valle de la muerte), California, Estado Unidos y el simulante marciano, identificándose algunos alquenos simples como: buteno y el 1,3 butadieno, y compuestos aromáticos como benceno y metil benceno y, en el caso del simulante marciano se identificó también benzonitrilo.

Tabla 4.1. *Materia orgánica total (MOT) de los análogos marcianos y su detección por Pi-CG/EM. N.D. no detectado, N.C. no cuantificable († tomados de Navarro et al., 2006)*

Muestra	MOT ($\mu\text{g C g}^{-1}$) †	Composición Elemental †	Pi-CG/EM 500 °C Benceno, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pi-CG/EM 750°C Benceno, ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Antártica				
Valles secos	20 - 30	C _{0.9} N _{1.0}	N.D.	N.C.
#726	60 - 90	C _{0.3} N _{1.0}	N.D.	N.C.
Glaciar Otway	10 - 20	C _{1.0} N _{1.0}	N.D.	N.C.
Desierto de Atacama				
Yungay	20 - 40	C _{8.2} N _{1.0}	N.D.	1 - 4
Viñedos	400 - 440	C _{0.3} N _{1.0}	N.D.	1 - 4
Joya	20 - 30	C _{16.7} N _{1.0}	1 - 3	70 - 200
Río Tinto				
Sedimento	1050 - 1400	C _{11.4} N _{1.0}	5 - 50	50 - 100
Evaporita	1200 - 1500	C _{8.5} N _{1.0}	7 - 80	70 - 100
Valle de Panoche	140 - 180	C _{7.4} N _{1.0}	N.D.	5 - 20
Desierto de Mohave	145 - 260	C _{9.5} N _{1.0}	N.D.	15 - 100
Simulante Marciano	1200 - 1400	C _{11.2} N _{1.0}	N.D.	100 - 150

La materia orgánica total fue determinada por otra línea de investigación del proyecto realizado en grupo de investigación; en la caracterización de los análogos marcianos, la metodología empleada es reportada en Navarro-González et al. 2006.

En las muestras de sedimentos con gran contenido de hierro, como las del río Tinto, el valle de Panoche (Jarosita) y el simulante marciano (Palagonita), (Figuras 4.1 f, g, h y j), la diversidad de compuestos identificados de la pirolización no guarda relación con la cantidad de MOT, dando indicios que el hierro interfiere de manera negativa e importante en el proceso de volatilización pirolítica.

Los compuestos identificados para estas muestras fueron prácticamente los mismos que en muestras de menor cantidad de materia orgánica, que para el caso del río Tinto no es coherente, ya que el río contiene una gran diversidad de vida en sus orillas y en su cauce, por lo que la variedad de compuestos que pueda contener éste debe ser mucho mayor, esto fue corroborado posteriormente mediante estudios de resonancia magnética nuclear y de infrarojo.

En el caso de sedimentos con menos de $20 \mu\text{g g}^{-1}$ de MOT, como en la glaciación Otway, la antártica #726 y los valles secos, las regiones más áridas de Atacama (en la región de Yungay) y el desierto de la Joya, la detección de materia orgánica fue prácticamente nula, identificándose solamente compuestos muy oxidados, como el ácido fórmico o muy resistentes a la oxidación como el benceno (Figura 4.1), por lo que estos escenarios pueden representar buenos análogos naturales terrestres que podrían emular los resultados obtenidos por los Vikingos, sobre la superficie de Marte. considerando la baja cantidad de MOT contenida. En estas localidades se identificó benceno y en algunos casos tolueno como compuestos orgánicos también esperados en Marte (ver tabla 1.2); ningún otro tipo de molécula más simple o que contenga otro heteroátomo (a excepción del ácido fórmico) fue detectado por pirólisis simple. Por lo cual se procedió a buscar otras metodologías alternas para la detección y caracterización de materia orgánica en sedimentos del tipo marciano.

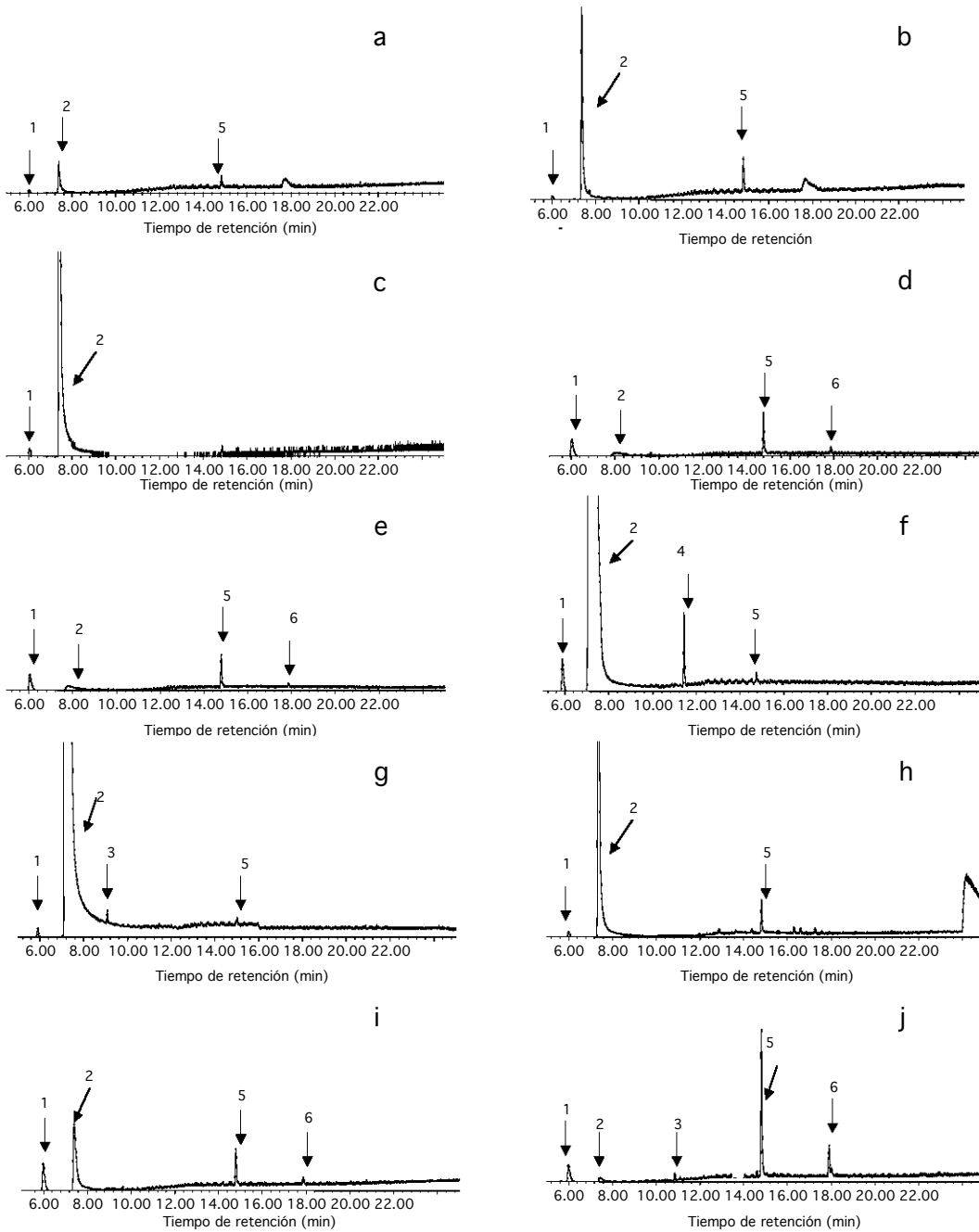


Figura 4.1. Pirogramas normalizados de los análogos marcianos: Valles secos de la Antártica (a), antártica #726 (b), antártica glaciar Otway (c), desierto de Atacama Yungay (d), desierto de Atacama Viñedos (e), sedimento del río Tinto (f), evaporita río Tinto (g), valle de Panoche (h), desierto de Mohave (i), simulante marciano (j); Los compuestos mayoritarios identificados son: *Ácido Fórmico (1), Dióxido de Azufre (2), Propanal (3), Tiourea (4), Benceno (5) y Metil Benceno (6)*

La temperatura óptima de volatilización de compuestos orgánicos de sedimentos analizados por el sistema acoplado de análisis pirólisis – cromatografía de gases / espectroscopía de masas se obtuvo a 750 °C (Molina, 2006), ya que compuestos como los polímeros orgánicos no podrían degradarse a la temperatura máxima de pirólisis utilizada por los Vikingos (500 °C). La comparación entre la cantidad de benceno volatilizado de las muestras a estas dos temperaturas se presenta en la tabla 4.1, donde el incremento en la materia detectada es apreciable, por lo cual se utilizó esta temperatura en el estudio de las muestras.

La selección del benceno como compuesto indicador de materia orgánica se debe a que es un compuesto muy resistente a la oxidación y resultado de los procesos de diagénesis (Navarro-González et al., 2003). En lugar del ácido fórmico, que puede provenir de un proceso de oxidación durante la pirólisis y puede variar de acuerdo a la cantidad de oxidante presente en la muestra.

Del análisis elemental de las muestras se obtiene la relación C/N del contenido total de muestra, presentada en la tabla 4.1, donde el contenido elevado de nitrógeno total es notable, y esto no es observado en los pirogramas. En ninguno de los casos. Esto fue debido a sales inorgánicas (nitratos y nitritos) comunes en las zonas desérticas y de poco lavado del material mineral. Por lo que anterior descarta cualquier aproximación que se pueda obtener de un análisis de este tipo en la estimación de la posible cantidad de compuestos nitrogenados relacionados con la materia orgánica.

Después de la identificación de los compuestos detectados en los pirogramas a 750 °C (Figura 4.1), se analizaron las posibles interferencias inorgánicas que nos podrían dar respuesta similar a la obtenida por pirólisis de materia orgánica. El dióxido de carbono que proviene de la descomposición de carbonatos puede interferir en la cuantificación del ácido fórmico en los sedimentos. La pirólisis de grafito como posible fuente de materia refractaria no dio ninguna respuesta, por lo que se descartó como interferencia.

La descomposición térmica de la sal más simple derivada del benceno como es el benzoato de sodio (éste puede ser obtenido por la oxidación de cadenas laterales de compuestos orgánicos), se pudo considerar la fracción aromática de la materia orgánica que persistiría después de la oxidación excesiva, que presentó dos derivados aromáticos, benceno y metilbenceno que son detectados en los pirogramas de los análogos. (Figura 4.2).

La descomposición pirolítica de persulfatos inorgánicos produce dióxido de azufre detectado en las muestras de atacama y del río Tinto mientras que la pirólisis de sulfatos no genera ningún producto.

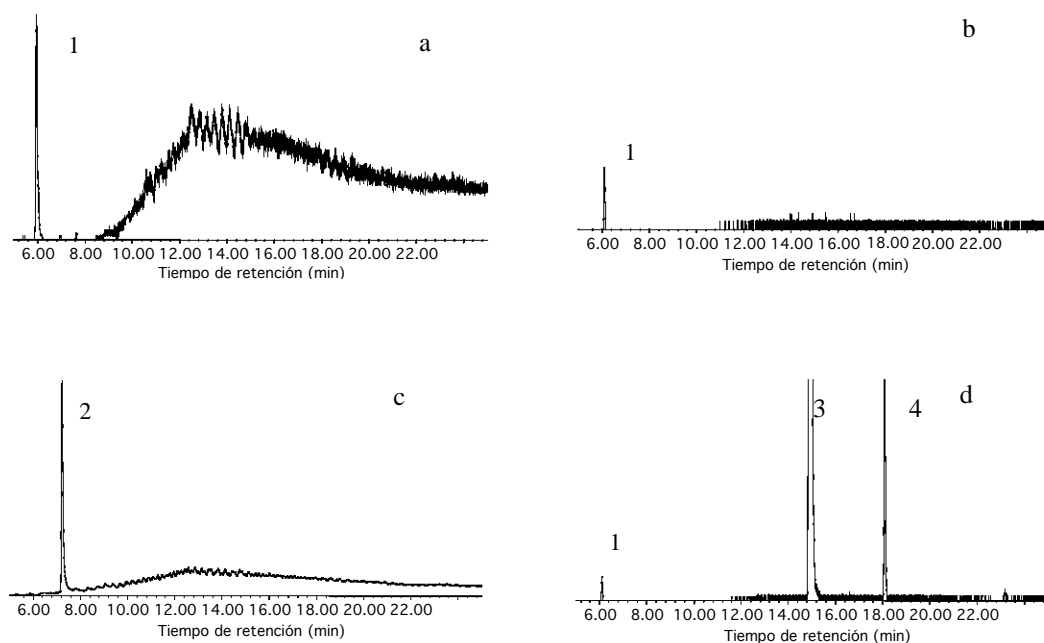


Figura 4.2. Pirogramas obtenidos a 750 °C de: Carbonato de sodio (Na_2CO_3) (a), Ácido fórmico (HCOOH) (b), Persulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (c) y Benzoato de sodio ($\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_2$) (d); Los compuestos mayoritarios identificados son: Ácido fórmico (1), Dióxido de azufre, (2) Benceno (3), y Metilbenceno (4).

Metilación pirolítica en línea

La modificación de la técnica de metilación, que comprendió la derivatización, extracción y preconcentración en pasos separados previos a la inyección al cromatógrafo, respondió a la necesidad de eliminar la mayor cantidad de pasos en los cuales la muestra (aproximadamente 0.050-0.020 g por réplica) pueda perderse durante su manipulación. Principalmente en muestras como los análogos marcianos donde la cantidad de materia orgánica es muy baja.

El patrón pirolítico del hidróxido de tetrametil amonio sobre dióxido de silicio se presenta en la figura 4.3 donde se observó la generación de dióxido de carbono y trimetil amina como los principales productos. En función de la respuesta, apareció el oxibis metano como la descomposición pirolítica entre el HTMA y el metanol, además se observaron los residuos de cloruro de metilo, proveniente de la síntesis del reactivo.

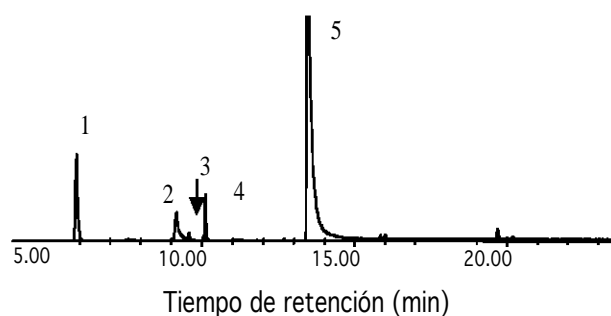


Figura 4.3. Pirograma de los principales compuestos volátiles del hidróxido de tetrametil amonio (HTMA) puro sobre dióxido de silicio. Identificación de picos: Dióxido de carbono (1), Metil amina (2), Cloruro de Metilo (3), Oxibis metano (4) y trimetil amina (5).

Se probaron diferentes diluciones de la solución del HTMA (1:500, 1:5,000 y 1:50,000 en volumen partiendo de una solución al 25% en metanol), de las cuales ninguna fue eficaz en generar los ésteres metílicos de la materia orgánica, los derivados metílicos no fueron detectados en ninguno de los casos.

La técnica de metilación pirolítica fue probada con una muestra de una ventila hidrotermal cuya cantidad y complejidad de la materia orgánica es mucho mayor, observándose la generación de los esteres metílicos, al igual que con ácido esteárico puro, utilizado como una positiva para esta metodología.

Los picos debidos al HTMA presentaron una gran desventaja en la detección de compuestos trazas al tener la base del pico muy amplia, para el caso del trimetil amina que se extiende por varios minutos cubriendo así la región donde usualmente aparecen compuestos de C_4 - C_6 , adicionalmente el reactivo aumentó el nivel de ruido en los pirogramas.

Una consideración que se tiene que tomar en cuenta en la utilización de derivatizantes es la cantidad de grupos que puedan ser funcionalizados, y en estas muestras particularmente la concentración de materia orgánica fue una limitante importante. Cualquier adición de reactivo, disolvente ó catalizador orgánico aun en la menor concentración, causó interferencia en la determinación de los constituyentes de la muestra.

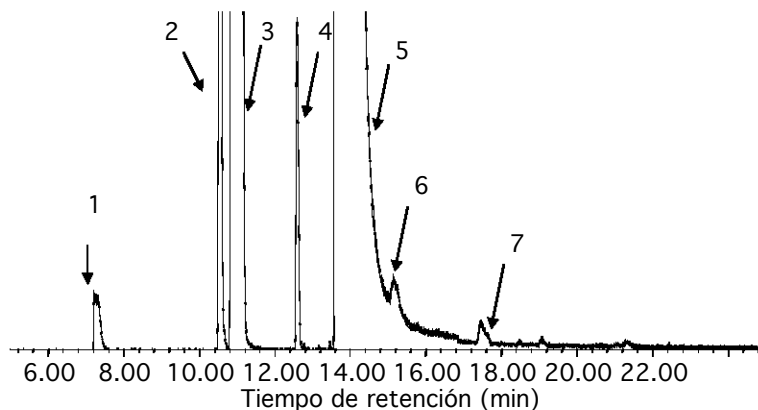


Figura 4.4. Pirograma de la muestra Yungay del desierto de Atacama, con el reactivo HTMA en una dilución 1:50,000 (V/V). Los compuestos identificados son: Dióxido de carbono (1), Metil amina (2), Cloruro de Metilo (3), Oxibis metano (4) y trimetil amina (5) Benceno (6) Metil Benceno (7).

Una desventaja es que el reactivo no puede ser utilizado en sustratos ácidos o con metales con los que se pueda coordinar la amina, por lo que en las muestras del río Tinto, valle de

Panoche y el simulante marciano, no se obtuvo resultado alguno más que la descomposición del reactivo de forma similar al blanco del reactivo, aún a pesar de estar en un orden de magnitud de concentración que la materia orgánica total.

La presencia de grupos carbonílicos, alcoholes y aminas en las muestras fue confirmada mediante el uso de la espectroscopía ^1H -RMN y IRTF, por lo que la derivatización con el hidróxido de tetrametil amonio no fue funcional para este tipo de muestras, y se recomienda un proceso de preconcentración de una muestra mayor (2-100 g.).

Extracción Soxhlet

La materia orgánica contenida en los análogos fue extraída por una mezcla 2:1 dicloro metano: metanol (V/V), por un mínimo de 12 horas, y concentrada a presión reducida. Los resultados se presentan en la tabla 4.2, siendo menores a los determinados por la oxidación en fase húmeda (Vease tabla 4.1) pero manteniendo la misma proporción, donde las concentraciones en las muestras del río Tinto y el simulante marciano son las más abundantes. Las mas pobres fueron la Antártica y la muestra Yungay del desierto de Atacama.

La mezcla de disolventes escogida para la extracción tiene un carácter polar dado por el metanol con la finalidad de extraer la mayor cantidad de materia orgánica sin arrastrar las sales. Esta mezcla de disolventes ha sido reconocida por múltiples investigaciones en la extracción de biomarcadores (Simoneit, 1998 y 2004; Glamoclija et al., 2004), hopanoides (Farrimond et al., 2000; Summons et al., 1999; Härtner et al., 2005), ácidos grasos y alcanos (Suzuki et al., 1996) en sedimentos.

La reproducibilidad y efectividad de las extracciones fue corroborada al obtenerse espectros de ^1H RMN y IRFT idénticos en diferentes extracciones de la muestra de Yungay, donde los sedimentos extraídos mostraron que la cantidad de materia orgánica remanente era

menor de $5 \mu\text{g C g}^{-1}$. La diversidad de compuestos que se pueden extraer por un mezcla 2:1 dicloro metano: metanol (V/V) fue verificada por la extracción de un suelo de jardín (jardineras del Instituto de Ciencias Nucleares), donde los compuestos extraídos comprenden los ácidos orgánicos, aromáticos, aminas, esterres, alcoholes, alquenos y alifáticos corroborados por espectroscopía.

Tabla 4.2. Contenido de materia orgánica extraído por Soxhlet en los análogos marcianos.

Muestra	Peso muestra (g)	Peso extracto (mg)	Concentración total ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Antártica			
Valles Secos	20	0.8	40
#726	5	0.2	40
Glaciar Otway	10	0.3	30
Atacama			
Yungay	20	0.5	25
Viñedos	20	1.6	80
Joya	20	1.4	70
Río Tinto			
Sedimentos	20	19	950
Evaporita	20	20	1000
Valle de Panoche	20	1.7	85
Desierto de Mohave	20	1.3	65
Simulante Marciano	10	4	400

La gran ventaja de extraer la materia orgánica del sedimento por una técnica simple de extracción como es el Soxhlet, no solo permite la preconcentración de los compuestos a analizar, sino también de eliminar las interferencias provenientes de la matriz mineral como podrían ser sales oxidantes.

Este extracto puede ser analizado de diferentes maneras, pero el objetivo es preparar la muestra para su análisis por CG/EM. Sin embargo, también puede ser utilizada con técnicas instrumentales espectroscópicas como el infrarrojo, Raman o resonancia magnética nuclear de hidrógeno, carbono u otro núcleo, para la determinación de los grupos funcionales que la constituyen ó análisis isotópicos, para determinar el origen biótico o abiótico de los compuestos.

Se propone la utilización de extracción con fluidos supercríticos para las misiones espaciales, ya que son más eficientes en la extracción de materia orgánica que una extracción Soxhlet, en muestras más pequeñas, las cuales puedan ser inyectadas directamente al equipo de cromatografía. Con esto se evitaría el uso de disolventes líquidos y disminuiría el tiempo de preparación de muestra, permitiendo hacer más análisis durante el tiempo de vida del equipo.

Pirólisis de muestras líquidas

Esta metodología fue montada para analizar la posibilidad de utilizar la probeta de pirólisis como medio de inyección de los extractos obtenidos por extracción soxhlet. Obteniéndose que puede ser utilizada con ese fin, debido a que se pudo identificar más compuestos en las muestras con menor cantidad de materia orgánica como son la Antártica y la muestra Yungay del desierto de Atacama. Como se observa en la figura 4.5, donde se identificaron acetaldehído y 3-metil butanona como nuevos compuestos para esas muestras.

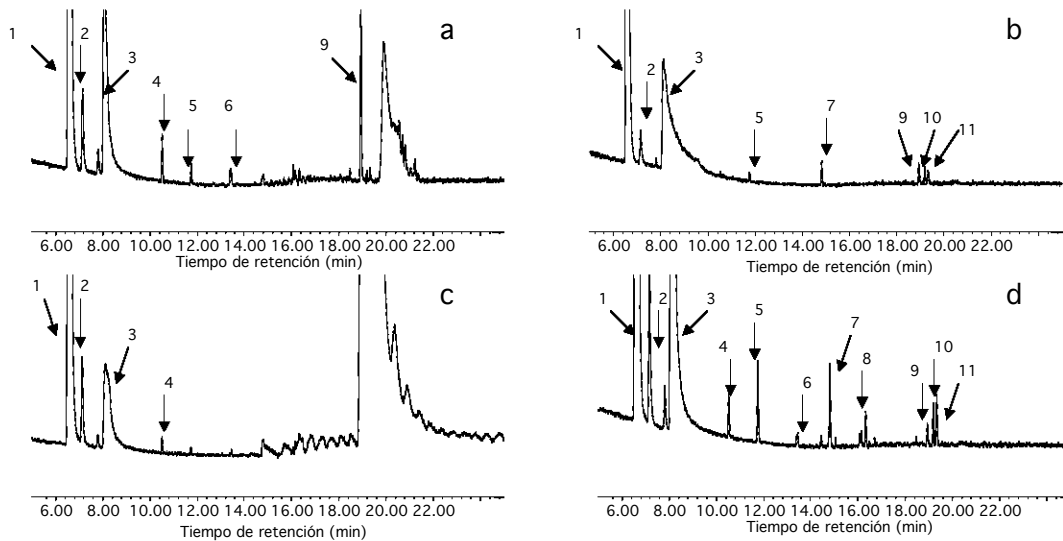


Figura 4.5. Pirogramas normalizados de los extractos de análogos marcianos: Valles secos de la antártica (a), antártica #726 (b), desierto de Atacama Yungay (c), desierto de Mohave (d); Los compuestos identificados son: Nitrógeno (1), Dióxido de carbono (2), Amonia (3), 1-Propeno (4), Acetaldehído (5), 1,3-Butadieno (6), 2-Propanona (7), 2-Metil 1-Buteno (8), Benceno (9), 3 Penten-2-nona (10) y 3 Metil 2 Butanona (11).

La pirólisis se realizó bajo similares parámetros cromatográficos y de espectroscopía de masa para que pudieran ser comparables con los pirogramas de muestras sólidas, con la diferencia de la probeta de pirólisis que es para líquidos. La diferencia en los métodos radicó en la utilización de una probeta de líquidos para pirólisis, una velocidad de calentamiento más lenta durante la cromatografía y un mayor tiempo de corrida. El rango de masas del EM fue aumentado de 10 a 400 m/z (45-100 m/z, para la pirólisis simple).

El efecto de la concentración del catión férrico en la oxidación de la materia orgánica contenida en la muestra fue evaluado en este experimento al comparar los pirogramas de la pirólisis convencional y con extracción. En la figura 4.6 se observa la desaparición del pico de dióxido de azufre y la disminución del dióxido de carbono y el agua en la muestra extraída, por lo que el pirograma obtenido tiene menor ruido y es más representativo de los compuestos orgánicos ya que hay un aumento en la respuesta y aparición de 1-propeno, 1-penteno y ciclopenteno.

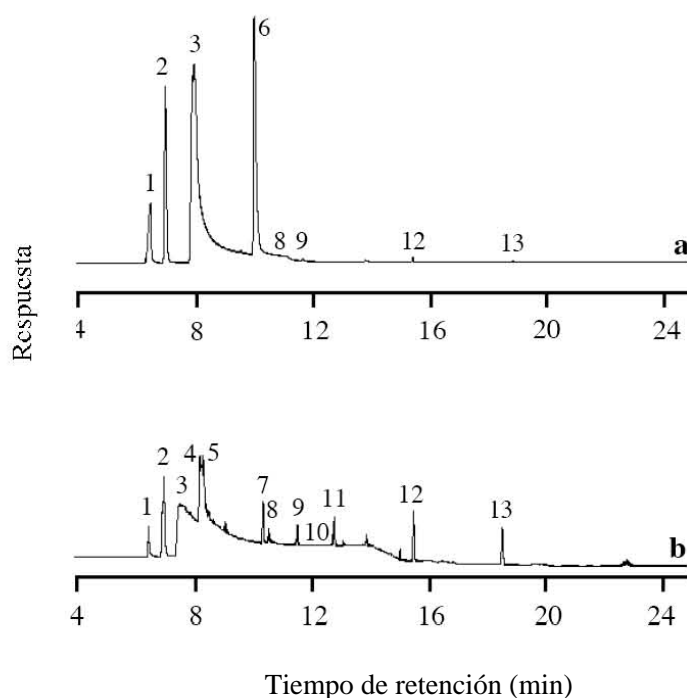


Figura 4.6. Reconstrucción de la fracción volátil liberada durante la pirólisis a 750 °C de 56 mg de un muestra del río Tinto antes (a) y después (b), de la remoción de la matriz mineral, los compuestos identificados son : Nitrógeno (1), Dióxido de carbono (2), Agua (3), Metanol (4), 1-Propeno (5), Dióxido de azufre (6), 1,3-Butadieno (7), Acetonitrilo (8) 2-Propanona (9) 1-Penteno (10), Ciclopenteno (11), Benceno (12) y Metil Benceno (13).

En las figuras 4.5 y 4.6 se observó la aparición de compuestos de menor peso molecular como agua y nitrógeno molecular debido al nuevo rango de masas empleado para estas muestras, afectando negativamente ya que aumentó el ruido en el pirograma y disminuyó la sensibilidad, debido a la menor velocidad de escaneo de masas del espectrómetro de masas.

En las muestras con concentración de materia orgánica total baja ($\approx 20 \mu\text{g C g}^{-1}$ de suelo) se encontraron compuestos carbonílicos y un nitrogenado, por lo que la identificación de compuestos orgánicos mediante esta metodología de inyección de muestra es factible y sería aún mejor si se realiza una inyección directa sin división de flujo, en el cromatógrafo en el puerto de inyección de control programado de temperatura del cromatógrafo.

Resonancia magnética nuclear protónica ($^1\text{H RMN}$) y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (IRTF)

La caracterización de los grupos funcionales que constituyen las sustancias extraídas fue realizada por técnicas espectroscópicas con la finalidad de comparar y evaluar la representatividad de los grupos observados en los pirogramas de cada una de las muestras.

De esta comparación se observó que, en términos de grupos funcionales identificados por ambas técnicas, tenemos a las cadenas alifáticas saturadas e insaturadas (0.8-14 ppm y $2970\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$), carbonos unidos a oxígeno como alcoholes y aldehídos (3.0-3.7 ppm y $3600\text{-}3200 \text{ cm}^{-1}$) y compuestos aromáticos (7.8-8 ppm). Por lo cual se perciben éstos como los principales constituyentes de las muestras analizadas pirolíticamente, pero de ellas no se puede distinguir el tamaño o complejidad del compuesto original tan sólo explican su presencia. Procesos como la fragmentación y/o reordenamiento vía radicales libres pueden explicar la formación de doble enlaces, procesos de ciclización, hasta procesos oxidativos.

La alta sensibilidad de la resonancia magnética nuclear nos permitió llegar mas allá que la determinación de los grupos funcionales. Permitted observar el acoplamiento entre señales (por ejemplo en aromáticos o dobles enlaces conjugados vecinos), la abundancia relativa (como proporción en función de la integración de los hidrógenos contenidos por cada señal) teniendo la ventaja de poder analizar a partir de 10 miligramos de muestra, lo que para muestras casi exentas de materia orgánica es invaluable, considerando además que la muestra no se destruye durante el análisis.

La sensibilidad de la resonancia magnética nuclear en comparación de la espectroscopia de infrarrojo es mucho mayor como se observó en la detección e identificación de compuestos aromáticos para la muestra de Yungay, como se puede observar en el anexo B.4, B.5 y la figura 4.10, donde se observaron bandas para compuestos policíclicos aromáticos en ^1H RMN mientras que en infrarrojo estas bandas no aparecen en las regiones típicas para ellas $1640\text{-}1600\text{cm}^{-1}$ ($\nu\text{C}=\text{C}$) y $820\text{-}780\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{C-H}$) (Sócrates, 1980). Esto puede ser explicado por la concentración relativa de estos compuestos en la muestra, en el espectro mostrado en la figura B.4 se observan las integraciones para hidrógeno tanto para alifáticos como para los aromáticos mostrando que la relación entre ellos es de 88:1.

Los grupos funcionales nitrogenados (3.5-4.3 ppm) prácticamente no fueron detectados hasta ser extraídos de la matriz mineral, como podrían ser aminas terciarias, o nitrilos como en el caso de la muestras del río Tinto (figura 4.6). Compuestos aromáticos como el benceno o tolueno pudieron ser observados en 7.8-8 ppm al igual que en ^1H RMN, pero en ésta se observó en detalle el tipo de aromaticidad, siendo éstos de gran relevancia al relacionarse con biomarcadores provenientes de la diagénesis del hopano (Kannenberg y Poralla 1999; Härtner et al., 2005).

Tabla 4.3. Datos espectroscópicos de ^1H RMN y IRTF, para los análogos marcianos (Silverstein et al., 1974; Sócrates, 1980)

Muestra	Grupos funcionales estimados, desplazamientos de ^1H RMN (δ ppm) [IRTF número de onda cm^{-1}]
Antártica	#726 Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4) y nitrógeno u oxígeno unido a metilenos o metinos (3.0-4.4) trazas. [grupos carbonilo, 1737.63, CH_3 asimétrico 2956.02 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2925.34 2854.85 cm^{-1} Hidroxilo 3380.94 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1460.33 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1251.97 cm^{-1} , y CH_2 esquelétales 722.28 cm^{-1}]
	Valles Secos Trazas de cadenas alifáticas (0.8-1.4) [grupos carbonilo, 1708.44, CH_3 asimétrico 2956.06 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2924.06 2853.55 cm^{-1} Hidroxilo 3372.15 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1460.83 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 756.32 cm^{-1}]
	Glaciar Otway Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), metileno unido a oxígeno (3.2-3.6) metileno unido a un grupo carboxilo (2.4) [grupos carbonilo, 1725.66, CH_2 simétrico y asimétrico, 2925.55 2854.86 cm^{-1} hidroxilo 3358.57 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1461.05 cm^{-1} , doble enlace asilado 1643.54 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1268.97 cm^{-1} , deformación C-O 1022.79 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 726.44 cm^{-1}]
Desierto de Atacama	Yungay Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), nitrógeno u oxígeno unido a metilenos o metinos (3.0-4.3), metileno unido a un grupo carboxilo (1.5-2.5), y Policíclicos aromáticos (7.8-7.0). [grupos carbonilo, 1722 y 1669 cm^{-1} CH_3 asimétrico 2956 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2925 y 2854.79 cm^{-1} Hidroxilo 3619.92 y 3382.85 cm^{-1} , doble enlace asilado 1647.64 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1461.89 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1259.50 cm^{-1} , deformación C-O 1030.15 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 723.20 cm^{-1}]
	Viñedo Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), nitrógeno u oxígeno unido a metilenos o metinos (3.0-4.3), metileno unido a un grupo carboxilo (1.5-2.5), y policíclicos aromáticos (7.8-7.0). [grupos carbonilo, 1729.42 y 1668.33 cm^{-1} CH_3 asimétrico 2954.78 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2924.61 y 2854.51 cm^{-1} hidroxilo 3383.39 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1461.25 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1212.71 cm^{-1} , y CH_2 esquelétales 723.07 cm^{-1}]
	Joya Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), nitrógeno u oxígeno unido a metilenos o metinos (1.5-2.1) trazas [grupos carbonilo, 1737.63, CH_3 asimétrico 2985.01 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2925.52 2854.85 cm^{-1} hidroxilo 3382.45 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1461.71 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1245.92 cm^{-1} , deformación C-O 1022.79 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 722.47 cm^{-1}]

Tabla 4.3. (Continúa) Datos espectroscópicos de ^1H RMN y IRTF, para los análogos marcianos (Silverstein, 1974; Sócrates, 1980)

Muestra	Grupos funcionales estimados, desplazamientos de ^1H RMN (δ ppm) [IRTF número de onda cm^{-1}]
Río Tinto	<p>Sedimento Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), Doble enlace (5.3), metilenos vecinos a oxígeno, metilenos vecinos a carbonilo (2.6) éster de ácido graso insaturado (3.6) [grupos carbonilo, 1711.51, CH_2 simétrico y asimétrico, 2925.22 2854.26 cm^{-1} hidroxilo 3379.04 cm^{-1}, CH_2 de cadenas largas 1461.01 cm^{-1}, doble enlace asilado 1604.35 cm^{-1}, estiramiento C-O 1088.35 cm^{-1}, estiramiento C-O-H 1026.12 cm^{-1}, deformación C-O 1022.79 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 755.53 cm^{-1}].</p> <p>Evaporita Trazas de cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4) [grupos carbonilo, 1729.42, CH_3 asimétrico 2957.12 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2924.95 2854.17 cm^{-1} Hidroxilo 3386.86 cm^{-1}, CH_2 de cadenas largas 1461.52 cm^{-1}, estiramiento C-O-C de éster 1277.90 cm^{-1}].</p>
Valle de Panoche	Trazas de cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.0)
Desierto de Mohave	Trazas de cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4) [grupos carbonilo, 1713.38, CH_3 asimétrico 2958.04 cm^{-1} y CH_2 simétrico y asimétrico, 2924.28 y 2853.76 cm^{-1} hidroxilo 3389.53 cm^{-1} , doble enlace asilado 1642.73 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1462.47 cm^{-1} , estiramiento C-O-C de éster 1274.25 cm^{-1} , deformación C-O 1031.28 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 722.45 cm^{-1}]
Simulante marciano	Cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4), metileno vecino a -OH (3.2-3.7), vecino a carbonilo [grupos carbonilo, 1711.24 cm^{-1} , CH_2 simétrico y asimétrico, 2918.31 y 2850.08 cm^{-1} hidroxilo 3380.59 cm^{-1} , doble enlace asilado 1638.06 cm^{-1} , CH_2 de cadenas largas 1464.81 cm^{-1} , deformación C-O 1083.08 cm^{-1} y CH_2 esquelétales 721.28 cm^{-1}].

Instrumentos como el espectrógrafo de infrarrojo podrían ser empleados en la caracterización de la materia orgánica en las próximas misiones a Marte, aportando puntualmente los grupos funcionales que conforman el extracto, con la ventaja que se trata de un equipo compacto en comparación del equipo de resonancia magnética.

Las señales intensas que aparecen en los espectros 4.7 al 4.10 en el anexo 2 corresponden a los disolventes deuterados en los que fueron disueltos los extractos. Las señales de 4.8, 3.3 y 1.38 ppm corresponden al disolvente cloroformo deuterado (CD_3Cl), no aparece la señal en 0 ppm correspondiente al trimetil silano (TMS), ya que se calcula el desplazamiento a partir de los desplazamientos característicos del disolvente. Mientras que para el metanol

deuterado (CD_3OD) sus señales aparecen en 3.66 y 3.44 ppm y se utiliza el TMS como referencia interna.

Las muestras que han representado durante los últimos años los mejores análogos marcianos debido a las bajas concentraciones de materia orgánica han sido la Antártica #726 (Biemann et al., 1979) y Yungay Atacama (Navarro-González et al., 2003), pero en los estudios espectroscópicos se observaron varios grupos funcionales como cadenas alifáticas ($0.8\text{-}1.4$ ppm, 2956 , 2925 y 2854 cm^{-1}), carbonilos ($1.5\text{-}2.5$ ppm, 1722 y 1669 cm^{-1} [éster y amida respectivamente] para Atacama, $1,713$ cm^{-1} [éster] para la Antártica #726), hidroxilos (~ 3380 cm^{-1}) y policíclicos aromáticos ($7.8\text{-}8.0$ ppm) demostrando que la pirólisis realizada por los Vikingos en Marte pudo no cumplir con su objetivo (Figura 4.7. y Tabla 4.3).

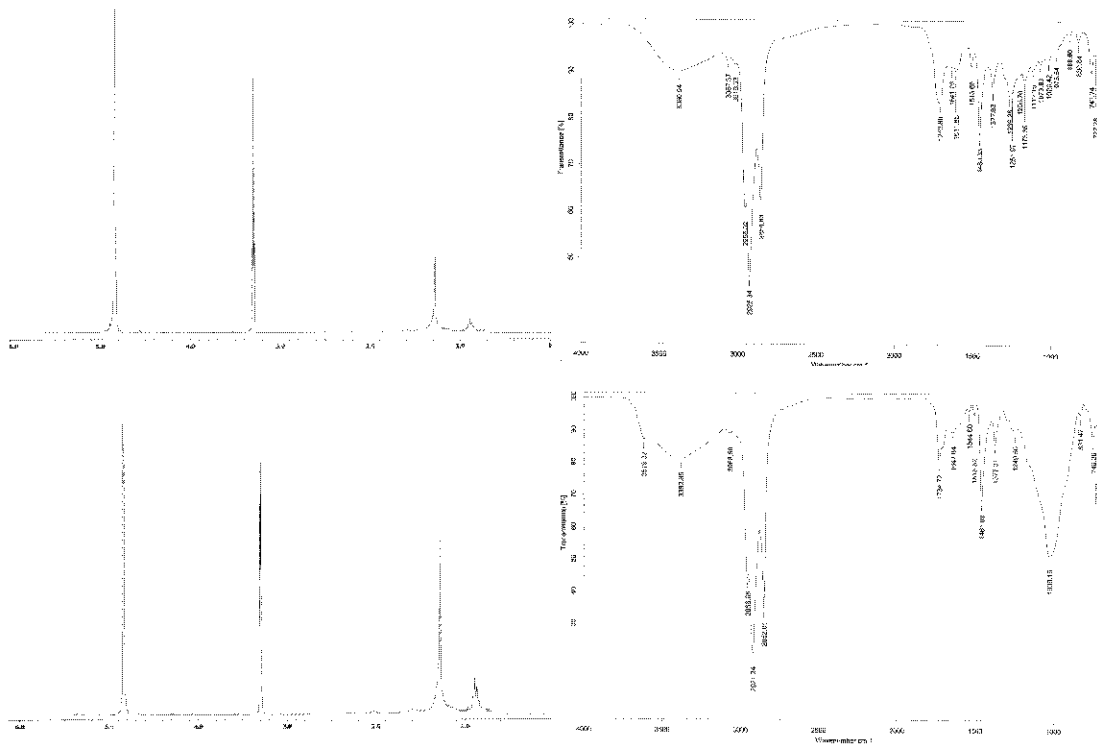


Figura 4.7. Espectros de ^1H RMN y IRTF para las muestras: (a) Antártica 726 y (b) desierto de Atacama Yungay.

Se evidencia que la resonancia puede detectar y caracterizar ultra trazas de compuestos lo que por simple pirólisis no fue posible, obteniéndose una posible explicación de los compuestos que dan origen a los compuestos en los pirogramas.

La presencia de policíclicos aromáticos en la muestra de la zona más árida de Atacama, como posible biomarcador, es un factor trascendental para marcar la guía de cómo deben ser los experimentos a realizarse en la superficie de Marte en la futura misión del 2009, que tiene como uno de sus objetivos la detección e identificación de moléculas que lleven al descubrimiento de vida presente o pasada en el planeta. Por lo anterior se sigue proponiendo al desierto de Atacama como el sitio idóneo para probar nuevas tecnologías y metodologías de análisis (Navarro-González et al 2003).

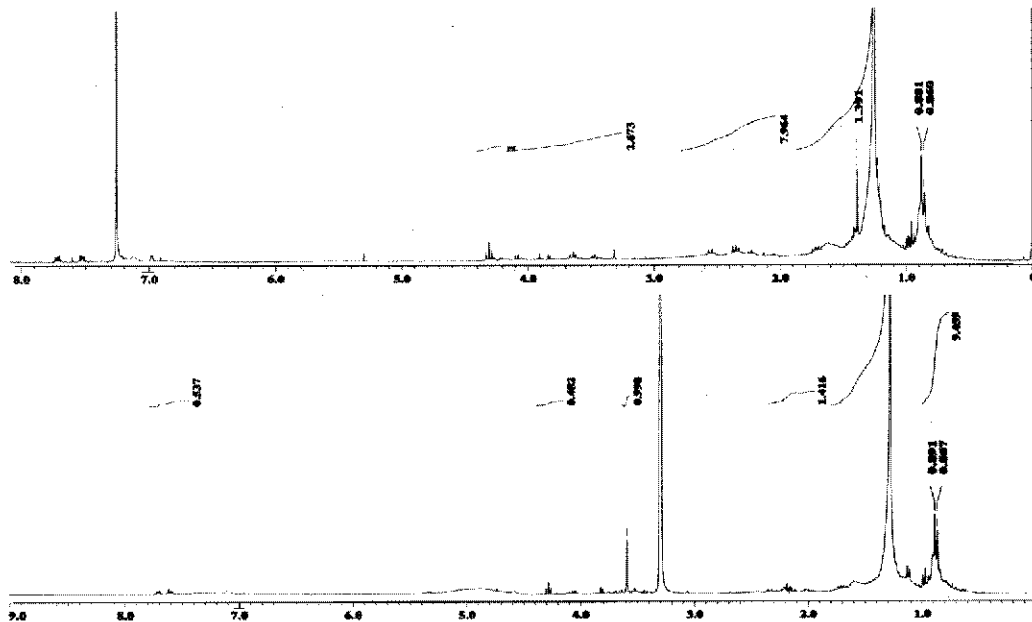


Figura 4.8. Espectros de resonancia protónica para muestras Yungay del desierto de Atacama adquiridas en diferentes disolventes: CD₃Cl (arriba) CD₃OD (abajo).

La reproducibilidad para los experimentos de extracción y análisis por resonancia e infrarrojo fue determinada utilizando la muestra Yungay de Atacama a la cual se le realizaron múltiples extracciones; la comparación entre los espectros obtenidos mostró las mismas señales para todos los casos. Adicionalmente se probó que no existió influencia del

disolvente en la adquisición de datos por parte del equipo de resonancia, ya sea utilizando metanol o cloroformo deuterados, por lo cual se pueden utilizar ambos disolventes en el análisis.

En muestras donde los minerales como la jarosita (río Tinto, sedimento y evaporita) y la palagonita (JSC Mars-1) descomponen una gran cantidad de la materia orgánica bajo el experimento de pirólisis, el estudio espectroscópico presenta que para ambos casos, la complejidad y cantidad de compuestos contenidos en la muestra es mucho mayor a las presentes en otros análogos (figura 4.9), siendo coherente para estas muestras que tienen un MOT alto, ya que provienen de sitios con gran cantidad y diversidad de microorganismos (De Lope y Sánchez, 2002).

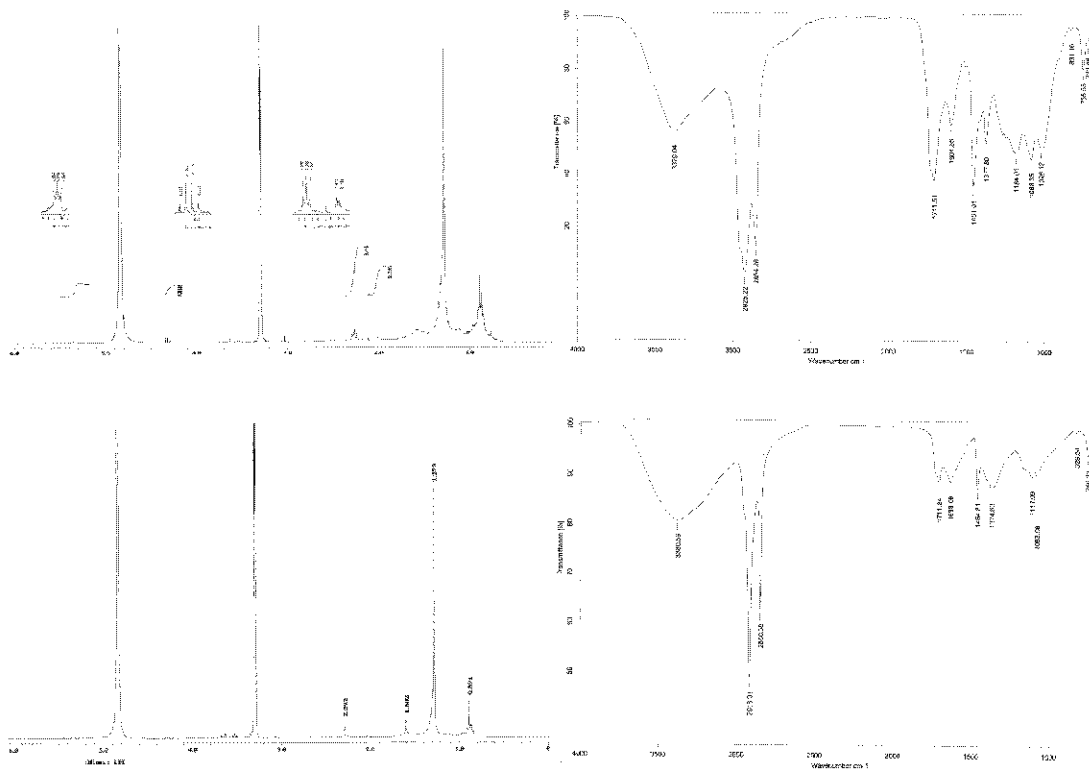


Figura 4.9. Espectros de ^1H RMN y IRTF para las muestras: río Tinto Sedimento (a), Simulante marciano (b).

En la interpretación de los espectros para estas muestras de igual manera se presentan cadenas alifáticas saturadas (0.8-1.4 ppm, 2925-2850 cm^{-1}), doble enlace terminal (5.3 ppm), carbonilos (1.5–2.5 ppm, 1711 cm^{-1} [éster]), metilenos vecinos a carbonilo de éster (2.6 ppm) metilenos vecinos a oxígeno (3.0-3.7 ppm y 3.2-3.7 hidroxilo, para JSC Mars-1) metilenos vecinos a un éster de ácido graso insaturado (3.6 ppm) (Figura 4.9 y Tabla 4.3).

La posible contaminación de las muestras por almacenamiento en bolsas de poliestireno fue descartada, ya que fueron sometidas a un proceso de extracción bajo las mismas condiciones y al experimento de resonancia, observándose que la degradación de la bolsa libera otros tipos de compuestos muy diferentes a los que detectamos en las muestras bajo el mismo experimento (anexo B.11).

En los espectros de ^1H RMN de estas muestras en particular la del desierto de Atacama (partiendo de 200 g de sedimento), se presentaron acoplamientos entre los protones en la región aromática (J de 5.7 Hz) para los multipletes entre 7.725-7.696 y 7.6331-7.589 ppms, que junto a las señales en 7.336–7.306 ppms, se aproximan a los desplazamientos de naftaleno sustituido (Pretsch et al., 1989).

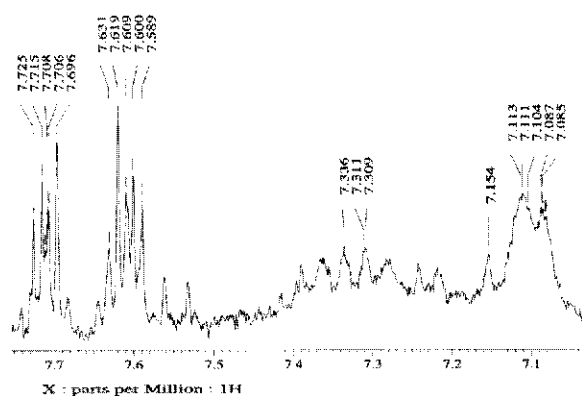


Figura 4.10. Acercamiento de la región de aromáticos para la muestra Yungay del desierto de Atacama.

Modelo de Oxidación

El proceso de oxidación presente para las muestras ricas en Fe^{+3} (Río Tinto, Panoche y JSC Mars-1) presenta un proceso activo de destrucción de la materia orgánica durante la pirólisis. Este mismo proceso debió ocurrirle a la sonda Vikingo durante sus análisis. Por lo anterior se evaluó el efecto de oxidación durante el proceso de pirólisis.

La temperatura de pirólisis mostró ser factor determinante en la oxidación, como se observa en la figura 4.11, donde cada aumento en la temperatura repercutió directamente en la cantidad de CO_2 producido. Este proceso, fue completamente indeseado, porque para liberar la materia orgánica que se encuentra incluida en la matriz mineral es necesario calentar la muestra a altas temperaturas (especialmente si es del tipo refractario, como complejos inorgánicos, ácidos húmicos, etc.).

El aumento en la producción de dióxido de carbono liberado por la muestra del río Tinto fue proporcional al incremento de la temperatura, casi alcanzando el 80% de la oxidación de la materia orgánica, por lo cual los compuestos observados por pirólisis representaría solo a la parte más refractaria de la MOT, perdiéndose valiosa información de los compuestos térmicamente lábiles.

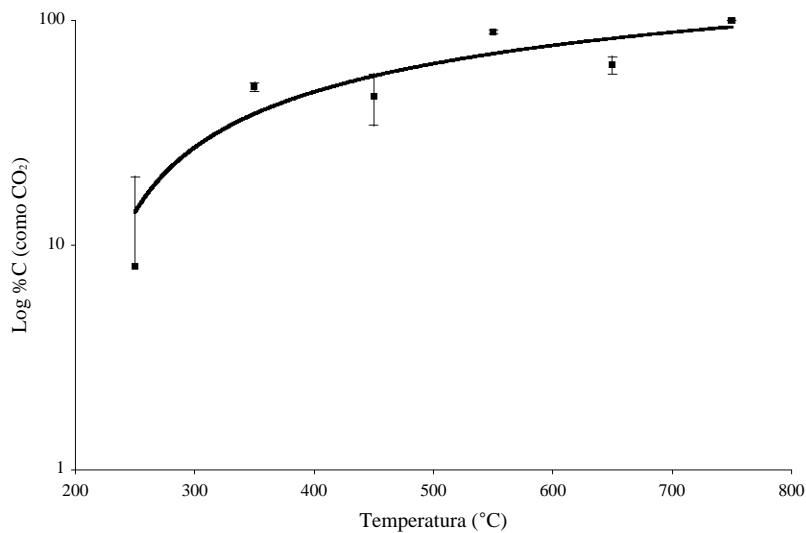


Figura 4.11. Producción pirolítica de dióxido de carbono en función de la temperatura en la muestra sedimento del río Tinto que contiene aproximadamente $1,200 \mu\text{g C g}^{-1}$.

Mediante la utilización de un modelo experimental y una simulación termodinámica se estimó la producción teórica de CO y CO₂ a partir de una cantidad constante ácido esteárico (0.1% en peso), a 750 °C, y una atmósfera de presión, donde el porcentaje de hierro III fue variado, desde el 99.9 al 0% ya fuese como óxido o sulfato. El gráfico obtenido se presenta en la figura 4.12.

El grafico obtenido corresponde a la producción máxima teórica de compuestos oxidados (a la suma de CO₂ y CO), representada por la línea continua, mientras que la línea discontinua representa la producción de CO₂. De lo anterior se observa que la producción de CO₂, llega a valores de oxidación de 80% en concentraciones mayores al 10% de la sal férrica, mientras que para concentraciones menores se encuentran por debajo de 10 % la oxidación se encuentra alrededor del 50%, si consideramos que el regolito marciano contiene un porcentaje mayor del 18 % de sales de Fe³⁺ (Allen, 1998).

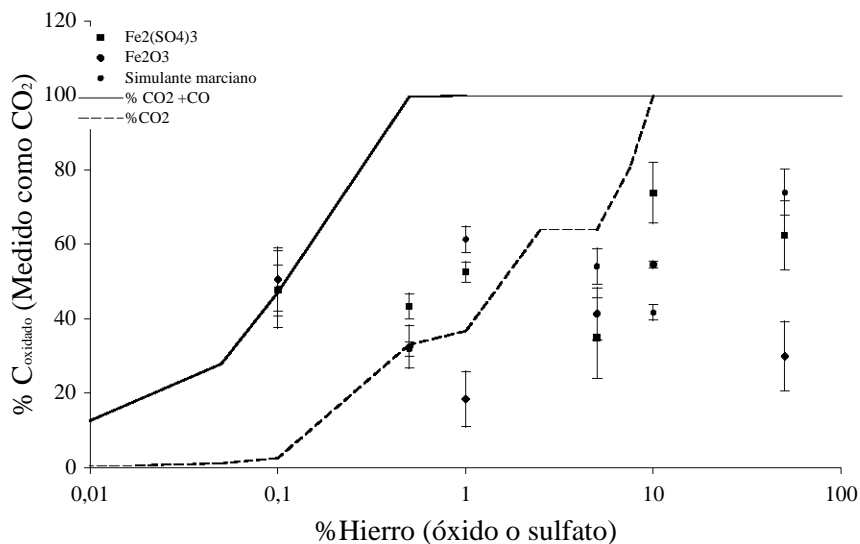


Figura 4.12. Modelo teórico oxidación del ácido esteárico en función de la concentración del Hierro.

Esto es notable e importante, ya que el Vikingo realizó sus experimentos bajo estas mismas condiciones de pirolisis, por lo que es muy posible que la materia orgánica en la superficie

de Marte no fuera detectada aun a pesar de estar presente en el orden de ppm, dándole una nueva oportunidad a los resultados de los experimentos biológicos del Vikingo.

La variabilidad de la mediciones de CO₂ se atribuyó al proceso de homogenización de las muestras, que aun a pesar del esfuerzo de homogenizar la muestra (el ácido esteárico, la sal férrica y la montmorillonita) por más de 15 minutos y en algunos casos 30 minutos, la concentración del ácido esteárico varió en cada una de ellas.

La pirolización a 750 °C del ácido esteárico dió como resultado la fragmentación de la cadena alifática en varios fragmentos desde C₄ hasta C₁₁, caracterizándose por los fragmentos mono insaturados, la producción de hidrocarburos aromáticos fue debida a la ciclización del tipo Diels-Alder (Wade et al., 1993) (Figura 4.13).

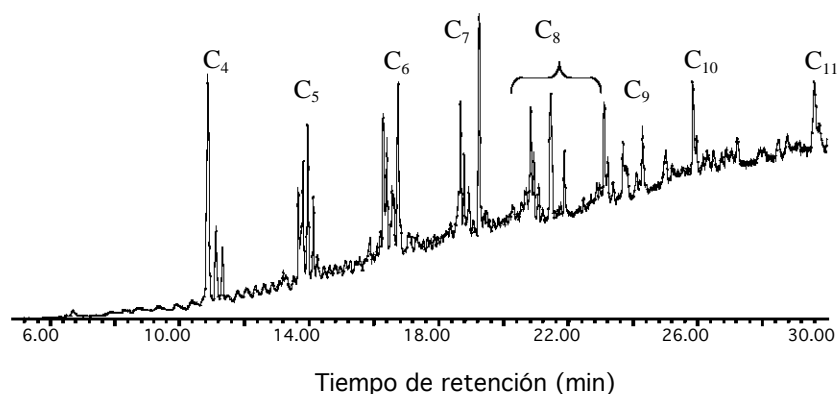


Figura 4.13. Pirograma del ácido esteárico sin matriz mineral a 750 °C

Los compuestos identificados en el pirograma de acuerdo con el numero de carbonos que contiene son el: 1,3 Butadieno, 2-Metil 1-Propeno y 2-Buteno (C4), 1-Penteno y 2-Penteno (C5) Ciclopenteno, 1-Hexeno, 2-Hexeno, 3-Metil Ciclopenteno y Benceno (C6), 2-Hepteno, 2-Hepteno y Metil Benceno (C7), 2-Octeno, Xileno y 1,3-Metil Benceno entre otros (C8), 1-Noneno, 1-Etil 3-Metil Benceno y 1-Propenil Benceno (C9). Los compuestos que se contienen en C10 y C11 son mezclas de isómeros que no son resueltos por el método cromatográfico.

La respuesta del equipo a la volatilización de los compuestos generados por pirólisis sobre una matriz que contenga hierro III, fue evaluada mediante pirolización de mezclas de ácido esteárico (50, 10, 5, 1, 0.5 y 0.1 mg C g⁻¹) en simulante marciano, sin materia orgánica excluida por extracción Soxhlet exhaustiva y corroborado por Pi-CG/EM. El resultado se puede apreciar en la figura 4.14.

Se observó que a partir de 0.5 mg C g⁻¹ de materia orgánica, que es similar a las cantidades encontradas en las muestras de la Antártica (10-90 μg g⁻¹), la información proporcionada por el equipo no permitiría identificar el precursor de esos fragmentos, apenas distinguiéndose un par de compuestos a niveles de trazas.

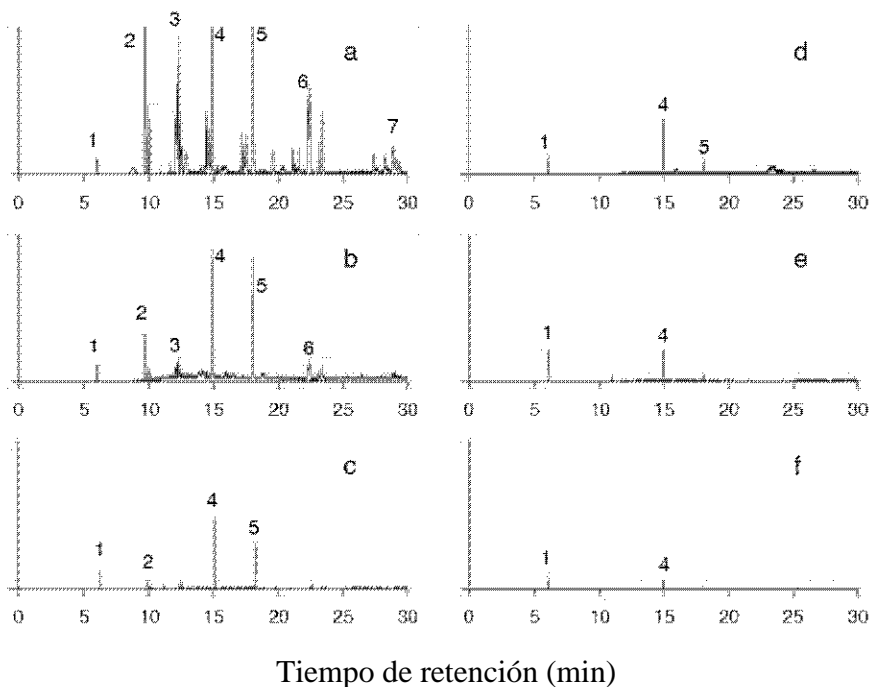


Figura 4.14. Pirogramas de las principales fracciones volátiles liberados por pirólisis a 750 °C de ácido esteárico en el simulante marciano: 50 mg C g⁻¹ (a), 10 mg C g⁻¹ (b), 5 mg C g⁻¹ (c), 1 mg C g⁻¹ (d), 0.5 mg C g⁻¹ (e) y 0.1 mg C g⁻¹ (f). Identificación de compuestos: Ácido fórmico (1), 1-Buteno (2), 2-Penteno (3), Benceno (4), Metil Benceno (5), Etil Benceno (6) y Etil Metil Benceno (7).

El número de compuestos identificables en los pirogramas del experimento anterior aumenta exponencialmente al incrementar la cantidad de materia orgánica pirolizada. Lo

anterior es observado en la figura 4.15, donde son identificados y contabilizados los compuestos producidos por la pirólisis de las muestras mostradas en la figura 4.14.

El comportamiento de la materia orgánica sobre sustratos que contengan Fe^{+3} por encima del 10 % se vio que fue fuertemente afectada por la oxidación, en muestras donde la concentración fue menor de 1 mg C g^{-1} de sedimento, la información obtenida no reflejó lo que en realidad era la identidad ni las características estructurales del compuesto que podrían contener, ni siquiera para este caso del ácido esteárico, un ácido graso simple de cadena larga (C18).

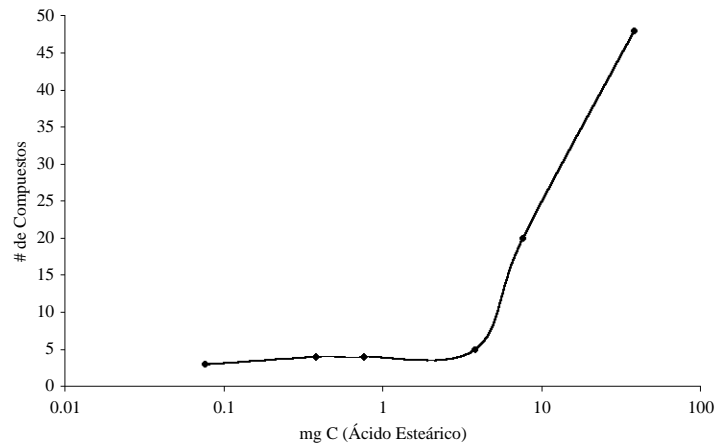


Figura 4.15. Número de compuestos volatilizados en función del porcentaje de ácido esteárico contenido en la matriz del simulante marciano.

El comportamiento de dos sales férricas (óxido férrico y sulfato férrico) fue evaluado para el proceso de fragmentación del ácido esteárico con el objetivo de verificar si ambas sales producen compuestos similares al ser pirolizadas, las mezclas evaluadas contenían 38 mg C sobre las sales exentas de materia orgánica (400 °C, durante 12 horas), las muestras fueron pirolizadas de forma convencional, los resultados se presentan en las figuras 4.16 y 4.17.

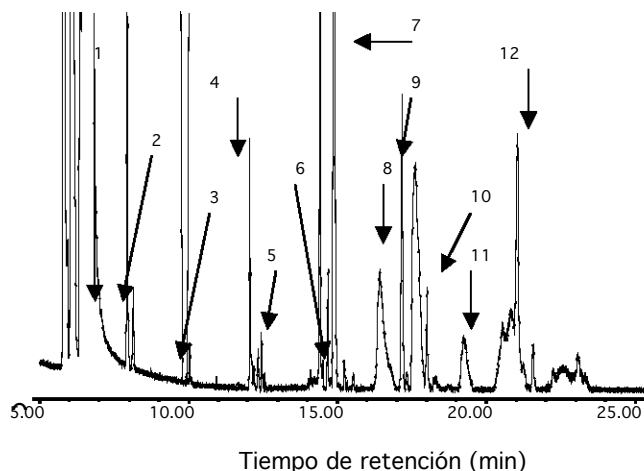


Figura 4.16. (5% Ácido esteárico y 95% Fe_2O_3) Identificación de los compuestos: 1- Propeno (1), Acetaldehído (2), 1,3-Butadieno (3), 1-Penteno (4), Ciclopenteno (5), 1-Hexeno (6), 2-Hexeno (7), 1-Octanal (8), Benceno (9), 1,1-Dimetil Ciclopentano(10), 3,4-Dimetil-1-Penteno (11) e Isopropil Ciclo Butano (12).

La principal diferencia apreciable en ambas sales fue la formación de ciclos de cuatro y cinco miembros por el oxido férrico, con mayor grado de ramificación, mientras que el sulfato férrico produjo cadenas abiertas con una sola instauración. En contraste el oxido férrico provocó la mayor fragmentación del ácido esteárico que posteriormente fueron oxidados a ácido fórmico.

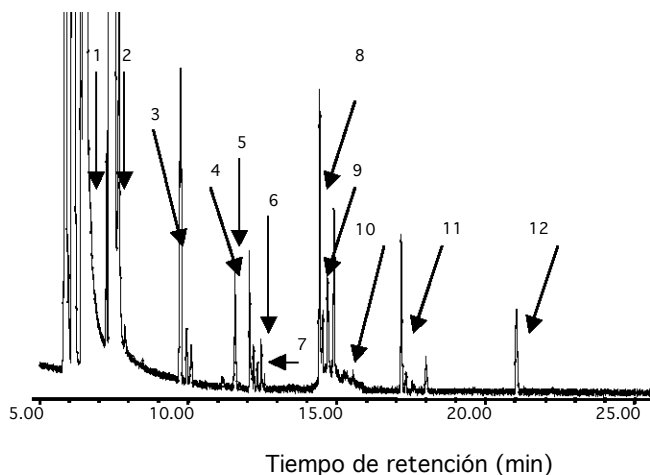


Figura 4.17. (5% Ácido esteárico y 95% $Fe_3(SO_4)_2$) Identificación de los compuestos: Dióxido de Azufre (1), 1,3-Butadieno (2), 1-Buteno (3), Tiourea (4), 1-Penteno (5), 2-Penteno (6), Ciclopentano (7), 1-Hexeno (8), 2-Hexeno (9), Benceno (10), 1-Hepteno (11) y 1-Octeno (12)

Cálculo de la cantidad de hidrógeno para impedir la oxidación para el caso de los experimentos del Vikingo

Durante los últimos experimentos de pirólisis realizados por el Vikingo 2, se tomó en cuenta que un proceso oxidativo podría estar sucediendo en la cámara de pirólisis, por lo que se tomó la decisión de cambiar de dióxido de carbono a hidrógeno utilizado por el cromatógrafo, la atmósfera de cámara de calentamiento, ésto con la finalidad de reducir o impedir la oxidación. Los resultados obtenidos por este cambio en la metodología fueron los mismos, reafirmando la posición que no existe materia orgánica en concentraciones de ppms en la superficie del planeta.

Para evaluar el efecto reductor que tendría el hidrógeno en la protección de los compuestos orgánicos durante el experimento de pirólisis, realizado por el Vikingo 2, se consideró que la oxidación se realiza en la superficie del mineral de hierro por lo que se plantearon las siguientes condiciones: Una superficie plana de la sal férrica con un área de $100 \mu\text{m}^2$ ($1 \times 10^{-8} \text{ m}^2$), la cual es idealmente recubierta uniformemente por una monocapa de ácido esteárico, la cual es cubierta por una cantidad de moles de hidrógeno contenida en un volumen diez veces mayor al ocupado por el ácido esteárico como se observa en la figura 4.18 y la temperatura de sistema es de $500 \text{ }^\circ\text{C}$, Donde se evaluó la producción de compuestos oxidados (CO_2 y CO) en función de la cantidad de moléculas de hidrógeno (medidas en atmósferas).

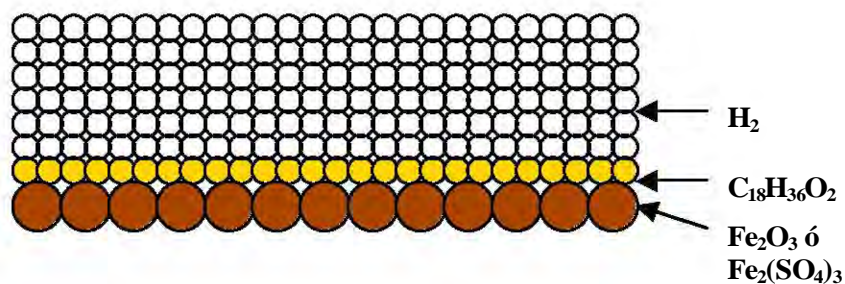


Figura 4.18 Corte transversal del sistema planteado para la evaluación del efecto reductor del hidrógeno en el proceso pirolítico, empleado en los experimentos del Vikingo 2.

Los cálculos fueron los siguientes:

Se calculó el número de moléculas de óxido férrico en un área de $100 \mu\text{m}^2$.

$$1 \text{ mlc} \left(\frac{1 \text{ mol}}{6.023 \times 10^{23} \text{ mlc}} \right) \left(\frac{159.69 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{1 \text{ cm}^3}{5.24 \text{ g}} \right) \left(\frac{1 \text{ m}^3}{1 \times 10^6 \text{ cm}^3} \right) = 5.06 \times 10^{-29} \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen(esfera)} = \frac{4}{3} \pi r^3 \quad r = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}}$$

$$\text{Área} = \pi r^2$$

$$\text{Área} = 1.654 \times 10^{-19} \text{ m}^2$$

$$\text{Para una área de } (100 \mu\text{m})^2 = 1 \times 10^{-8} \text{ m}^2$$

$$1 \text{ mlc} \left(\frac{1 \times 10^{-8} \text{ m}^2}{1.654 \times 10^{-19} \text{ m}^2} \right) = 6.046 \times 10^{10} \text{ mlc}$$

Se calculó el número de moléculas de ácido esteárico en un área de $100 \mu\text{m}^2$.

$$1 \text{ mlc} \left(\frac{1 \text{ mol}}{6.023 \times 10^{23} \text{ mlc}} \right) \left(\frac{284.48 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{1 \text{ cm}^3}{0.94 \text{ g}} \right) \left(\frac{1 \text{ m}^3}{1 \times 10^6 \text{ cm}^3} \right) = 4.389 \times 10^{-28} \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen(esfera)} = \frac{4}{3} \pi r^3 \quad r = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}}$$

$$\text{Área} = \pi r^2$$

$$\text{Área} = 6.9828 \times 10^{-19} \text{ m}^2$$

$$\text{Para una área de } (100 \mu\text{m})^2 = 1 \times 10^{-8} \text{ m}^2$$

$$1 \text{ mlc} \left(\frac{1 \times 10^{-8} \text{ m}^2}{6.09828 \times 10^{-19} \text{ m}^2} \right) = 1.432 \times 10^{10} \text{ mlc}$$

El volumen del hidrógeno fue diez veces el de ácido esteárico de donde se deriva:

$$\text{Altura del capa es } 2 \times r_{\text{Ac. Esteárico}} \times 10 = 2.294 \times 10^{-10} \text{ m}$$

$$1 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \times 2.294 \times 10^{-10} \text{ m} = 2.294 \times 10^{-18} \text{ m}^3 = 2.294 \times 10^{-15} \text{ L}$$

Por lo que la cantidad de moléculas contenidas en 0.5 atmósferas es.

$$PV = nRT \quad n = \frac{PV}{RT}$$

$$n = \frac{(0.5 \text{ atm})(2.294 \times 10^{-15} \text{ L})}{\left(0.082 \left(\frac{\text{L Atm}}{\text{mol K}}\right)\right)(288 \text{ K})} = 4.850 \times 10^{-17} \text{ mol}$$

$$4.858 \times 10^{-17} \text{ mol} \left(\frac{6.023 \times 10^{23} \text{ mlc}}{1 \text{ mol}} \right) = 2.9255 \times 10^7 \text{ mlc H}$$

Donde:

A = Área

r = Radio de la circunferencia

P = Presión (Atmósferas)

V = Volumen (Litros)

R = Constante de los gases ideales (0.082 L Atm mol⁻¹ K⁻¹)

T = Temperatura (25 °C)

Tabla 4.4. Proporciones de los componentes del modelo de oxidación de una monocapa de óxido férrico, ácido esteárico e hidrógeno

Compuesto (Elemento)	Moles	Masa (g)	%
Fe ₂ O ₃ (Fe)	1.00x10 ⁻¹³	1.596x10 ⁻¹¹	24.59
Ac. Esteárico (C)	2.37x10 ⁻¹⁴	6.742x10 ⁻¹²	22.56
H ₂ (H)	9.71x10 ⁻¹⁷	9.79x10 ⁻¹⁷	4.31x10 ⁻⁴

Determinados los moles de las sustancias involucradas en el modelo, se introdujeron al programa termodinámico en donde se varió la presión del sistema desde 0 a 100 atm, determinando la cantidad de los compuestos oxidados generados (CO₂ y CO) junto a los reducidos representados por el CH₄. El resultado del modelo se observa en la figura 4.19 donde el aumento de la presión del hidrógeno en la cámara de pirolización condujo a la disminución de la oxidación.

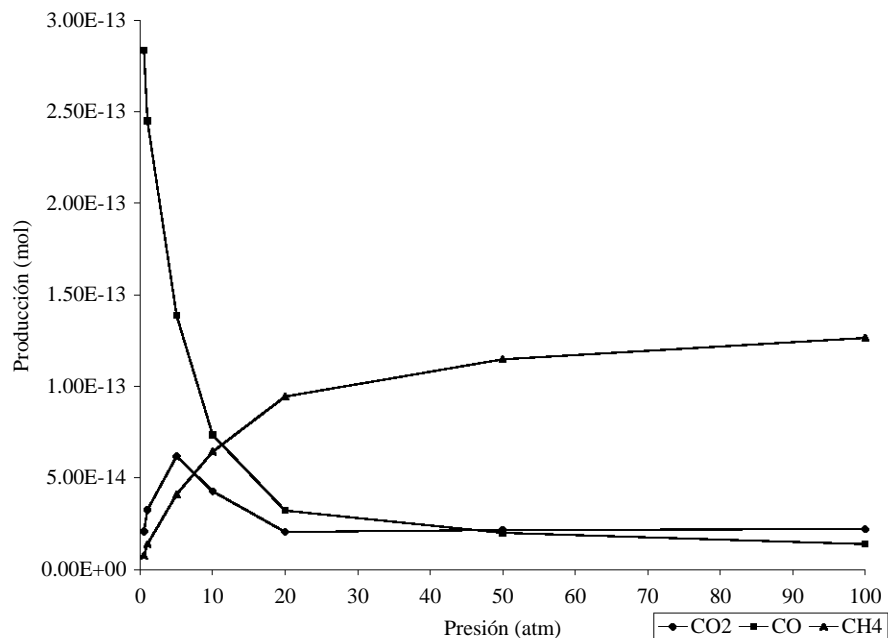


Figura 4.19. Modelo termodinámico de oxidación respecto al incremento en la presión de hidrógeno en la cámara de pirólisis.

El proceso de oxidación es disminuido considerablemente desde 10 atmósferas, donde se esperaba ver compuestos reducidos en los pirogramas, pero este valor es muy grande respecto a lo que la sonda Vikingo pudiera haber logrado en sus cámaras de pirólisis, lo cual confirma que el experimento de pirólisis empleado en la época de los setentas, no era capaz de detectar compuestos por debajo de 1 mg C g^{-1} de materia orgánica.

5. CONCLUSIONES

La utilización de análogos terrestres a Marte nos permiten evaluar los experimentos en condiciones mas aproximadas a condiciones imperantes en el planeta, en las cuales han de ser empleados, previendo con ello las posibles limitaciones e interferencias que los métodos puedan presentar.

La pirólisis analítica para la detección, cuantificación e identificación de materia orgánica presente o pasada en Marte, es posible en concentraciones superiores al 1mg C g^{-1} de sedimento, pero puede ser afectada gravemente por procesos oxidativos, lo cual disminuye la sensibilidad y información sobre los compuestos orgánicos que posee la muestra.

La metilación pirolítica en línea para sedimentos de baja concentración de materia orgánica no resulta funcional, ya que no se detectan los productos metilados, y se dificulta la interpretación de los pirogramas por la introducción de compuestos procedentes provenientes del reactivo.

Un proceso de extracción y preconcentración es deseable para los suelos tipo marcianos, ya que permite el análisis de las muestras sin los efectos de la falta de volatilización, dilución o descomposición de los analitos sobre la matriz que los contiene, durante un proceso pirolítico.

La inyección de los extractos orgánicos de sedimentos por volatilización pirolítica puede ser empleada, pero se sugiere una inyección directa en el cromatógrafo en un puerto de inyección de control programado de temperatura en forma splitless.

La información espectroscópica proporcionada por resonancia magnética de protón e infrarrojo es de gran importancia ya que proporcionan información estructural, de que clase de compuestos se conforman las muestras analizadas, para ser comparada con otras técnicas de identificación o caracterización orgánica como es la espectrometría de masas, que fue empleada por las misiones espaciales con este fin.

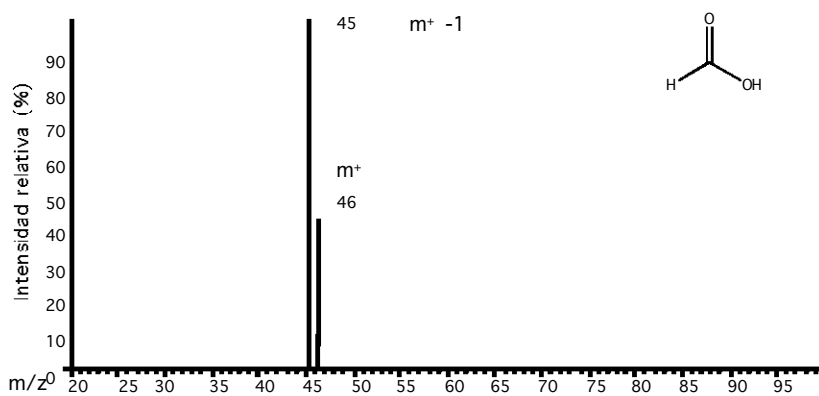
La presencia de minerales férricos en la determinación de materia orgánica por Pi-CG/EM provoca la oxidación de la misma, donde a partir de concentraciones del 10% en peso, provocan la descomposición de hasta del 80% de la materia orgánica, siendo factor que se tiene que minimizar ya sea por remoción de los compuestos orgánicos por un método de extracción, o la introducción de agentes reductores que disminuyan este efecto.

Los resultados de los experimentos pirolíticos en búsqueda de materia orgánica obtenidos por los Vikingos en la época de los setenta, deben de ser reevaluados debido a que la combinación de factores como la baja concentración de materia orgánica, una temperatura de volatilización baja y la presencia de un agente oxidante en las muestras, pudieron ser la causa que el equipo no detectara nada, aun a pesar del estar presente en la superficie Marte.

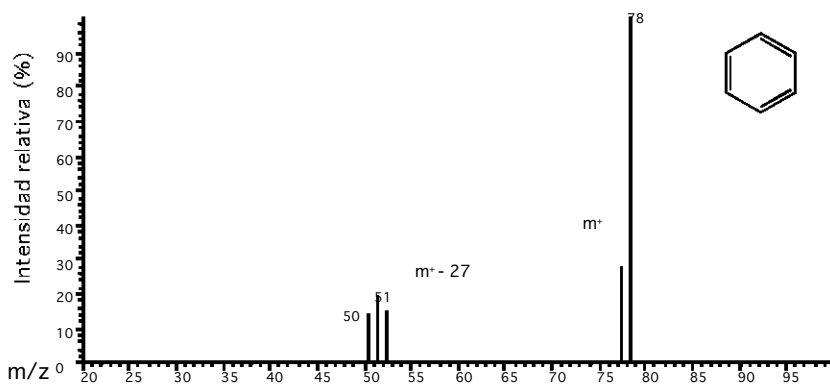
Para la futura misión a Marte se requiere que se lleven otras técnicas analíticas además de Pi-CG/EM, debe llevar técnicas de preconcentración como extracción con fluidos supercríticos y equipos de identificación espectroscópica que permitan alcanzar la detección y caracterización de ultra-trazas de materia orgánica en la superficie de Marte.

ANEXO A Espectrometría de Masas

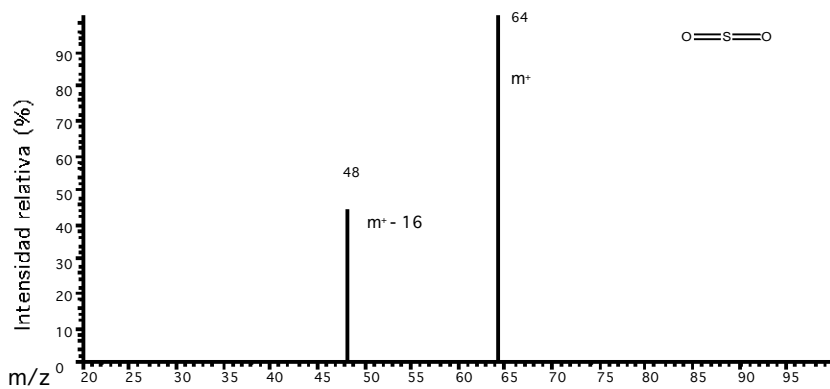
Espectros de masas de los principales compuestos identificados en los pirogramas de los sedimentos, obtenidos mediante impacto electrónico a 70 eV.



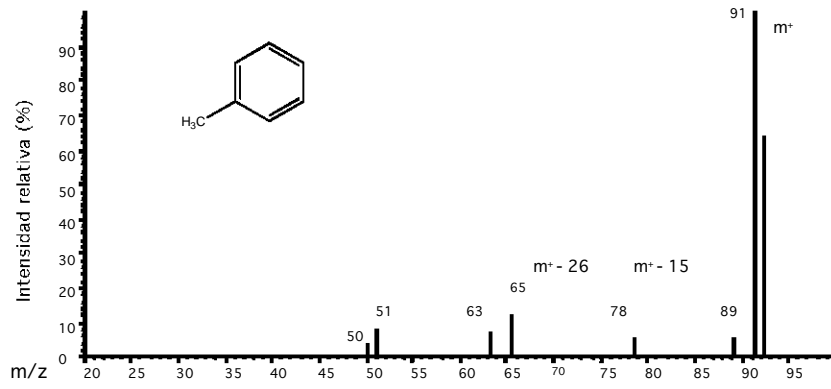
Ácido Fórmico



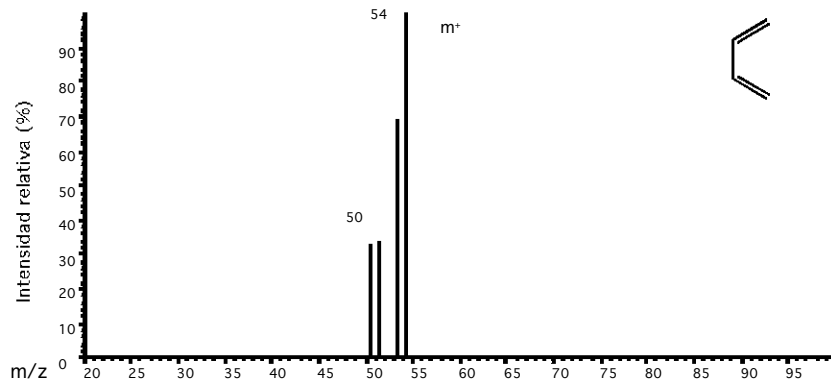
Benceno



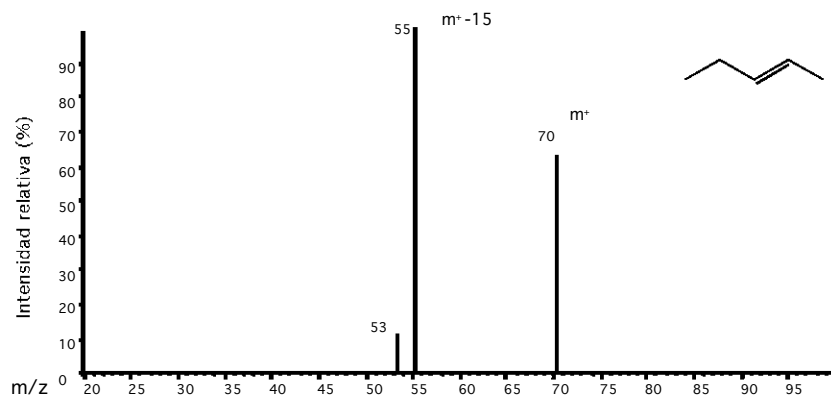
Dióxido de azufre



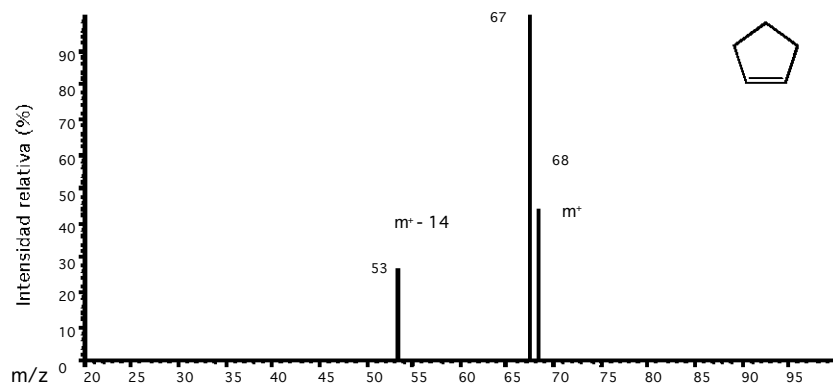
Metil benceno



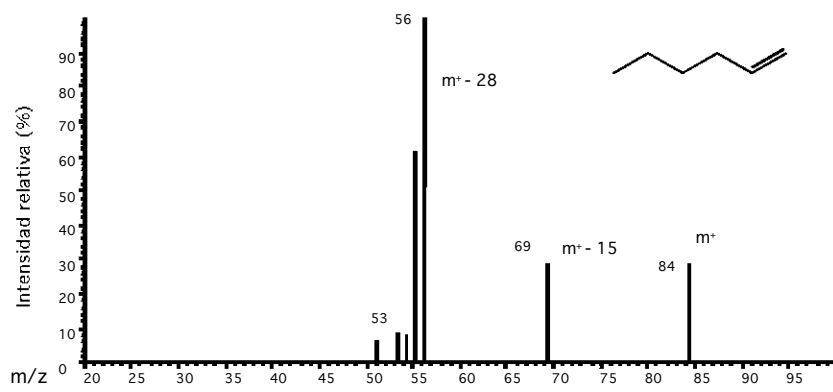
1,3-Butadieno



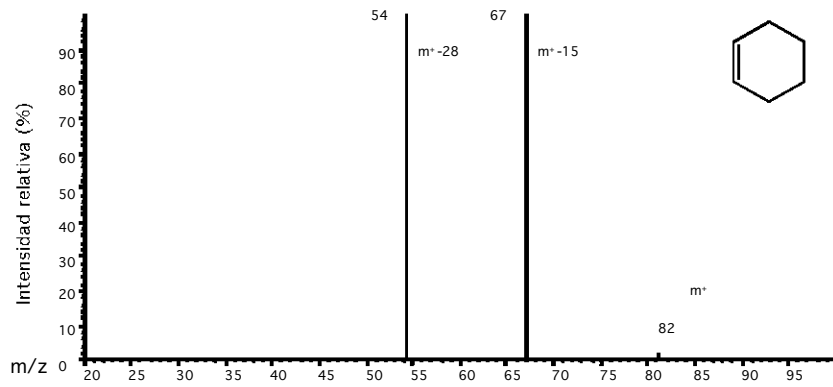
2-Penteno



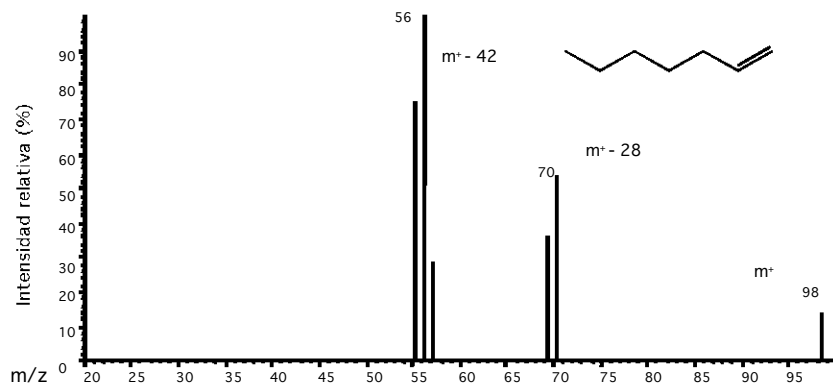
Ciclopenteno



1-Hexeno



Ciclohexeno



1-Hepteno

Anexo B

Espectros de resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN) e infrarrojo con transformada de Fourier (IRFT) de la materia orgánica obtenida mediante extracción Soxhlet

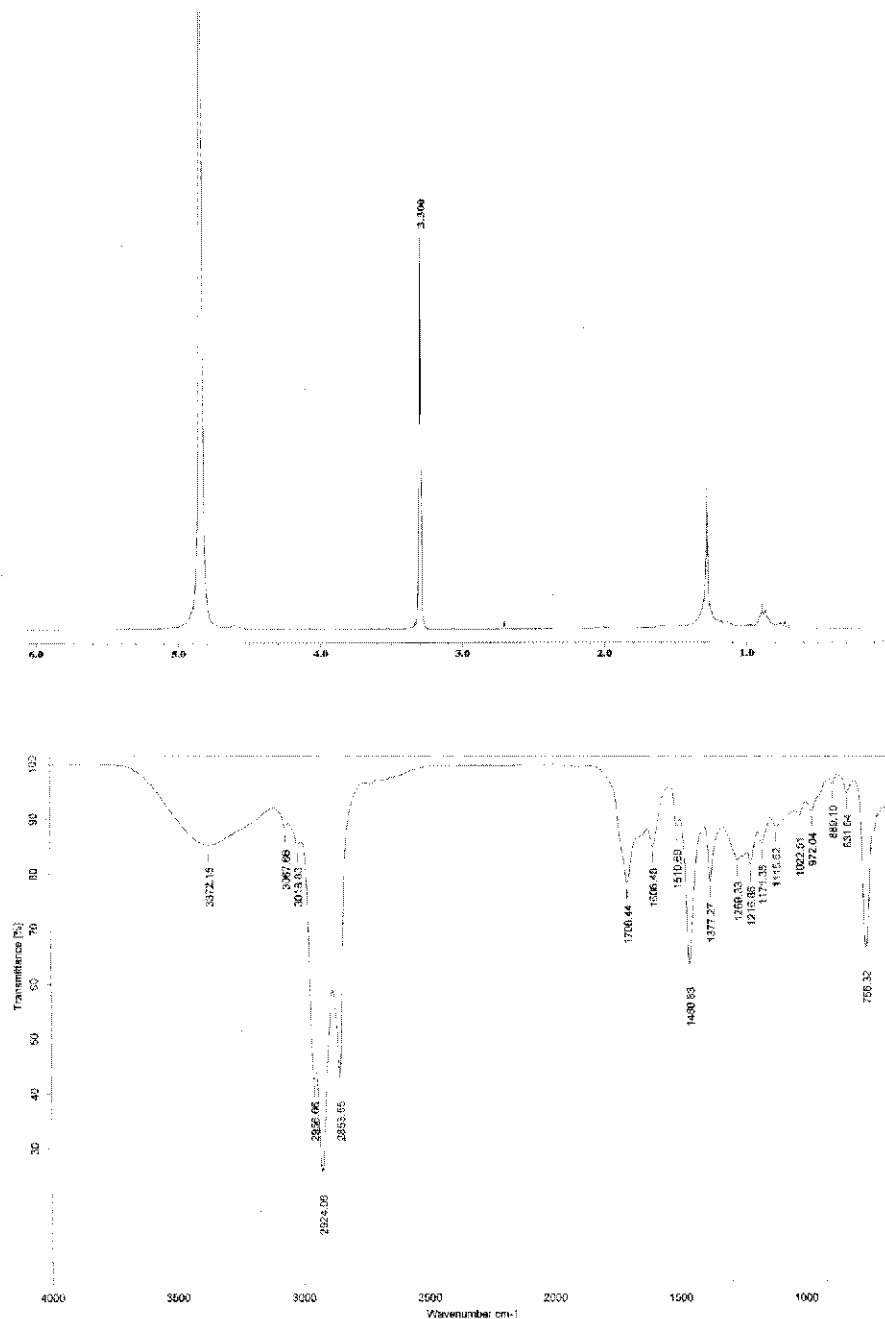


Figura B.1 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra de los valles secos de la antártica.

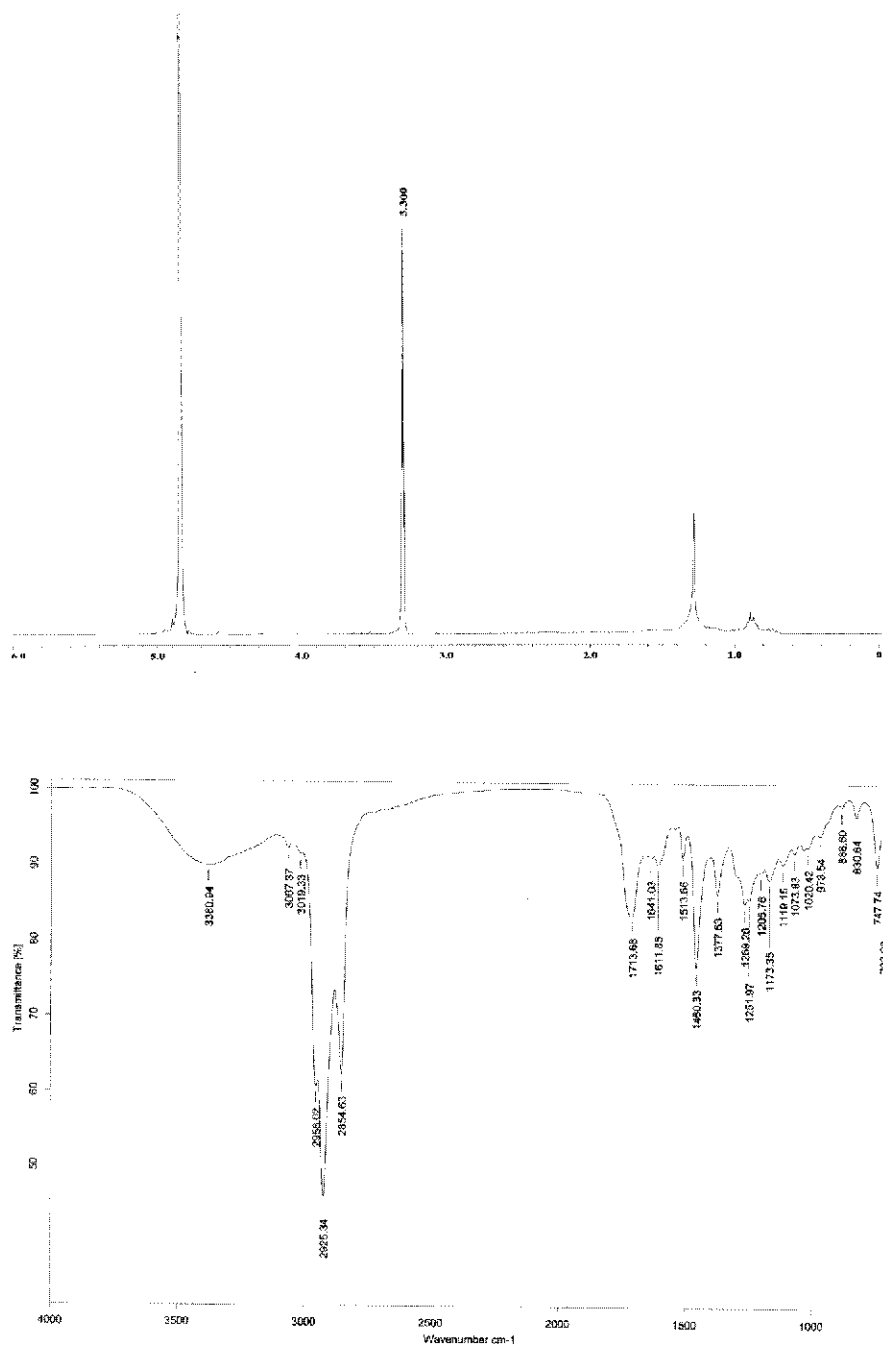


Figura B.2 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra de la antártica #726.

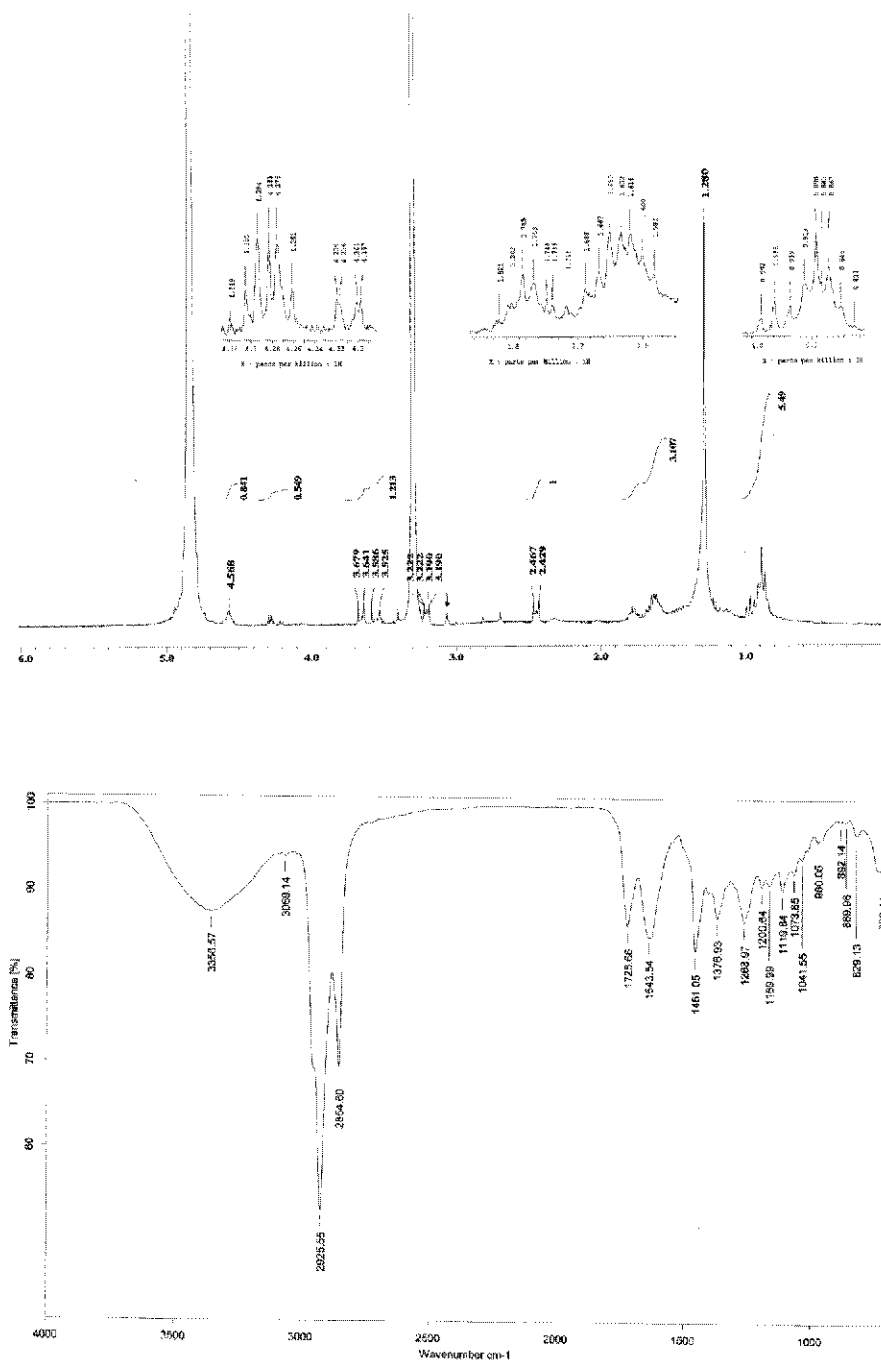


Figura B.3 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra del glaciar Otway de la antártica.

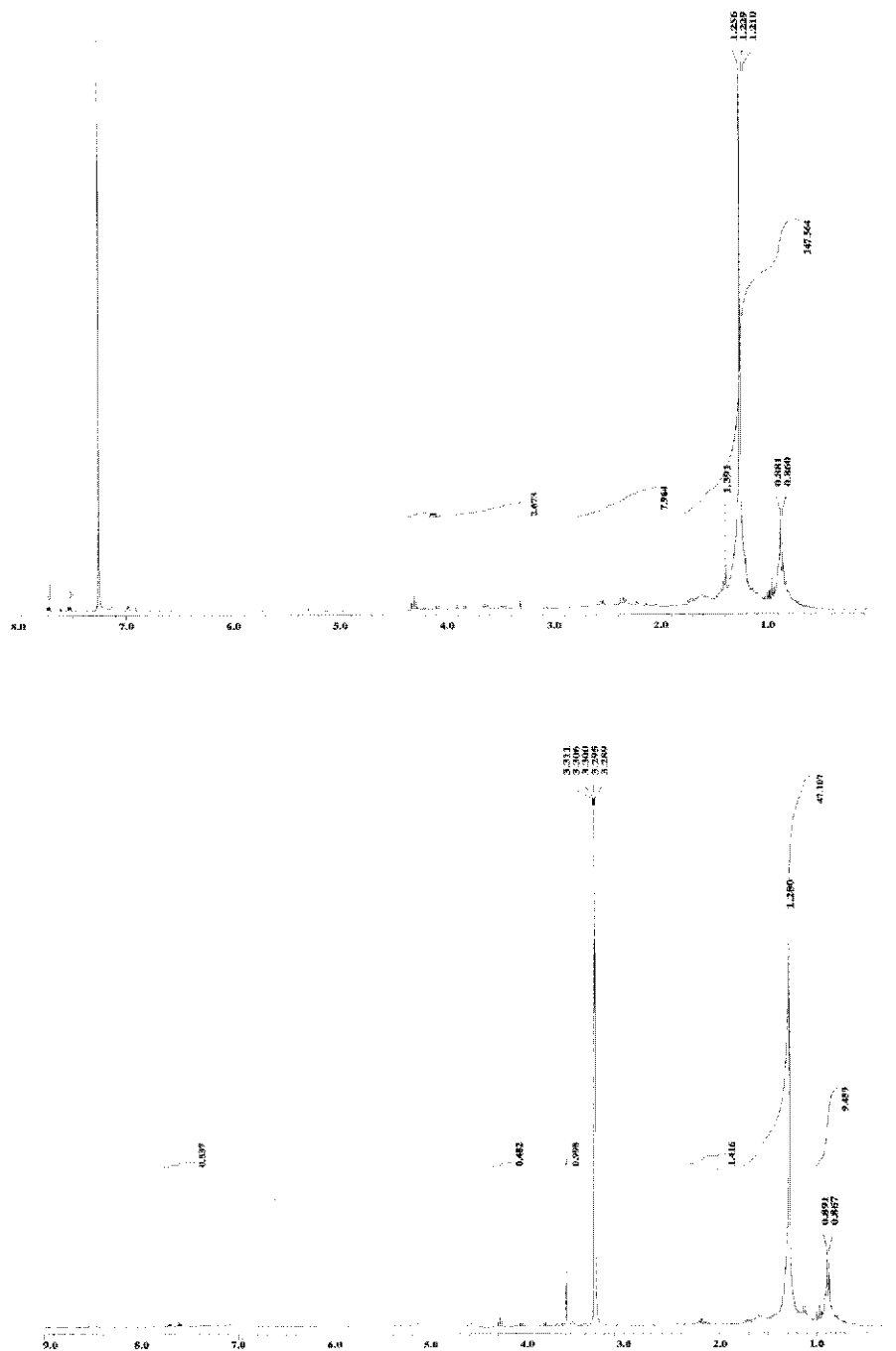


Figura B.4 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra del desierto de Atacama en la muestra Yungay en cloroformo (arriba) y metanol (abajo) deuterados.

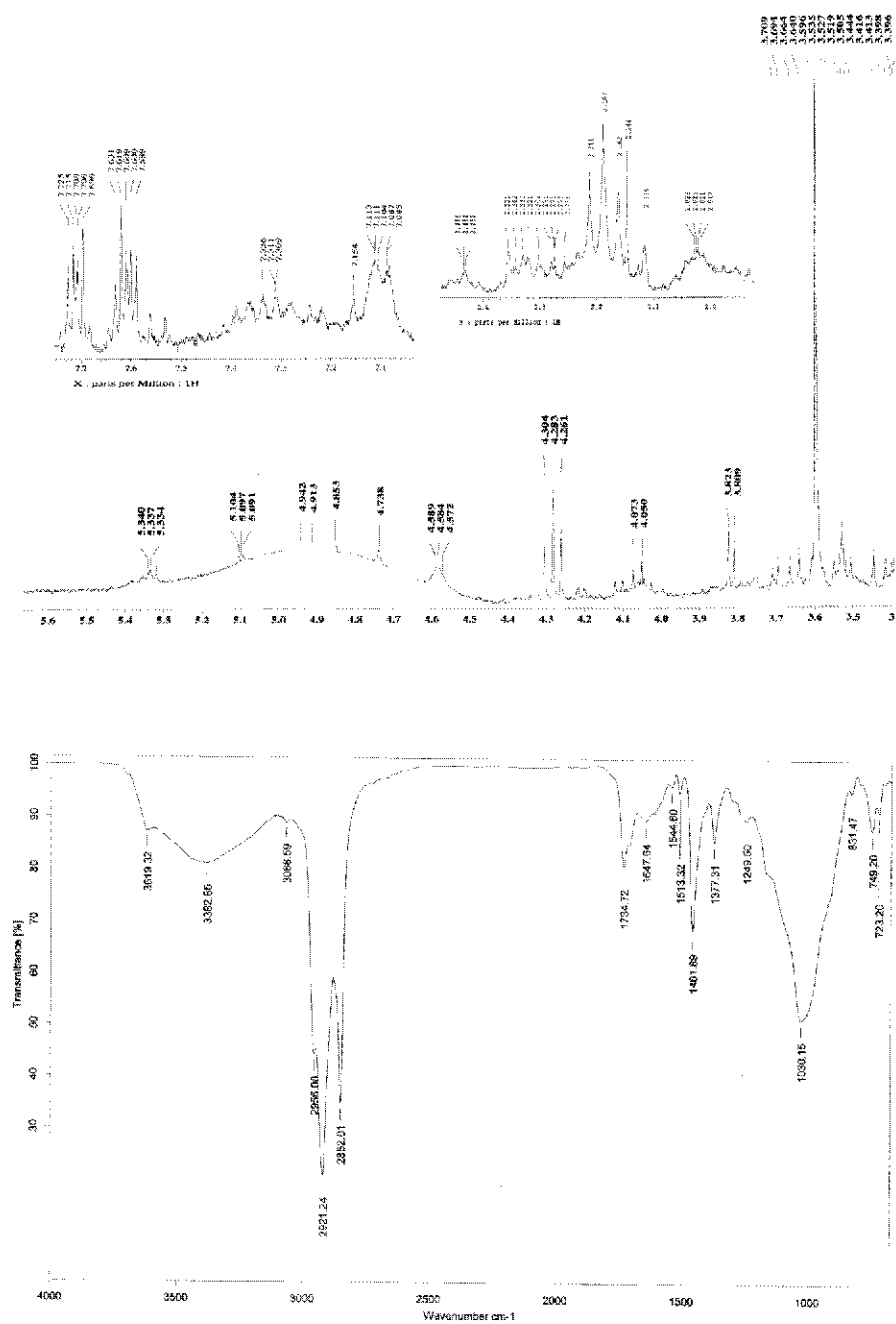


Figura B.5 Ampliación del espectro de resonancia magnética nuclear protónica en metanol y espectro de infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra Yungay del desierto de Atacama.

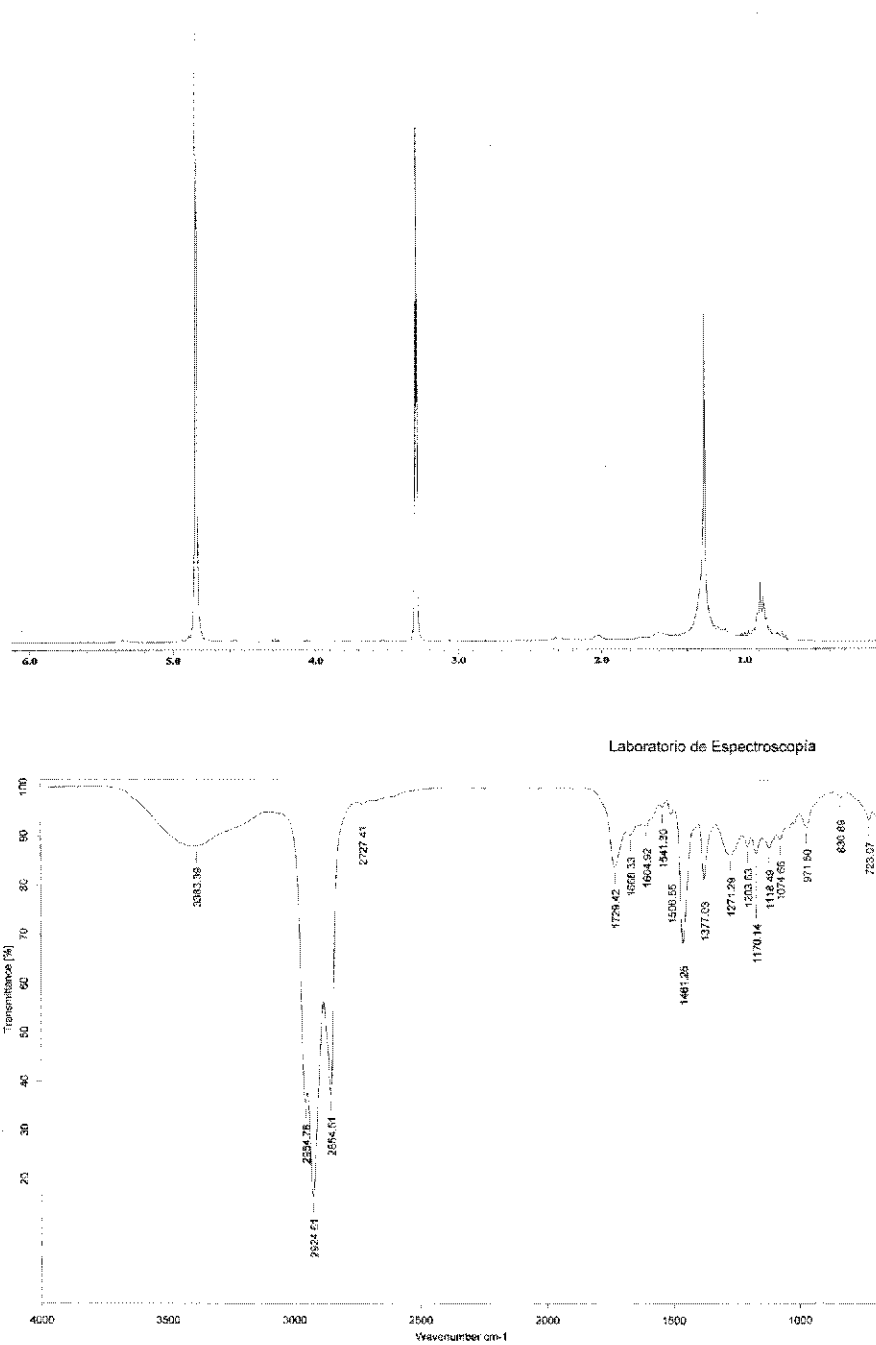


Figura B.6 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra Viñedos del desierto de Atacama.

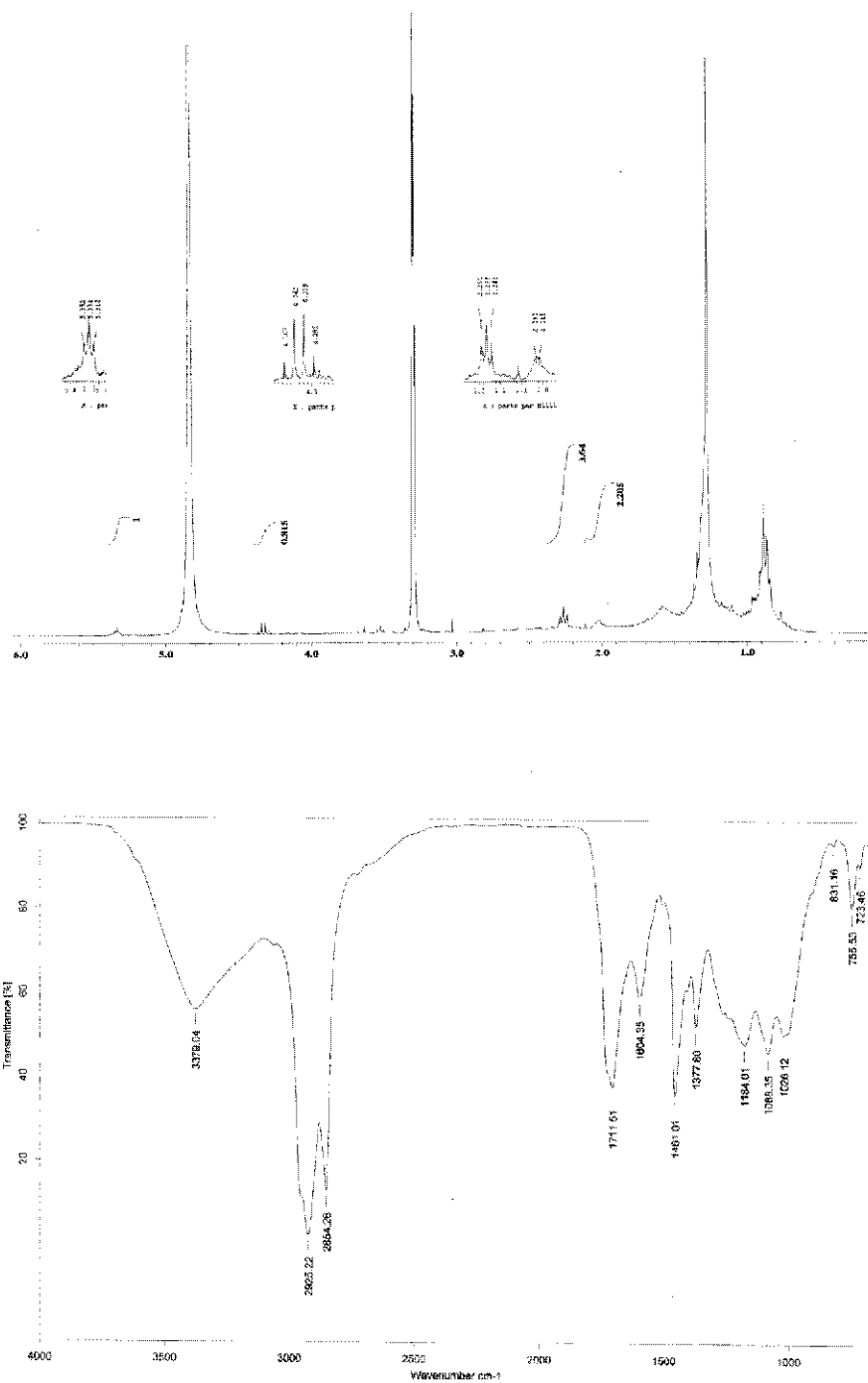


Figura B.7 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra de sedimentos del río Tinto.

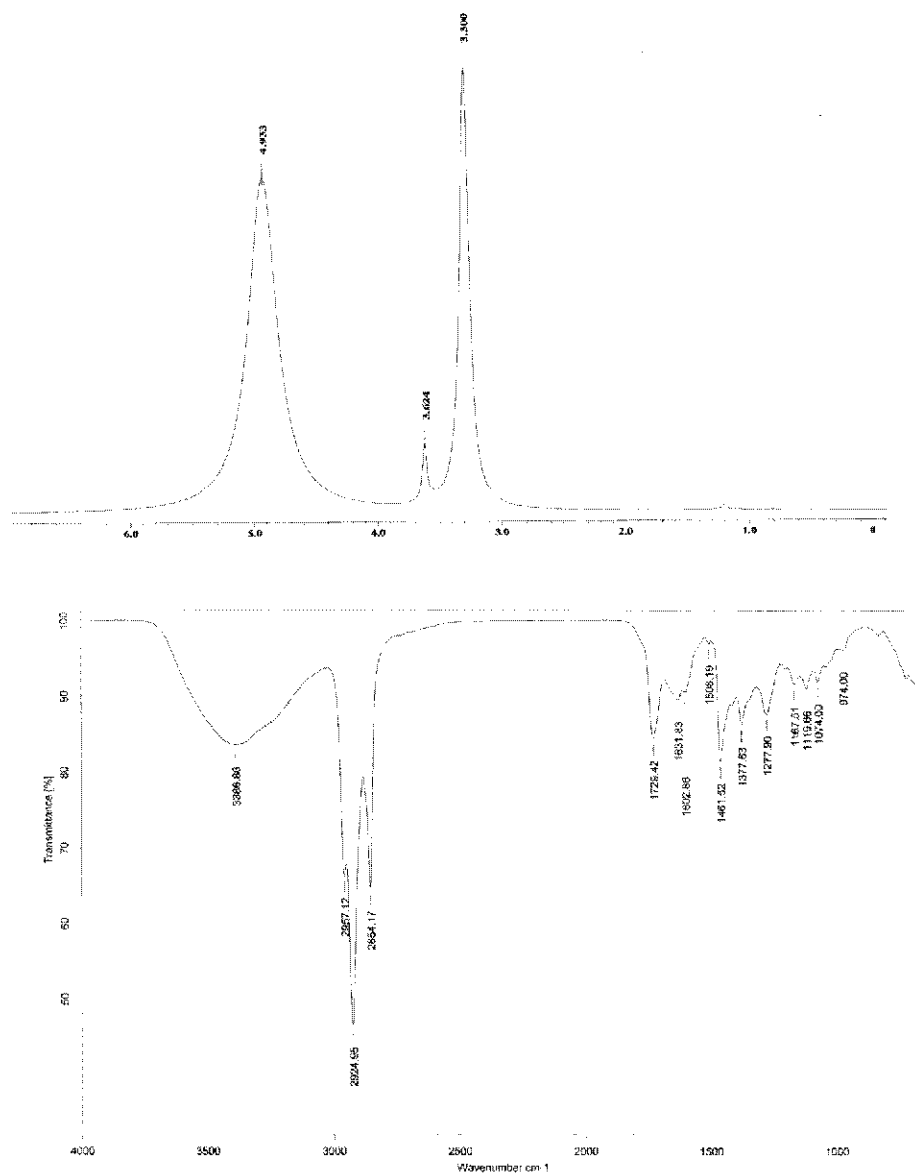


Figura B.8 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra de la evaporita del río Tinto.

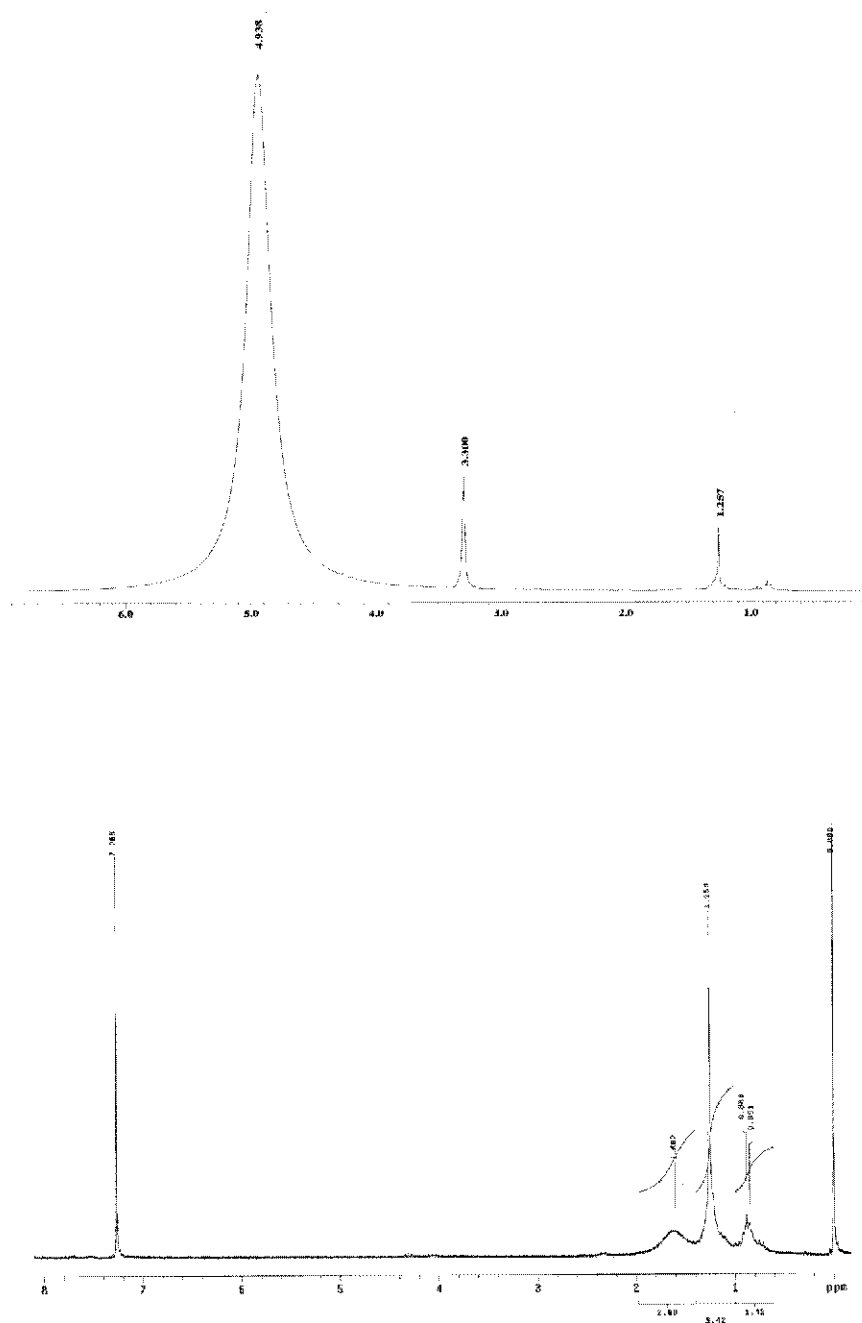


Figura B.9 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra del valle de Panoche.

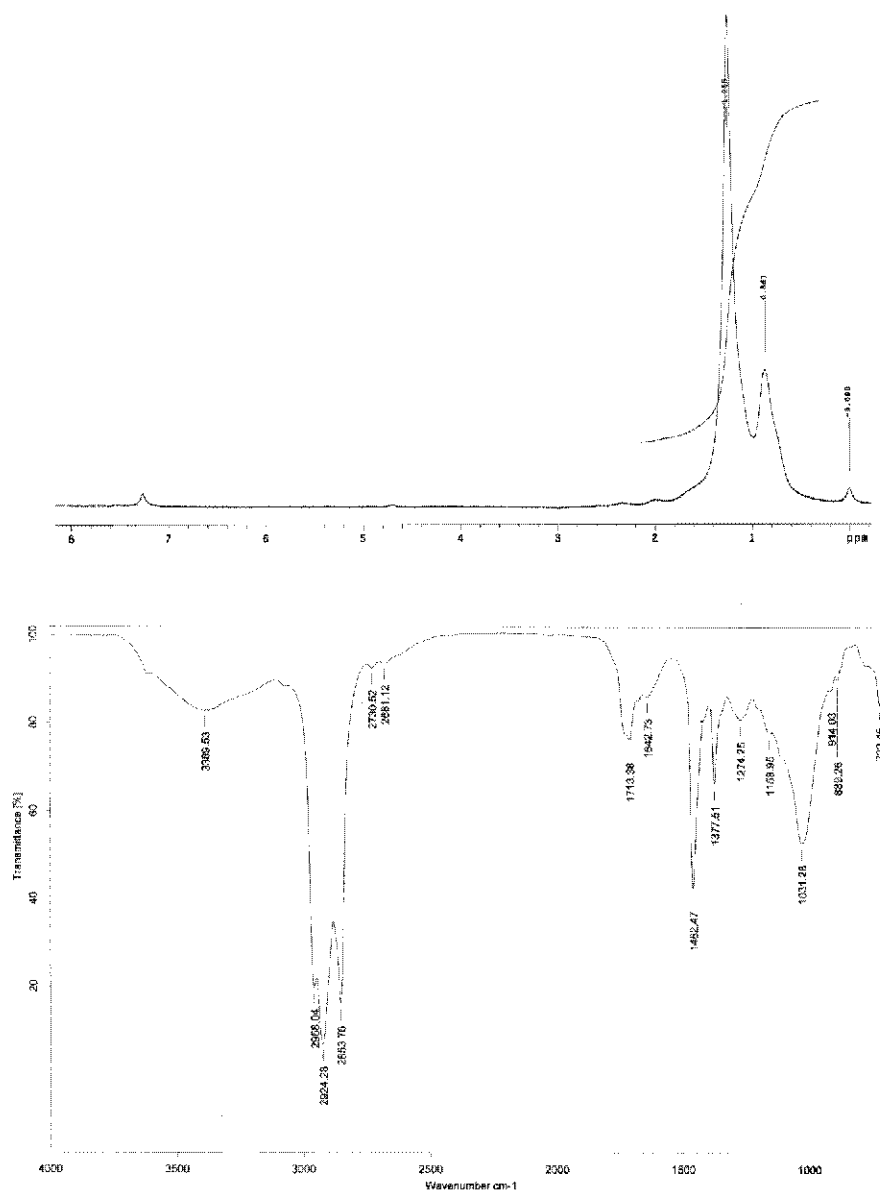


Figura B.9 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra del Desierto de Mohave.

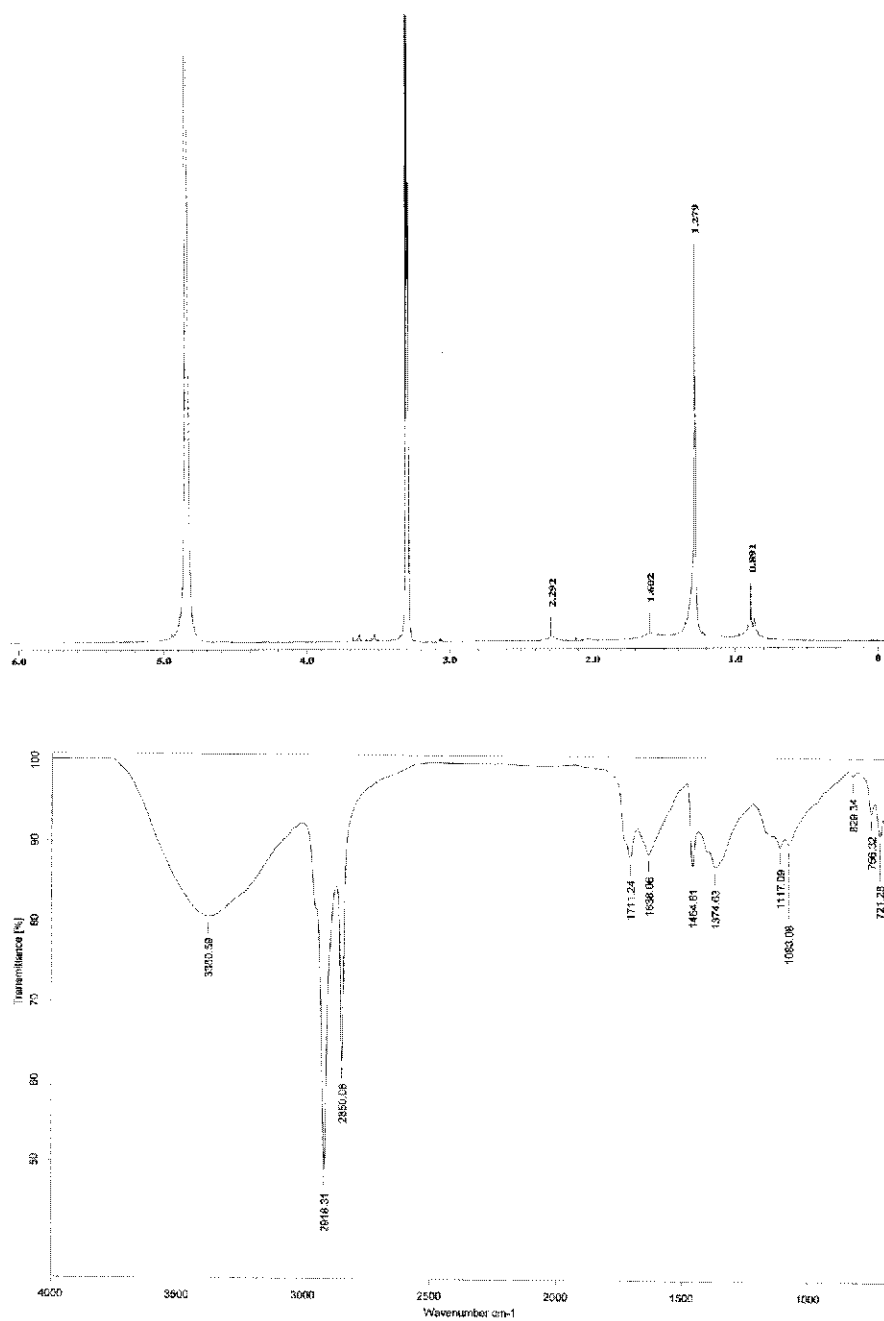


Figura B.10 Espectros de resonancia magnética nuclear protónica e infrarrojo obtenidos de la materia orgánica extraída de la muestra del simulante marciano.

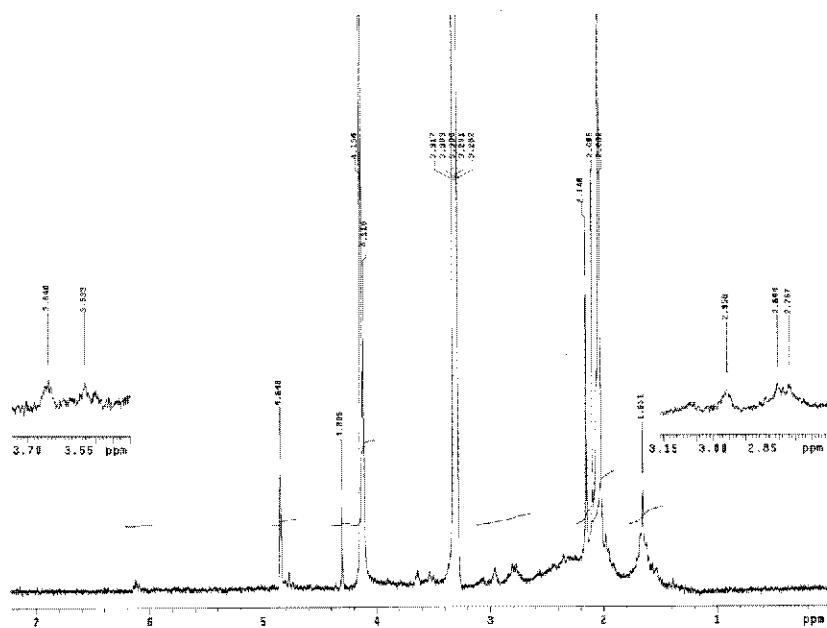


Figura B.11. Espectros de resonancia magnética nuclear protónica obtenidos de la materia orgánica extraída de las bolsas Whirlpack.

REFERENCIAS

- Albee A.L., Mars 200, *Annual Review Earth and Planetary Science*, 28, 281-304, 2000.
- Allen C.C. Griffin C. Steele A. Mainwrig L.T. and Stansbery E., Microbial life in Martian regolith simulant JSC Mars-1, *31st Annual and Planetary science conference, 2002*
- Allen C.C. Morris R.V. Jager K.M. Golden D.C. Lindstrom D.J. Lindstrom M. M. and Lockwood J.P. Martian Regolith Simulant JSC Mars-1 *29th Annual Lunar and Planetary Science Conference*, 16-20, 1998.
- Amaral L.A. Gómez F. Zettler E. Keenan B.G. Amils R. Sogin M.L. Eukaryotic diversity in Spain's River of fire, *Science*, 417, 137, 2002.
- Bale C.W. Chartrand P. Degterov S.A. Eriksson G. Hack K. Manfoud R.B. Melançon J. Pelton A.D. and Petersen S. FastSage Thermochemical Software and Databases, *Calphad*, 26, 189-228, 2002.
- Banin A. The enigma of the Martian soil, *Science*, 309, 888-890, 2005.
- Barth, C.A.A., Stewart, I.F., Bougher, S.W., Hunten, D.M., Bauer, S.J., Nagy, A.F., Aeronomy of the current Martian atmosphere, In: Kieffer, H.H., Jakosky, B.M., Snyder, C.W., Matthews, M.S. (Eds.), Mars. *University of Arizona Press, Tucson*, 1054–1089, 1992.
- Bibring, J.P. and Errad S. The Martian surface composition, *Space Science Reviews*, 96, 293-316, 2001.
- Biemann K. Oro J. Toulmin III P. Orgel L.E. Nier A.O. Anderson D.M. Simmonds P.G. Flory D. Diaz A.V. Rushneck D.R. Biller J.E. and Lafleur A.L. The search for organic substances and inorganic volatile compounds in the surface of Mars, *Journal of Geophysical Research*, 82 pp 4641-4658, 1977.
- Biemann K. Oro J. Toulmin III P. Orgel L.E. Nier A.O. Anderson D.M. Simmonds P.G. Flory D. Diaz A.V. Rushneck D.R. and Biller J.A. Search for Organic and volatile inorganic compounds in two surface samples from the Chryse planitia region of Mars, *Science*, 194, 72-76, 1977.
- Biemann K. Some final conclusions and supporting experiments related to the search for organics compounds on the surface of Mars, *Journal of Geophysical Research*, 83, pp 8385-8390, 1979.
- Brack A. Forterre P. Horneck G. Pillinger C. Schidlowski M and Wänke H. Exobiology in the solar system and the research for life on Mars, Report from the ESA Exobiology team study 1997-1998, *European Space Agency*, 41-64, 1999.
- Buch A. Sternberg R. Meunier D. Rodier C. Laurent C. Raulin F. and Vidal-Madjar C. Solvent extraction of organic molecules of exobiological interest for in situ analysis of the Martian soil, *Journal of Chromatography A*, 999, 165-174, 2003.
- Carr, M.H. & Wänke, H. Earth and Mars: Water inventories as clues to accretional histories, *Icarus*, 98, 61-71, 1992.

-
- Challinor J. M. Characterization of rosin-based commercial resins by pyrolysis and simultaneous pyrolysis methylation-gas chromatography/mass spectrometry techniques, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 25, 349-360, 1993.
 - Challinor J. M. Review: The development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 61, 3-34, 2001.
 - Challinor J.M. Characterization of wood by pyrolysis derivatisation-gas chromatography/mass spectrometry, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 35, 93-107, 1995.
 - Challinor J.M. Characterization of wood extractives by pyrolysis derivatization-gas chromatography/mass spectrometry of ammonium hydroxide extracts, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 37, 1-13, 1996.
 - Challinor J.M. Rapid simple pyrolysis derivatisation gas chromatography-mass spectrometry method for profiling of fatty acids in trace quantities of lipids, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 37, 185-197, 1996.
 - Chefetz B., Chen Y. Clapp E. and Hatcher P.G. Characterization of organic matter in soils by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH), *Soil science society of America*, 64, 583-589, 2000.
 - Clarke J.D.A. Antiquity of aridity in the Chilean Atacama Desert, *Geomorphology*, 73, 101-114, 2006s.
 - Damsté J.S. Koster J. Baas M. Ossebaar J. Dekker M. Pool Win and Geenevasen A.J. A sedimentary tetrahydrophenanthrene derivate of tetrahymanol, *Tetrahedron Letters*, 40, 3949-3952, 1999.
 - Davis W. L., McKay C.P. and Hynes S.F. Remote sensing for organics on Mars, *Advances in Space Research*, 24, 489-496, 1999.
 - De Lope J.L. y Sánchez J.M. Eukaryotic diversity in Spain's River of fire, *Nature*, 417, 137, 2002.
 - Douglas S. Microbial biosignatures in evaporite deposits: Evidence from Death Valley, California, *Planetary and Space Science*, 52, 223-227, 2004.
 - Durand, B. (Ed.) Kerogen-Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks, *Editions Techniques, Paris, France*, 519, 1980.
 - Dutrizac J. E. and J. L. Jambor Sulfate minerals: crystallography, geochemistry and environmental significance, Washington, DC : Mineralogical Society of America 40, 405-452, 2000.
 - Economou T. Chemical analysis of Martian soil and rocks obtained by the Pathfinder alpha proton X-ray spectrometer, *Radiation physics and chemistry*, 61, 191-197, 2001.
 - Elwood M.E. Bodnar R.J. and Rimstidt J.D. Jarosite as an indicator of water-limited chemical weathering on Mars, *Nature*, 431, 821-823, 2004.
 - Encrenaz, T.H. Be´zard, B., Greathouse, T.K., Richter, M.J., Lacy, J.H., Atreya, S.K., Wong, A.S., Lebonnois, S., Le`fevret, F. Hydrogen peroxide on Mars: evidence for spatial and seasonal variations, *Icarus*, 170, 224-229, 2004.

-
- Farr, T.G. Terrestrial to Mars: The NRG community decadal report, *Planetary and Space Science*, 52, 3-10, 2004.
 - Farrimond, I. Head I.M. and Innes H.E. Environmental influence on the biohopanoids composition of recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 17, 2985-2992, 2000.
 - Fernández R.D. 2003 Geología Planetaria de ambientes extremos terrestres. Base fundamental en el estudio astrobiológico del Sistema Solar. *Ciencias planetarias*, 16, 3-7, 2003.
 - Fernández-Remolar Gómez-Elvira J. Gómez F. Sebastián E. Martín J. Manfredi J.A. Torres J. Gonzalez Kesler C. Amis R. The Tinto River, an extreme acidic environment under control of iron, as an analog of the Terra Meridiani hematite site of Mars. *Planetary and Space Science*, 52, 239-248, 2004.
 - Forray F.L. Navrotsky A. and Drouet C. Jarosite stability on Mars, *Second conference on early Mars*, 2004.
 - Glamoclija, M. Garrel L. Berthand y Lopez-García P. et. Al., Biosignatures and Bacterial Diversity in Hydrothermal Deposits of Solfatara Crater, Italy. *Geomicrobiology Journal*, 21, 529-541, 2004.
 - Gobé V. Lemée L. Amblés A. Structure elucidation of soil macromolecular lipids by preparative pyrolysis and thermochemolysis, *Organic Geochemistry*, 31, 409-419, 2000.
 - Härtner T. Strau K.L. and Kannenberg E. Occurrence of hopanoid lipids in anaerobic *Geobacter* species, *FEMS Microbiology Letters*, 243, 59-64, 2005.
 - Head III J.W. Hiesinger H. Ivanov M.A. Kreslavsky M.A. Pratt S. and Thomson B.J. Possible Ancient oceans on Mars: Evidence from Mars orbiter laser data, *Science*, 286, 2134-2137, 1999.
 - Horneck G. The microbial world and the case for Mars, *Planetary and Space Science*, 48, 1053-1063, 2000.
 - Horowitz N.H. Hobby G.L. and Hubbard J.S. Viking on Mars: The carbon assimilation Experiments, *Journal of Geophysical Research*, 82, 4659-4662, 1997.
 - Hubbard J.S. The Biological Experiments Laboratory simulations of the pyrolytic release experiments: An interim report, *Journal of Molecular Evolution*, 14, 211-221, 1979.
 - Ishida Y. Correlation analysis between fatty acid compositions of zooplankton individuals, fed on different phytoplankton species by means of pyrolysis-gas chromatography combined with on-line methylation, *Journal of Chromatography B*, 716, 39-45, 1998.
 - Kannenberg, E.L. and Poralla, K. Hopanoid biosynthesis and function in bacteria. *Naturwissenschaften*, 86, 168-176, 1999.
 - Keinänen M.M. Korhonen L.K. Martikainen P.J. Miettinen I.T. Lentola M.J. Nenonen K. Pajuene H. and Kontro M.H. Gas chromatographic-mass spectrometric detection of

- 2- and 3-hydroxy fatty acids as methyl esters from soil, sediment and biofilm, *Journal of Chromatography B*, 783, 443-451, 2003.
- Kerr R.A. Rainbow of Martian minerals paints picture of degradation, *Science*, 2004, 305, 770-771, 2004.
 - Kerr R.A., On Mars, a second chance for life, *Science*, 306, 2010-2012, 2004.
 - Klein H.P. The Viking biological investigation: General aspects, *Journal of Geophysical Research*, 82, 4677-4680 1977.
 - Klein H.P., The Viking biological investigation: preliminary results, *Journal of Geophysical Research*, 82, 99-105, 1977.
 - Lens P.N.L. and Heminga M.A. Nuclear magnetic resonance in environmental engineering: Principles and applications, *Biodegradation*, 9, 393-409, 1998.
 - Leong L. S. Comparison of methods for determination of organic carbon in marine sediment, *Marine Pollution Bulletin*, 38, 875-879, 1999.
 - Levin G.V. Straat P.A. Recent results from the Viking labeled release experiment on Mars, *Journal of Geophysical Research*, 82, 4663-4667, 1977.
 - Lewis s. J. Physics and chemistry of the solar system, *Elsevier*, 2nd. Ed. 477-507, 2004.
 - Martian regolith simulant JSC Mars-1, *29th Annual and Planetary science conference, Houston, Texas, USA* Abstract #160, 1998.
 - McKay C.P., Friedmann, E.I., Gomez-Silva, B., Cáceres-Villanueva, L., Andersen, D.T., Landheim, R., 2003. Temperature and moisture conditions for life in the extreme arid region of the Atacama Desert: four years of observations including the El Niño of 1997–1998, *Astrobiology*, 3, 393–406, 2003.
 - Miller N.J. y Miller C.J. Estadística y quimiometria para química analítica, *Prentice Hall, cuarta edición, España*, pp 111-155, 2002.
 - Molina Sevilla Paola, Caracterización de suelos desérticos como posibles análogos de suelos marcianos, *Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM*, 2006
 - Moroz, V.I. & Mukhin, L.M. (Eds.). About the Initial Evolution of Atmosphere and Climate of the Earth-Type Planets, *Inst. Space Res. USSR Acad. Sci., Moscow, Publication D-255*, 44, 1978.
 - Navarro-González R. Navarro K.F. de la Rosa J. Paola Molina P. Iñiguez E. Miranda L.D. Morales P. Cienfuegos E. Coll P. Raulin F. Amils R. and McKay C.P. Limitations on detection of levels on organics in Mars-like soils using thermal volatilization GC-MS: implication for the Viking Lander results, *Summited to The Proceedings of the National Academy of Science*, 2006
 - Navarro-González R. Rainey F. Molina P. Bagaley D.R. Hollen B.J. de la Rosa J. Small A.M. Quinn R.C. Grunthaner F.J. Cáceres L. Gomez-Silva B. and McKay C.P. Mars-Like Soils in the Atacama Desert, Chile, and the Dry Limit of Microbial Life, *Science*, 302, 1018-1021, 2003.
 - Nealson K. H., Sediment bacteria: who's there, what are they doing, and what's new?, *Annual Review Earth and Planetary Science*, 25, 403-434, 1997.

-
- Nelson M. J., Newson H.E. and Draper D.S. Incipient hydrothermal alteration of basalts and the origin of the Martian soil, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69, pp. 2701-2711, 2005
 - Oyama V.I. Berdahl B.J. The Viking gas exchange results from Chryse and Utopia surface samples, *Journal of Geophysical Research*, 82, 4669-4676, 1977.
 - Patrick Fitz. Introducción a las Ciencias del Suelo. *Publicaciones Cultural. A. México*, 1978.
 - Pietrogrande M.C. Zampolli Dondi F. Szopa C. Stenberg R. and Buch G.I. In situ analysis of the Martian Soil by gas chromatography; Decoding of complex chromatograms of organic molecules of exobiological interest, *Journal of Chromatography A*, 1071., 255-261, 2005.
 - Quinn R.C. Zent A.P. Grunthaner F.J. Ehrenfreund P. Taylor C.L. and Garry J.R.C. Detection and characterization of oxidizing acids in the Atacama Desert using the Mars oxidation instrument, *Planetary and Space Science*, 53, 1376-1388, 2005.
 - Repeta D. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66, 995-962, 2002.
 - Rieder, R., Economou, T., Wänke, H., Turkevich, A., Crisp, J., Brückner, J., Dreibus, G., and Mc-Sween, H.Y.J. 'The Chemical Composition of Martian Soil and Rocks Returned by the Mobile Alpha Proton X-ray Spectrometer: Preliminary Results from the X-ray Mode', *Science*, 278, 1771-1773, 1997.
 - Rohmer, M., Bisseret, P. and Neunlist, S., The hopanoids, prokaryotic triterpenoids and precursors of ubiquitous molecular fossils In: *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, 1-17. *Prentice-Hall, London*, 1992.
 - Ryba A. S. Effects of sample preparation on the measurement of organic carbon, hydrogen, nitrogen, sulfur and oxygen concentrations in marine sediments, *Chemosphere*, 48, 139-147, 2002.
 - Showstack, R. NASA Rover Finds Evidence of a Once Wet and Habitable Mars *EOS Transactions, AGU*, 85, Issue 11, 106-106, 2004.
 - Silverstein R.M. Bassler G.C. Identificación espectrométrica de compuestos orgánicos, *Iera Edición México*, 1980.
 - Simões F. Trauter R. Grard R. and Hamdin M. Laboratory measurements on Martian soil simulant JSC Mars-1 supporting the calibration of instruments for the planetary missions, Proc 37th ESLAB symposium Tools and technologies for future planetary Exploration, *Noordwijk, The Netherlands*, 2003.
 - Simoneit B. Biomarkers (molecular fossils) as geochemical indicators of life *Advances in Space Research*, 33, 1255-1261, 2004.
 - Simoneit B. Biomarkers as tracers for life on early earth and Mars, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 28, 475-483, 1998.
 - Snyder A.P. Tripathi A. Dworzanski J.P. Maswadeh W.M. and Wick C.H. Characterization of microorganisms by thermogravimetric analysis-mass spectrometry. *Analytica Acta*, 536, 283-293, 2005.

-
- Socrates G., Infrared characteristic group frequencies, *First edition, Wiley, New York*, 1980.
 - Summons, R. E. Jahnke L.L. Hope J.M. and Logan G.A. 2-Methylhopanoids as biomarkers for cyanobacterial oxygenic photosynthesis. *Nature*, 400, 554-557, 1999.
 - Summons, R.E., Jahnke, L.L. & Simoneit, B.R.T. Lipid biomarkers for bacterial ecosystems: studies of cultured organisms, hydrothermal environment and ancient sediments. In *Evolution of Hydrothermal Ecosystems on Earth. CIBA Foundation Symposium 202 (Eds. G.R. Bock & J.A. Goode), J. Wiley & Sons, Chichester, UK*, 174-193, 1996.
 - Suzuki, N. Saito H. Sawoda K. Data Report: n-alkanes, Fatty acids, and Hopanoids for ODP Leg 190 site 1178. Proceedings of the Ocean Drilling Program, *Scientific Results Vol. 190/196*, 2004.
 - Titus T.N. Water, water everywhere, *Nature*, 428, 610-611, 2004.
 - Toulmin III P. Baird A. K. Clark B.C. Keil K. Rose H.R. Christian R.P. Evans P. H. And Kelliher W.C. Geochemical and mineralogical interpretation of the Viking inorganic chemical results, *Journal of Geophysical Research*, 82, 4625-4633, 1977.
 - Wade L.G., Química orgánica, *Pearson. segunda edición, México*, 1-2, 1993.
 - Walter, M.R. (Ed.). *Stromatolites, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands*, 1976.
 - Wampler T. P. Review: Introduction to pyrolysis-capillary gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 842, 207-220, 1999.
 - Wang Y. Krull I.S. Liu C. and Orr J.D. Derivatization of phospholipids, *Journal of chromatography B*, 793, 3-14, 2003.
 - Wentworth S. J. Gibson E.K. Velbel M.A. McKay D.S. Antarctic Dry Valleys and indigenous weathering in Mars Meteorites: Implications for water and life on Mars, *Icarus*, 174, 383-395, 2005.
 - Westall F. Brack A. Hofmann B. Horneck G. Kurat Gero Maxwell J. Ori C.G. Pillinger C. Raulin F. Thomas N. Brian Fitton B. Clancy P. Prieur D. and Vassaux D. An ESA study for the search for life on Mars, *Planetary and Space Science*, 48, 181-202, 2000.
 - Zuber M.T. The crust and mantle of Mars, *Nature*, 412, 220-226, 2001.