

# EXPERIMENTO DE LIBERACIÓN ISOTÓPICA MARCADA (LR) Y LA BÚSQUEDA DE VIDA EN MARTE

## LABELED RELEASE EXPERIMENT (LR) AND THE SEARCH FOR LIFE ON MARS

Julio E. Valdivia-Silva<sup>a,\*</sup>, Paola Medina<sup>a</sup>, Aura Palma<sup>a</sup>, Bertha Torres<sup>a</sup>, Rafael Navarro-González<sup>a</sup>

### RESUMEN

Las misiones Vikingo en los 70's mostraron que el suelo marciano presentaba tres características importantes: ausencia de vida, ausencia de material orgánico, y presencia de uno o varios oxidantes altamente reactivos. Esta conclusión fue realizada gracias a cuatro experimentos que iban a bordo, uno de los cuales se denominó Liberación Isotópica Marcada (LR). En este experimento la liberación de CO<sub>2</sub> fue monitoreada luego de la adición de nutrientes marcados isotópicamente con Carbono-14 a muestras del suelo marciano. El presente trabajo resume los resultados de este experimento encontrados por la sonda Vikingo y compara los resultados con otros realizados en suelos terrestres análogos a Marte.

**Palabras clave:** Misión Vikingo, Búsqueda de vida en Marte, Astrobiología, Experimento de Liberación Marcada.

### ABSTRACT

The Viking mission at the 70's showed the Martian soil to have three important characteristics: absence of life, absence of organic material and the presence of one or more highly reactive oxidants. This conclusion was made due to four experiments on board of Viking spacecraft, one of whom was named Labeled Release Experiment (LR). In this experiment gas evolution was monitored after the addition of nutrients <sup>14</sup>C-labeled to Martian soils. The present work summarizes the results found by the Viking and compares these data with others made in terrestrial Mars-like soils.

**Key words:** Viking mission, Search of Life on Mars, Astrobiology, Labeled Release Experiment.

### INTRODUCCIÓN

La única misión espacial, hasta la fecha, diseñada para la búsqueda de evidencia pasada o presente de vida en el planeta Marte ha sido la Misión Vikingo en la década de los años 70's. Dicha misión consistió en dos naves compuestas por un orbitador (VO) y un explorador (VL) que fueron lanzadas el 20 de agosto y 09 de setiembre de 1975 y que "amartizaron" en 2 áreas ubicadas en la parte meridional del planeta el 20 de julio y el 03 de setiembre de 1976 respectivamente [1]. El VL-1 quedó localizado en la zona denominada Chrysie planitia y el VL-2 en la región Utopia planitia a miles de kilómetros del primero.

Los exploradores (VL), además de llevar equipos para estudios espectrográficos y atmosféricos, tenían a bordo instrumentos diseñados para investigar la presencia de rastros de vida en el regolito de la superficie. Cuatro experimentos estaban enfocados para este punto. El primero, "químico", consistía de un pirolizador acoplado a un cromatógrafo de gases con espectrómetro de masas (pyr-GC-MS) diseñado para detectar material orgánico, y los otros tres, "biológicos", diseñados para medir la actividad metabólica y diferenciar si ésta era por actividad física o química [2].

Sin embargo, los resultados del Vikingo fueron dudosos y contradictorios en tres aspectos. Primero, la ausencia de material orgánico en niveles de partes por billón (ppb), evaluado por el Pyr-GC-MS [3]. Segundo, la rápida liberación de oxígeno molecular en niveles cercanos a 1 µmol/g, cuando las muestras de suelo

fueron expuestas a vapor de agua en el experimento de intercambio de gases (GEx) [4]. Tercero, los nutrientes marcados isotópicamente adicionados al suelo fueron consumidos como si algún organismo o varios hubieran estado presentes en el suelo. Esto último durante el experimento de liberación marcada (LR) [5].

La aparente contradicción de los experimentos biológicos con los resultados del experimento químico, fueron debatidos durante mucho tiempo, concluyendo finalmente que la reactividad del suelo marciano era debida a la presencia de uno o más oxidantes reactivos y la ausencia de orgánicos se explicaba por la alta oxidación debida a la presencia de dichos oxidantes y/o por la alta radiación UV [6,7].

En este breve trabajo evaluamos los resultados encontrados en la misión Vikingo con respecto al experimento de Liberación Isotópica Marcada (LR) y realizamos algunas comparaciones con experimentos posteriores realizados en suelos terrestres análogos a Marte .

### METODOLOGÍA

#### Datos de la Misión Vikingo

Los datos del experimento LR realizados por el Vikingo fueron obtenidos del NASA Planetary Data System [5]. Los datos contienen las cuentas registradas por el detector másico en función del tiempo, que resultaron de la presencia de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> en la celda de muestra. Un factor de conversión de 517 cuentas/nmol del carbono marcado

<sup>a</sup> Laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.

fue usado para calcular el total de nanomoles de  $^{14}\text{CO}_2$  presente en la celda [5]. La liberación de  $\text{CO}_2$  de las muestras del Vikingo fueron comparadas a otros suelos en nanomoles producidos por gramo de muestra. Para estimar el peso de las muestras Vikingo ( $0.5\text{ cm}^3$ ) se usó la densidad de  $1.3\text{g/cm}^3$  [4].

### Muestras de suelos

Las muestras de suelo corresponden a 2 zonas cercanas al área de Yungay, localizadas en el desierto de Atacama al norte de Chile, y que ha sido considerada un análogo a los suelos marcianos [7,8]. Las coordenadas de los puntos son los siguientes: S  $24^\circ 5' 23.4''$ , W  $70^\circ 00' 24.5''$  y S  $23^\circ 53' 12.7''$ , W  $71^\circ 58' 3.5''$ . Las muestras de suelo fueron colectadas de la superficie (5cm). Aproximadamente 1 gramo fue pesado en una balanza portátil e introducido en viales de 10cc estériles y sellados inmediatamente con una septa.

Adicionalmente se compararon los resultados obtenidos anteriormente por Navarro-Gonzalez et al., y Quinn et al, de muestras localizadas en zonas muy cercanas a la zona [7,9].

### Sustratos marcados isotópicamente

Para el presente trabajo se utilizó Formato de Sodio marcado con Carbono-13 (99+ atom% IsoTec Inc.). Las soluciones fueron preparadas en una campana de flujo laminar y los utensilios autoclavados. Agua esteril y filtros de  $0.2\ \mu\text{m}$  fueron usados para introducir la solución en los viales.

### Simulación del Experimento de Liberación Marcada (LR) realizada por el Vikingo.

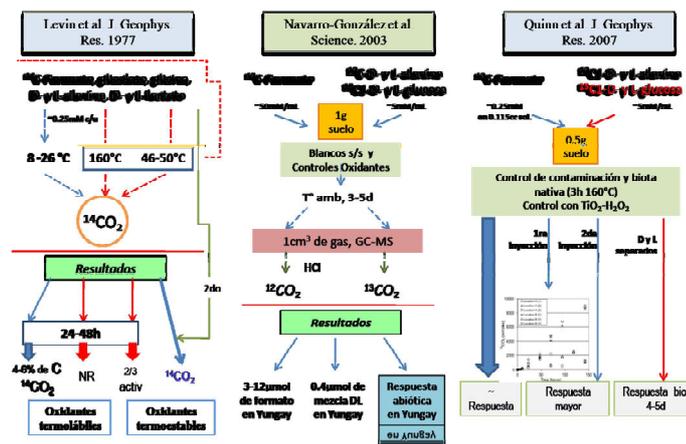
Las muestras de suelo fueron mojadas con 1cc de solución  $0.25\ \text{mM}$  de Formato de Sodio- $^{13}\text{C}$ . La oxidación del Formato a  $^{13}\text{-CO}_2$  fue monitoreado por una jeringa de headspace que aspiraba  $150\ \mu\text{L}$  de gas producido en los viales e inyectada en Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS) (Varian 4000). Se monitoreó el ion 45 correspondiente al  $^{13}\text{-CO}_2$ . Se corrigió la abundancia natural del ion 45 con la cantidad de ion 44 (1.1%).

Los sustratos utilizados en el experimento del Vikingo fueron una mezcla de 7 nutrientes marcados a concentraciones de  $0.25\ \text{mM}$  cada uno: formato de sodio, D-alanina, L-alanina, D-lactato, L-lactato, glicina y glicolato de calcio [10,11]. Sin embargo, se sugirió que la liberación inicial de  $\text{CO}_2$  en el experimento resultó de la descomposición del formato, dado que correspondía exactamente a la cantidad de carbono- $^{14}\text{C}$  adicionado en la solución [4,12].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El experimento de LR en la misión Vikingo fue diseñado por Levin y col., y su principal objetivo era determinar la presencia de uno o varios organismos capaces de oxidar los nutrientes suministrados al suelo y llevarlos a  $\text{CO}_2$ , como la mayoría de organismos vivos en la Tierra. Dado que la atmósfera marciana es más del 98%  $\text{CO}_2$ , es que los nutrientes suministrados debían estar marcados con algún isótopo estable.

La metodología y los resultados globales del Vikingo y de otros experimentos similares son resumidos en la Figura 1.



**Figura 1: Experimento de Liberación Isotópica Marcada (LR).** El experimento llevado a cabo por el Vikingo fue diseñado por Levin y col., mientras que experimentos similares en suelos análogos fueron llevados a cabo por Navarro-Gonzalez y col., y recientemente por Quinn y col.

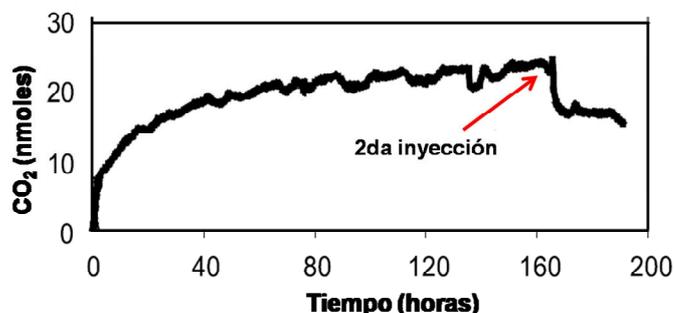
En la misión Vikingo, el  $^{14}\text{-CO}_2$  fue liberado en dos momentos, el primer momento denominado liberación rápida fue en las primeras 24 a 48 horas y correspondía entre el 4 a 6% de todo el carbono administrado en la solución. Curiosamente dicha cantidad corresponde al Formato, por lo que se sugirió que era el sustrato susceptible a descomposición. El segundo correspondía a un proceso lento y constante.

Dado que la misión Vikingo podía calentar la muestra antes de la administración de nutrientes, se elevó la temperatura a  $160^\circ\text{C}$  y a  $50^\circ\text{C}$  con la intención de evaluar si esto afectaría al proceso de oxidación y descartar así la presencia de organismos. Curiosamente la elevación a  $160^\circ\text{C}$  eliminó la liberación inicial de  $\text{CO}_2$  pero no la segunda, y a  $50^\circ\text{C}$  la primera se vio reducida en un 30% aproximadamente.

Una segunda inyección de solución fue administrada en orden de evaluar si la oxidación se debía a una acción microbiológica, dado que a más sustrato el proceso debía presentar otro momento de liberación rápida. La respuesta a esta segunda inyección fue inesperada, dado que no se observó ningún incremento en la liberación de  $\text{CO}_2$  y por el contrario hubo una abrupta caída (~30%) [13] (Figura 2).

Los resultados del Vikingo concluyeron que el fenómeno no podía deberse a un fenómeno biológico y sugirieron una serie de propuestas abióticas. Finalmente fue aceptado la existencia de al menos 2 tipos de oxidantes, uno termolábil altamente reactivo y otro termoestable (Figura 1), al parecer la actividad del termolábil se "agotaba" dado que no había un nuevo incremento. El decaimiento ante la segunda inyección fue atribuida al ingreso del  $\text{CO}_2$  como ácido carbonico- bicarbonato a la solución debido al pH básico. Oyama y col., [4] atribuyeron que la asimilación del  $\text{CO}_2$  fue debido a la presencia de iones hidroxilo formados por el superóxido y el agua. Aunque componentes ácidos pueden estar

presentes en los suelos marcianos, las soluciones acuosas equilibrarían el pH a ligeramente básico.



**Figura 2: Liberación de CO<sub>2</sub> por el Vikingo.** En las primeras 24 a 48 horas se observa la rápida liberación de CO<sub>2</sub> seguida por una meseta de liberación lenta. Luego de la segunda inyección de nutrientes se observa una caída importante.

A diferencia del experimento del Vikingo, Navarro-González y col., [7] modifican la técnica para demostrar que el suelo proveniente de la zona de Yungay en el desierto de Atacama al norte de Chile, tenía características oxidantes similares a las encontradas en Marte. La técnica difirió del Vikingo en los siguientes aspectos: 1) que la medición de gases liberados fue realizado solamente una vez a los 3-5 días de la inyección inicial y 2) que la cantidad de nutrientes fue mayor en 2 a 3 órdenes de magnitud a la usada por el Vikingo (0.25 mM versus 50 mM de Formato).

Los resultados mostraron entre 3 a 12  $\mu\text{mol}$  de CO<sub>2</sub> provenientes del Formato, indicando actividad oxidativa importante. Sin embargo, para diferenciar si éste proceso se debía a efectos biológicos o abióticos adicionó 2 mezclas de enantiómeros marcados a muestras separadas del mismo suelo. Una de las mayores interrogantes del origen de la Vida es la "homoquiralidad", dado que curiosamente los organismos vivos eligieron las formas D-carbohidratos y L-aminoácidos para su metabolismo, mientras que las formas L y D respectivamente son muy poco asimilables [14]. Es así que si el proceso es biológico, al colocar mezclas de D- carbohidratos y L aminoácidos debería existir una oxidación preferencial evidenciada con mayor liberación de CO<sub>2</sub>, frente a la mezcla de sus enantiómeros. En cambio si el proceso fuera abiótico no existiría tal preferencia por ninguna de las mezclas adicionadas.

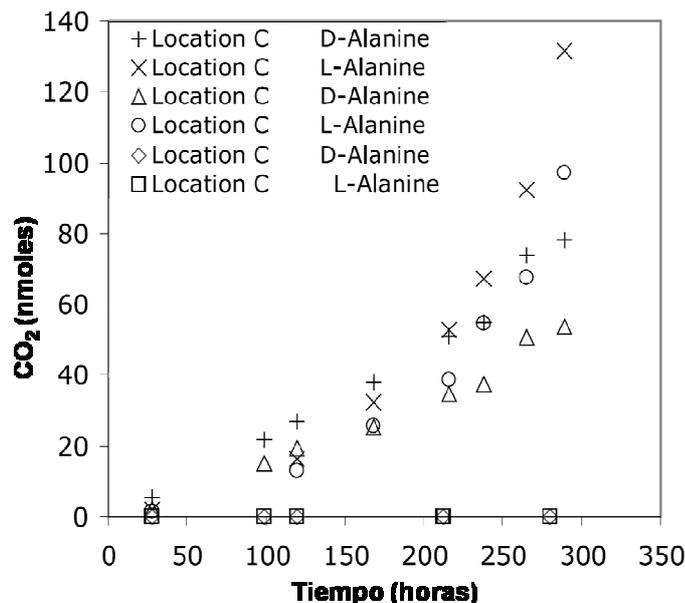
De manera interesante los resultados mostraron que hubo una liberación de 0.4  $\mu\text{mol}$  de ambas mezclas indistintamente evaluadas a los 3-5 días de incubación, lo cual sugería fuertemente una oxidación abiótica. Dado que los procesos biológicos dominan la oxidación en cualquier zona de la Tierra, estos resultados mostraban el único lugar sonde este proceso era inverso. Sin embargo, los resultados presentados por Quinn y col., [9] y nuestros resultados actuales, demostraron que algunos procesos no estaban bien simulados en el experimento.

Nuestros resultados en la zona de Yungay fueron coincidentes con los descritos por Quinn y col., observando una elevación en las primeras 48 horas y dependiendo de las muestras y el pH del suelo una

liberación constante o un decremento por ingreso a la solución. La segunda inyección de nutrientes produjo un incremento de liberación de CO<sub>2</sub> a diferencia de lo encontrado en el Vikingo. Estos datos indican la existencia de un oxidante altamente reactivo, sin embargo también se observa una probable oxidación de tipo biológico dado el aumento en la liberación tras la segunda inyección.

El uso de enantiómeros también fue monitoreado en una cinética de liberación. Lo que se observó fue que hasta el 5to día la liberación de ambos enantiómeros era similar sin indicios de una preferencia biológica, sin embargo al 7mo día los enantiómeros D-carbohidratos y L-aminoácidos fueron los que mostraron mayor oxidación a CO<sub>2</sub>, sugiriendo mayor actividad biológica.

Estos datos permiten deducir que la actividad oxidativa pudo estar dominada por oxidantes del suelo hasta que la biológica, gracias a los nutrientes, alcanzó un nivel detectable. Curiosamente los enantiómeros "no metabolizables" también mostraron alta oxidación (Figura 3). Recientemente se ha demostrado que los organismos también pueden metabolizar de manera mucho más lenta los enantiómeros L-carbohidratos y D-aminoácidos [Comunicación interna con H. Sun y col.], además no se descarta la presencia de un oxidante abiótico de tipo catalítico.



**Figura 3: Liberación de 13-CO<sub>2</sub> por enantiómeros de Alanina.** El enantiómero L, presenta mayor oxidación sugiriendo un proceso biológico.

## CONCLUSIONES

Los resultados permiten concluir que 1ro, existen oxidantes no biológicos en suelos análogos de Yungay dado el patrón de descomposición de enantiómeros L y D en los primeros días de liberación; 2do, aparece un incremento en etapas finales de la degradación de L-alanina y D-glucosa, consistente con la existencia de bajos niveles de microorganismos en la zona; 3ro, la liberación del 13-CO<sub>2</sub> del Formato reproduce la cinética observada en el Vikingo; 4to, se observó un incremento de 13-CO<sub>2</sub> liberado del Formato inyectado por segunda vez que es consistente a actividad biológica a diferencia

del Vikingo; 5to, el calentamiento previo con 160°C eliminó la descomposición biológica y no biológica de la glucosa, alanina y formato, a diferencia del Vikingo donde sólo se eliminó la liberación rápida del CO<sub>2</sub>; y 7mo, independientemente de los efectos fotoquímicos presentes, los mecanismos de descomposición de orgánicos adicionados a Yungay son diferentes de los procesos observados por el Vikingo.

Aunque estos resultados muestren una actividad diferente dado que existen microorganismos, el suelo de esta zona es muy interesante como antecedente para otros estudios similares en otros suelos análogos y para el diseño de nuevos experimentos que busquen detectar actividad biológica en la superficie y subsuelo en Marte.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte del proyecto “Busqueda de Vida en Marte” a cargo de Ames Research Center, NASA, EEUU, y colaboradores del Laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios, UNAM, México. Agradecemos al Dr. Modesto Montoya que con su actividad constante e incansable, convoca investigadores peruanos para incentivar a nuestra juventud en la investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. Viking Project we site: <http://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/viking.html>.
- [2]. Biemann, K., and J. M. Lavoie, *J. Geophys. Res.*, 84, (1979) 8385– 8390.
- [3]. K. Biemann et al., *J. Geophys. Res.* 30, (1977) 4641.
- [4]. V. I. Oyama, B. J. Berdahl, *J. Geophys. Res.* 82, (1977) 4669.
- [5]. G. V. Levin, P. A. Straat, *J. Geophys. Res.* 82, (1977) 4663.
- [6]. C. P. McKay et al., *Planet. Space Sci.* 46, (1998) 769.
- [7]. Navarro-González, R., et al. *Science*, 302, (2003) 1018–1021.
- [8]. C. P. McKay et al., *Astrobiology* 3, (2003) 293.
- [9]. Quinn et al., *J Geophys Res.* 112 (2007) G04S18.
- [10]. Levin, G. V., P. A. Straat, *Origins Life*, 76, (1976) 293– 311.
- [11]. Levin, G. V., P. A. Straat, *Science*, 194, (1976) 1322– 1329.
- [12]. C.A: Ponnampereuma, et al., *Science*, 197, (1977) 455– 457.
- [13]. Klein, H. P., *Rev. Geophys.*, 17 (1979)1655–1662.
- [14]. D. Cline, *European Review* (2005), 13 : 49-59.

**E-mail:** jvsilva@nucleares.unam.mx