



HAL
open science

Optimisation des techniques de pyrolyse et de thermochimiolyse pour la recherche de matière organique d'origine extraterrestre : application aux cas de Titan et Mars

Marietta Morisson

► **To cite this version:**

Marietta Morisson. Optimisation des techniques de pyrolyse et de thermochimiolyse pour la recherche de matière organique d'origine extraterrestre : application aux cas de Titan et Mars. Autre. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLC076 . tel-01636208

HAL Id: tel-01636208

<https://theses.hal.science/tel-01636208v1>

Submitted on 16 Nov 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Optimisation des techniques de pyrolyse et de thermochimie pour la recherche de matière organique d'origine extraterrestre : application aux cas de Titan et Mars

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à CentraleSupélec

École doctorale n°579 : sciences mécaniques et énergétiques,
matériaux et géosciences (SMEMAG)
Spécialité de doctorat : génie des procédés

Thèse présentée et soutenue à Gif sur Yvette, le 13 novembre 2017, par

Marietta Morisson

Composition du Jury :

M. Cyril Szopa Professeur, UVSQ (– LATMOS)	Président
M. Uwe Meierhenrich Professeur, Univ. Nice Sophia Antipolis (– ICN)	Rapporteur
M. Eric Quirico Professeur, Univ. Grenoble Alpes (– IPAG)	Rapporteur
M. Grégoire Danger MdC, Univ. Aix Marseille (– PIIM)	Examineur
Mme. Christelle Briois MdC, Univ. Orléans (– LPC2E)	Examinatrice
M. Moncef Stambouli Professeur, CentraleSupélec (– LGPM)	Directeur de thèse
M. Arnaud Buch MdC, CentraleSupélec (– LGPM)	Co-Directeur de thèse

Tu me dis, j'oublie. Tu m'enseignes, je me souviens. Tu m'impliques, j'apprends.

Benjamin Franklin

J'adresse mes remerciements à mes directeurs de thèse, Arnaud Buch et Moncef Stambouli, qui m'ont offert la possibilité de réaliser ce travail et qui l'ont supervisé trois ans durant.

Je remercie Uwe Meierhenrich, Eric Quirico (rapporteurs), Grégoire Danger, Christelle Briois (examineurs) et Cyril Szopa (président) pour avoir accepté de siéger dans mon jury de thèse, et pour leur lecture attentive et critique du manuscrit.

Je tiens à remercier les membres du LGPM qui, de par leurs conseils, aide, gentillesse et parfois leur simple présence, ont aidé, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail et ont rendu ces trois années plus agréables, je n'ose les nommer individuellement de peur d'en oublier, mais je n'ai aucun doute qu'ils sauront se reconnaître.

Merci à Nathalie Carrasco (LATMOS), pour son aide précieuse aux corrections et à la publication de l'article sur les tholins.

Un grand merci à la meilleure promotion du parcours de Planétologie Ile-de-France (2014), et tout particulièrement à Laura C.-F., Batiste R., Kelly P., Anthony L., Lucile F., Anne V., et Zurine de M. ainsi que leurs valeurs ajoutées Aurélien B. et Claudia D., votre présence a beaucoup compté. PlanétoYolos pour toujours <3 Merci également à Maëva M. et Tristan D. pour les debriefs plus ou moins improvisés du bureau des doléances qui ont toujours été d'un grand soutien moral, à Magali D. pour sa patience parfois mise à rude épreuve et pour ses innombrables détours par la Petite Pologne, et à Stéphanie G., pour ses relectures, mais aussi pour son écoute et pour tous les bons moments partagés.

Je remercie également ma famille et mes amis qui se sont déplacés jusqu'au plateau de Saclay pour assister à ma soutenance.

Enfin, je souhaite exprimer ma plus profonde gratitude à Catherine L., Benoît G. et Betty B. Merci infiniment pour votre aide, soutien et accompagnement, sans lesquels ce manuscrit n'aurait jamais vu le jour.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	1
Chapitre 1 Introduction : La recherche de traces de vie extraterrestre	4
1.1. Astrobiologie : de la chimie prébiotique à l'émergence de vie dans l'univers.....	4
1.1.1. Notions de vivant	4
1.1.2. Apparition de la vie sur Terre et chimie prébiotique.....	5
1.1.3. Où chercher ? Que chercher ?	8
1.2. Problématique liée à l'analyse de traces	12
1.2.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	12
1.2.2. Dérivatisation chimique au MTBSTFA.....	14
1.2.3. Thermochimiolyse en présence de TMAH.....	15
1.2.4. L'extraction solide-liquide simple par solvant.....	17
1.3. La simulation en laboratoire et l'analyse <i>in situ</i> : deux approches pour l'étude de la chimie prébiotique et la détection de traces de vie	18
1.3.1. Simulation d'atmosphère en laboratoire.....	18
1.3.2. L'expérience SAM à bord du rover Curiosity.....	19
1.3.3. L'expérience MOMA pour la mission ExoMars-2020	21
Bibliographie.....	23
Chapitre 2 Les aérosols organiques de Titan : structure et composition moléculaire d'après l'analyse d'analogues par pyrolyse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	32
Résumé du chapitre	32
Titan's organic aerosols: Molecular composition and structure of laboratory analogues inferred from pyrolysis gas chromatography mass spectrometry analysis	35
Chapitre 3 Optimisation des paramètres de thermochimiolyse en présence de TMAH sur un analogue de sol martien.....	49
3.1. Caractérisation de l'analogue choisi : JSC-Mars-1.....	49
3.1.1. Composition chimique et minéralogie.....	49
3.1.2. Contenu organique	50
3.1.2.1. Extraction solide-liquide assistée par ultrasons, dérivatisation et analyse CPGSM .	51
3.1.2.2. Analyse du contenu organique de JSC-Mars-1 par Pyr-CPG-SM	55
3.2. Optimisation de la thermochimiolyse pour l'analyse <i>in situ</i>	59
3.2.1. Dégradation thermique du TMAH.....	59
3.2.1.1. Protocole	59
3.2.1.2. Résultats	60
3.2.1.3. Dégradation du TMAH en présence de la matrice minéralogique de JSC-Mars-1 ...	60

3.2.1.4.	<i>Dégradation de la colonne chromatographique par le TMAH</i>	62
3.2.1.5.	<i>Conclusions</i>	63
3.2.2.	Influence du temps de contact entre le TMAH et JSC-Mars-1	64
3.2.2.1.	<i>Protocole</i>	64
3.2.2.2.	Contact à 300°C (MOMA « like »)	65
3.2.2.3.	<i>Contact à température ambiante (SAM « like »)</i>	65
3.2.3.	Optimisation de la température de thermochimolyse	66
3.2.3.1.	<i>Choix et tests de l'étalon interne</i>	66
3.2.3.2.	<i>Protocole</i>	70
3.2.3.3.	<i>Résultats</i>	71
3.3.	Conclusions du chapitre et perspectives	82
	Bibliographie	84
	Annexes	86
Chapitre 4	Application de la thermochimolyse à la détection des bases azotées	87
4.1.	Justification du choix des molécules-cibles	87
4.2.	Tautomérie à l'origine de la pluralité des sites de méthylation	90
4.3.	Matériel et méthodes	92
4.4.	Résultats	93
4.4.1.	Adénine	93
4.4.2.	Thymine et uracile	98
4.4.3.	Cytosine	101
4.4.4.	Guanine	104
4.4.5.	Xanthine	107
4.4.6.	Hypoxanthine	109
4.5.	Analyse d'un mélange de nucléobases	111
4.5.1.	Protocole expérimental	111
4.5.2.	Résultats	111
4.6.	Conclusions du chapitre	113
	Bibliographie	115
	Annexes	117
	CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES	124

INTRODUCTION GENERALE

Comprendre comment la vie est apparue sur Terre est l'un des grands enjeux et l'une des principales problématiques de l'astrobiologie. Pour répondre à ce questionnement plusieurs voies sont envisageables : (i) l'analyse à distance via des télescopes (Hubble Space Telescope, James Webb Telescope) ou des radiotélescopes (Karl Jansky VLA), (ii) l'analyse *in situ* d'environnement potentiellement propices au développement de la vie (Mars) ou d'une chimie prébiotique (Titan, Europe, Encelade), (iii) l'analyse en laboratoire d'échantillons d'intérêt exobiologique. Ces échantillons peuvent être issus de retours de missions spatiales (Apollo (Lune), Stardust (comète), Hayabusa (astéroïde)), de prélèvements sur Terre (météorites ou analogues) ou de simulations de laboratoire (l'expérience PAMPRE simule l'atmosphère de Titan au laboratoire LATMOS).

C'est à partir de la recherche dans ces trois dimensions qu'une meilleure connaissance des phénomènes qui ont conduit à l'émergence de la vie sur Terre pourra être atteinte. Ainsi et afin de mieux contraindre notre compréhension des mécanismes physico-chimiques qui ont mené à l'apparition de la vie sur Terre, nous cherchons sur Mars de potentielles traces de vie primitive qui ont disparu de la surface de la Terre du fait de la tectonique des plaques. La mission Mars Science Laboratory (MSL) et la future mission ExoMars ont par exemple parmi leurs objectifs de rechercher de la matière organique dans le sol martien et d'établir le lien entre cette matière et une potentielle forme de vie. Pour ce faire, des instruments ont été spécialement développés pour rechercher de la matière organique. C'est le cas de l'instrument Sample Analysis at Mars (SAM, mission MSL) embarqué sur le rover Curiosity et de l'instrument Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA, mission ExoMars) qui sera embarqué sur le Rover Pasteur. Tous deux sont équipés de fours de pyrolyse dont le contenu peut être analysé à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Pyr-CPG-SM) ou directement en spectrométrie de masse (Evolve Gas Analysis). La Pyr-CPG-SM permet de caractériser facilement avec une grande sensibilité (pmol) la matière organique des composés les plus volatils aux composés les plus réfractaires (macromolécules). Cette même technique est employée en laboratoire afin de déterminer la composition d'échantillons tels que des météoritiques, des analogues de sols extraterrestres ou des analogues d'aérosols issus par exemple de la simulation en laboratoire de l'atmosphère de Titan (tholins).

Pour être analysable, l'échantillon doit nécessairement être un gaz, ou bien un liquide qui se volatilise lors de son passage dans l'injecteur chauffé du chromatographe. L'analyse d'échantillons solides, tels que les sols, nécessite le couplage du chromatographe avec un pyrolyseur (Pyr-CPG-SM). Les échantillons solides peuvent être ainsi chauffés à très haute température dans le pyrolyseur (jusqu'à des températures supérieures à 1000°C) pour volatiliser tout leur contenu organique. Les pyrolysats sont ensuite transférés vers le CPG-SM. Néanmoins, le chauffage à haute température des molécules organiques entraîne généralement leur évolution/transformation et/ou leur dégradation et la perte de leurs groupements fonctionnels. Pour pallier ce problème, des techniques de chimie humide ont été développées : la dérivation chimique et la thermochimolyse. Elles consistent à mettre l'échantillon en contact avec un agent chimique qui permettra de substituer les atomes d'hydrogène labiles des molécules à analyser par d'autres groupements chimiques apolaires dans le but de protéger les groupements fonctionnels, diminuer la polarité des molécules et augmenter leur volatilité. La chimie humide couplé à de la CPG-SM permet ainsi la séparation et la détection de composés polaires et peu volatils tels que les acides carboxyliques et les acides aminés.

En plus de ses hautes performances analytiques, la technique de Pyr-CPG-SM répond à tous les critères de spatialisation. Elle a ainsi pu être utilisée dès les années 70 pour l'analyse *in situ* de

l'atmosphère et de la surface de Mars avec les missions Viking (1975/1976), puis celle de l'atmosphère de Vénus avec la sonde Pioneer 13 (1978). Depuis, des instruments CPG-SM ont été embarqués pour de nombreuses missions spatiales d'envergure telles que la sonde Huygens (mission Cassini-Huygens, 1997-2017) qui a effectué une descente dans l'atmosphère de la lune saturnienne Titan, le rover martien Curiosity (Mars Science Laboratory, MSL 2012), ou encore la sonde Philae (Rosetta, 2004-2016) qui s'est posée à la surface de la comète 67P/Churyumov–Gerasimenko. Un CPG-SM fera également partie des instruments du futur rover ExoMars, dont le lancement est prévu pour 2020. Grâce à chacun de ces CPG-SM, il est possible de déterminer la composition moléculaire (gaz noble ou matière organique) des échantillons (gazeux, liquides, solides) prélevés. La matière organique présente un intérêt tout particulier car elle est à l'origine et constitue toutes les formes de vie connues sur Terre. L'étude de la chimie organique dans les environnements extraterrestres est donc d'une importance primordiale non seulement pour comprendre les mécanismes physico-chimiques qui ont conduit à l'émergence des organismes vivants terrestres, mais aussi pour déterminer si la vie peut se développer ailleurs dans l'univers. C'est pourquoi nous nous sommes tout d'abord intéressés à la distribution de la matière organique dans des échantillons complexes (tholins) avec pour objectif de mieux comprendre les phénomènes physico-chimiques se produisant dans l'atmosphère de Titan, puis nous avons tenté d'améliorer et d'optimiser les techniques analytiques qui permettront de détecter de la matière organique sur Mars (MSL, ExoMars) : la pyrolyse et la thermochimiolyse.

Le travail présenté dans ce manuscrit a donc pour premier objectif une meilleure compréhension de la chimie se produisant dans la haute atmosphère de Titan. Titan est entouré d'une épaisse couche de brume constituée d'aérosols organiques. Avec le simulateur d'atmosphères PAMPRE, nous avons tout d'abord synthétisé en laboratoire différents analogues de ces aérosols, nommés tholins, puis nous avons étudié par Pyr-CPG-SM la composition moléculaire de chacun d'entre eux. Le principal objectif de cette étude est de déterminer l'influence du taux de méthane atmosphérique de Titan sur la chimie des aérosols. L'autre intérêt majeur de ces analyses, en postulant que nos tholins sont représentatifs des aérosols, est une meilleure connaissance de la matière organique présente sur Titan. De plus, ces mêmes techniques analytiques étaient embarquées sur la mission Cassini-Huygens. Nos résultats aideront donc à l'interprétation des données obtenues *in situ* par la sonde mais aussi lors de futures analyses par Pyr-CPG-SM de poussières organiques extraterrestres.

Le second objectif de ce travail est également lié à la caractérisation de la matière organique par Pyr-CPG-SM mais cette fois *in situ* et via deux missions martiennes : une en cours à la surface de Mars (MSL) et la seconde qui devrait atteindre Mars en 2021 (ExoMars). Toutes deux vont utiliser une technique d'analyse basée sur de la pyrolyse assistée par la dérivatisation avec de l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) : la thermochimiolyse.

La problématique est tout à fait différente concernant Mars, où il ne s'agit plus d'analyser des échantillons complexes comme les tholins, constitués de matière organique pure, mais de détecter la présence éventuelle de molécules organiques dans la matrice minérale qui constitue le sol martien. Cela implique la nécessité d'extraire et de volatiliser ces molécules, tout en préservant leur structure chimique afin de pouvoir les identifier. Pour ce faire, les expériences martiennes CPG-SM SAM et MOMA, disposent de différents réactifs de chimie humide, dont le TMAH pour la thermochimiolyse. Afin d'assurer la réussite des analyses *in situ* de sol martien, nous avons optimisé en laboratoire les conditions analytiques de la thermochimiolyse en nous focalisant sur deux paramètres : le temps de contact entre l'échantillon et le TMAH et la température de thermochimiolyse. Pour cela, nous avons

utilisé un analogue terrestre du sol martien nommé JSC-Mars-1, et nous nous sommes placés dans des conditions similaires de celles qui sont applicables sur Mars.

Dans la dernière partie de cette étude, nous nous sommes focalisés sur une catégorie de molécules à la fois polaires et très réfractaires, et donc difficiles à détecter par CPG-SM : les nucléobases. Les nucléobases font partie des espèces particulièrement ciblées lors de la recherche de matière organique dans les environnements extraterrestres car constitutives des acides nucléiques. Elles sont présentes chez tous les organismes vivants terrestres. Or la détection *in situ* des bases nucléiques est extrêmement difficile, soit parce qu'elles sont dégradées au cours de l'analyse, ou tout simplement que les techniques utilisées ne sont pas suffisamment sensibles pour atteindre les limites de détection des instruments. La thermochimie pourrait être une technique de choix pour la détection de ce type de molécules. Nous avons donc utilisé des standards analytiques de sept nucléobases pour étudier leur détectabilité par thermochimie et CPG-SM, à savoir évaluer les quantités nécessaires pour leur détection, identifier leurs produits de thermochimie (produits de dérivatisation et produits de dégradation) et déterminer la température optimale d'analyse.

Chapitre 1

Introduction : La recherche de traces de vie extraterrestre

1.1. Astrobiologie : de la chimie prébiotique à l'émergence de vie dans l'univers

1.1.1. Notions de vivant

La planète Terre est à ce jour le seul objet de l'univers connu pour abriter la vie. Les bactéries, les Archaea et les eucaryotes (dont les plantes, animaux et champignons) qui constituent les trois branches phylogénétiques du vivant terrestre (Woese and Fox, 1977) sont par conséquent le seul exemple d'organismes vivants sur lequel s'appuyer pour définir ce qu'est la vie. La question est loin d'être triviale et plusieurs ouvrages y sont consacrés (Bersini and Reisse, 2007; Michaud, 2000; Schrödinger, 1944). Elle peut trouver des réponses différentes selon que l'on interroge un physicien, un chimiste ou un biologiste, et bien que les frontières entre les disciplines tendent à s'estomper lorsqu'on aborde des sujets d'études tels que l'astrobiologie, qui font appel à différentes branches des sciences, la question reste soumise à débat (Forterre, 2016). De plus, la transition entre l'entité non-vivante et l'entité vivante s'est très probablement faite de manière progressive et il n'existe aujourd'hui aucun critère naturel permettant de définir un instant T dans ce continuum évolutif où cette transition a eu lieu. Bien qu'aucune définition ne puisse être formulée sans ambiguïté ni controverse, les spécialistes se sont longtemps accordés sur trois fonctions fondamentales qui, réunies, caractérisent tous les organismes vivants connus sur Terre (Cleland and Chyba, 2002) :

- Le système doit pouvoir s'auto-reproduire pour donner un autre système ayant les mêmes caractéristiques que lui-même.
- Il doit être capable de s'autoréguler, via des échanges d'énergie (système thermodynamiquement ouvert) et/ou de matière avec le milieu ambiant.
- Il doit pouvoir évoluer au cours du temps, à savoir subir des mutations dans son génome qui aboutissent à des changements dans les caractéristiques de l'espèce.

L'unité fonctionnelle et structurale de tous les êtres vivants est la cellule, qui possède donc toutes les fonctions citées ci-dessus.

L'analyse biochimique de tout matériau cellulaire, qu'il provienne d'espèces unicellulaires les plus simples (bactéries, levures, etc.) ou d'espèces pluricellulaires les plus complexes (animaux et végétaux supérieurs) montre que tous les êtres vivants utilisent les mêmes classes de composés organiques pour leurs fonctions structurales et métaboliques :

- Les lipides sont des composés qui contiennent une ou plusieurs molécules d'acides gras. Leur rôle est essentiellement structural puisqu'ils sont les constituants principaux des membranes cellulaires. Ils sont aussi, avec le glycogène, la principale forme de stockage de l'énergie chez les animaux (les plantes, à de rares cas près (avocatier, palmier à huile, ...) privilégiant les glucides).
- Le terme de glucides désigne de manière générale les hydrates de carbone. Ils sont constitués de sous unités élémentaires nommés oses (ou monosaccharides), classés selon la fonction

réductrice qu'ils possèdent (cétone pour les cétones, aldéhyde pour les aldoses) et selon le nombre d'atomes de carbone qu'ils contiennent. Les oses les plus simples sont les trioses (3 C) : le glycéraldéhyde et la dihydroxyacétone. On soulignera que les organismes vivants utilisent essentiellement les trioses, les pentoses (5 C), dont le ribose et les hexoses (6 C), dont le fructose et le glucose. Les oses servent de briques pour la formation de glucides plus complexes (les polysaccharides) : des dimères à deux molécules d'oses (dont le saccharose, ou sucre de table) jusqu'aux polymères de plusieurs dizaines de milliers d'oses (amidon, cellulose, etc). La fonction première des glucides est l'apport d'énergie, mais ils jouent aussi des rôles essentiels sur le plan structural et métabolique.

- Les protéines sont des polymères d'acides aminés. Parmi le demi-millier d'acides aminés connus, seuls 22 sont protéinogènes et entrent dans la synthèse protéique via la traduction des ARN. Sous forme fibreuse, le rôle des protéines est structural (collagène, kératines, tissus musculaires), sous forme globulaire leur rôle est essentiellement fonctionnel (enzymes, hormones, etc.)
- Les acides nucléiques, ADN et ARN, sont le support de l'information génétique chez tous les organismes vivants connus. Ces polymères sont constitués de sous-unités nommées nucléotides, elles-mêmes formées par une base azotée reliée à un pentose (ribose dans le cas de l'ARN, désoxyribose dans le cas de l'ADN) et à un groupement phosphate. Les quatre bases azotées entrant dans la structure de l'ADN comprennent deux bases puriques : l'adénine (A) et la guanine (G), et deux bases pyrimidiques : la thymine (T) et la cytosine (C). Dans l'ARN, la thymine est intégralement remplacée par une troisième base pyrimidique : l'uracile (U). Les bases azotées s'apparient via des liaisons hydrogène en paires de bases (A-T ; A-U ; G-C) pour former les structures en double brin de l'ADN et de l'ARN (Watson and Crick, 1953).

La cellule minimale possède donc toutes les caractéristiques citées ci-dessus. Sa structure et ses fonctions doivent être basées sur l'utilisation de molécules organiques, véritables briques du vivant. Elle doit puiser dans son environnement l'énergie et les matériaux nécessaires à son entretien. Elle doit transmettre son information génétique contenue dans les acides nucléiques afin de se répliquer, avec parfois des erreurs de réplication pour rendre l'évolution possible.

Il est extrêmement peu probable que toutes ces caractéristiques soient apparues plusieurs fois au cours de l'évolution de différentes lignées d'espèces. Il est donc aujourd'hui admis qu'elles ont été héritées d'un ancêtre commun aux trois lignées du vivant encore représentées aujourd'hui (Archae, bactéries, eucaryotes).

Ce dernier ancêtre commun ou cenancestor, ou encore LUCA (acronyme pour Last Universal Common Ancestor) est loin d'être la première cellule apparue sur Terre. Mais toute cellule ne pouvant provenir que d'une autre cellule, si l'on considère les ancêtres de LUCA en remontant sa généalogie cellule après cellule, on arrive à la première cellule. Avant cette première cellule et avant l'apparition d'une quelconque forme de vie, c'est un monde régi par la chimie prébiotique qui prédomine.

1.1.2. Apparition de la vie sur Terre et chimie prébiotique

Les fréquents transferts latéraux de gènes métaboliques survenus au cours de l'évolution ont rendu très difficile la détermination des caractéristiques de LUCA. La récente étude de (Weiss et al., 2016) décrit un organisme autotrophe thermophile. La biologie moléculaire et la phylogénie ne permettent pas de déterminer à l'heure actuelle si LUCA possédait un génome à ARN ou à ADN (Glansdorff et al., 2008; Leipe et al., 1999; Mushegian and Koonin, 1996). De même, la question de la nature procaryote (López-García et al., 1999; Rivera and Lake, 2004) ou de type proto-eukaryote (organisme primitif unicellulaire avec noyau cellulaire) (Glansdorff et al., 2008) de LUCA est loin d'être tranchée. Il est par ailleurs probable que LUCA ne soit ni l'un ni l'autre et que les différentes structures

qui caractérisent chacun des domaines du vivant existant aujourd'hui soient apparues indépendamment au cours de l'évolution des trois lignées post-LUCA (Forterre et al., 2005).

Compte tenu des difficultés actuelles pour déterminer les caractéristiques biochimiques, métaboliques et structurales de LUCA, il apparaît d'autant plus difficile de décrire les organismes qui l'ont précédé. Cette difficulté est liée au renouvellement permanent de la croûte terrestre via la tectonique des plaques, qui a probablement détruit les traces d'organismes vivants les plus primitifs. Les plus anciennes structures présumées d'origine microbienne (stromatolithes) préservées sur Terre ont été récemment découvertes au Groenland (Nutman et al., 2016) et dateraient de 3,7 milliards d'années. Il s'agirait de colonies bactériennes capables de photosynthèse, et donc déjà relativement évoluées. Compte tenu du long processus de l'évolution, si la nature biologique des structures observées par Nutman et al. est avérée, cela daterait l'apparition de la vie à quelques centaines de millions d'années seulement après la formation de la Terre.

On peut imaginer que l'ancêtre de LUCA était une proto-cellule plus primitive, ayant des fonctions métaboliques simples et que l'ancêtre de ce progénote était un proto-métabolisme, une entité plus primitive encore, ayant acquis un génome et des capacités cataboliques de plus en plus complexes au cours du temps. Le caractère ancestral des enzymes nécessaires à l'anabolisme et au catabolisme des acides gras tend à montrer qu'une membrane lipidique est apparue tôt dans l'évolution et était déjà présente chez LUCA (Peretó et al., 2004). Grâce aux propriétés amphiphiles des acides gras, en milieu aqueux ces molécules s'assemblent spontanément en micelles, c'est-à-dire que la tête polaire se met en contact avec le solvant tandis que les longues chaînes hydrocarbonées apolaires s'assemblent au centre de sorte à former des vésicules sphériques. Ainsi peuvent se former les premières membranes cellulaires, isolant le milieu intérieur du milieu extérieur et délimitant dans l'espace le futur organisme vivant.

Afin de « construire » ce premier organisme, une soupe prébiotique doit donc contenir tous les ingrédients chimiques précédemment mentionnés. Sous condition d'un apport suffisamment important d'énergie, la synthèse des protéines et de l'ARN et/ou ADN peut avoir lieu à l'intérieur de la future « cellule » à partir d'acides aminés, phosphate, ribose/désoxyribose, nucléobases. Hormis pour le phosphate – élément présents sous forme inorganique dans les roches sédimentaires – se pose alors la question de l'origine de ces briques organiques du vivant. Il existe trois hypothèses, qui ne s'excluent pas mutuellement, sur les sources des molécules organiques prébiotiques :

- (1) La chimie organique prébiotique peut être initiée par activation atmosphérique, via le rayonnement UV solaire, la foudre et l'énergie des ondes de choc provoquées par les météores traversant l'atmosphère (Gilvarry and Hochstim, 1963), capables d'initier les réactions entre les molécules présentes dans l'atmosphère. La nature des composés organiques ainsi synthétisés dépend ensuite de la composition de l'atmosphère en question, mais surtout de la source de carbone en phase gazeuse : CO, CO₂ ou CH₄ (Fleury et al., 2014; Raulin and Bossard, 1984; Raulin and Bruston, 1996). L'expérience de laboratoire la plus célèbre est celle de Miller et Urey, qui ont tenté de reproduire ce qu'ils pensaient être les conditions de la Terre primitive en soumettant un mélange gazeux constitué de méthane, d'ammoniac, d'eau et de dihydrogène à des décharges électriques (Miller, 1953). Ils ont ainsi identifié plusieurs acides aminés, acides carboxyliques et probablement des oses (Miller and Urey, 1959) dans le condensat qui résultait de l'expérience. La composition réductrice de l'atmosphère de la Terre primitive utilisée dans l'expérience de Urey et Miller a depuis été largement remise en question (Kasting, 1993; Trail et al., 2011). Or, il semble très difficile d'obtenir la synthèse de molécules prébiotiques (acides aminés, sucres, purines et pyrimidines) dans une atmosphère faiblement réductrice ou oxydante (Stribling and Miller, 1987).

- (2) Une première alternative à la synthèse atmosphérique est la production des molécules complexes grâce aux sources hydrothermales (fumeurs et émissions diffuses) qui se forment au niveau des dorsales océaniques. Dans cette hypothèse, les sources hydrothermales jouent le rôle de réacteur électrochimique et l'émergence de la vie serait la conséquence de deux déséquilibres : (i) différence de potentiel redox entre les remontées de fluide chaud riches en H₂ et CH₄ et le milieu ambiant comprenant des accepteurs d'électrons (CO₂, ions ferriques, ...) et (ii) différence de pH entre le courant hydrothermal alcalin et l'océan plus acide, créant des gradients naturels de protons semblables à la force protomotrice utilisée encore par certaines bactéries pour la fixation du carbone (Lane and Martin, 2012; Russell et al., 2014; Sojo et al., 2016). Des expériences de laboratoire ont montré qu'il était possible de synthétiser par voie abiotique des acides aminés (en proportions racémique) en simulant en laboratoire des sources hydrothermales (Hennet et al., 1992).
- (3) La troisième source de molécules organiques prébiotiques sur Terre est l'apport exogène de matière carbonée par des objets extraterrestres tels que les comètes, les météorites/micrométéorites et les poussières interplanétaires (ou IDPs, pour Interplanetary Dust Particles) (Anders, 1989; Chyba and Sagan, 1992). Avec un pic du taux de cratérisation calculé entre -3,8 et -3,9 milliards d'années, la période finale du grand bombardement tardif (ou LHB, pour Late Heavy Bombardment) (Gomes et al., 2005) semble correspondre à la période présumée de l'émergence de la vie sur Terre. Les comètes et les IDPs sont des objets connus pour leur richesse en matière organique (Anders, 1989; Encrenaz and Knacke, 1991). Les missions Giotto et Vega-1 ont détecté des composés organiques dans les gaz et les poussières éjectés par la comète Halley (Krueger et al., 1991). Récemment, la mission Rosetta (ESA, European Space Agency) a permis la détection *in situ* de matière organique dans les particules émises par la comète 67P/Churyumov-Gerasimenko (Fray et al., 2016) et à la surface de la comète grâce à l'atterrisseur Philae (Goesmann et al., 2015) dont le méthane, l'acétone, des amines, amides, nitriles, alcools et aldéhydes. En ce qui concerne les météorites, les chondrites carbonées sont les plus primitives en termes de composition élémentaire et les plus riches en carbone, présent essentiellement sous forme de matière organique et, dans une moindre mesure, sous forme de carbonates (Botta and Bada, 2002). Parmi les nombreux composés organiques détectés dans les chondrites carbonées, ont été identifiés : acides aminés, acides carboxyliques, nucléobases, hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, amines et alcools (voir les revues de (Botta and Bada, 2002) et (Sephton, 2002)). Parmi les chondrites carbonées les plus étudiées et analysées dans le monde, on notera celles d'Orgueil et de Murchison tombées en 1864 et 1969 respectivement (Hayatsu, 1964; Hayatsu et al., 1975; Martins et al., 2008; Stoks and Schwartz, 1979, 1981; Van der Velden and Schwartz, 1977). L'apport dominant de matière extraterrestre sur Terre se fait sous forme de micrométéorites, qui représentent environ 2000 fois la part apportée par les météorites (Engrand and Maurette, 1998). Les richesses des micrométéorites collectées en Antarctique en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et en acides aminés ont été démontrées par (Clemett et al., 1998) et (Brinton et al., 1998) respectivement. Des informations quantitatives sur l'apport exogène de matière organique ont été recensées dans l'article de revue de (Whittet, 1997), qui conclut que l'apport de matière extraterrestre sur la Terre primitive peut avoir fourni une considérable, voire dominante, source de molécules organiques prébiotiques.

La source exogène est d'autant plus intéressante qu'elle est valable pour toutes les planètes et lunes du Système Solaire. Dans le cas de Mars, elle est même plus importante que pour la Terre : la gravité et la hauteur d'échelle atmosphérique martiennes étant plus faibles, la distance de

décélération est plus longue, et la matière organique a plus de chance de résister à l'entrée atmosphérique. L'apport actuel est estimé à $2,4 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{an}^{-1}$ (Flynn, 1996). Mars aurait donc bénéficié, plus que la Terre, de l'apport exogène de matière organique. Comme de plus, il était largement admis jusque dans les années 90 que la Terre primitive et Mars primitive présentaient des conditions environnementales très similaires, Mars est devenue une cible privilégiée pour la recherche de traces – présentes ou passées – de vie extraterrestre.

1.1.3. Où chercher ? Que chercher ?

a) Où chercher ?

Depuis le début de la conquête spatiale, les missions externes au système Terre-Lune ont été largement focalisées sur la planète Mars. La première raison est technique : après Vénus (distante du soleil de $0,72 \text{ UA}^1$ en moyenne), Mars ($1,52 \text{ UA}$) est la planète la plus proche de la Terre. Or, dès 1962, la sonde Mariner 2 de la NASA survole Vénus et met en évidence des conditions environnementales particulièrement extrêmes (température et pression très élevées, avec 460°C en moyenne et 92 bar à la surface, conditions atmosphériques hostiles avec présence de nuages d'acide sulfurique, etc. (Sonett, 1963)). Les agences spatiales se tournent dès lors vers Mars.

Après la « déception » provoquée par les missions Viking 1 et 2, dont les atterrisseurs n'ont détecté aucune trace de vie à la surface de Mars, ce n'est qu'en 2004, suite au lancement de la mission Mars Express (2003-2016, ESA) que renaît un véritable intérêt pour Mars. Cette fois, c'est vers le passé de la planète que l'on se tourne. L'instrument OMEGA/Mars Express, a permis la détection de phyllosilicates, des argiles qui se forment par altération aqueuse des roches. Ce type de minéraux a été essentiellement détecté sur des terrains datant du Noachien², et leur présence implique qu'à cette période, de l'eau liquide pérenne existait à la surface (Bibring et al., 2006; Poulet et al., 2005) comme le suggéraient déjà les images de réseaux fluviaux prises par Mariner 9 (NASA, 1971). Il s'agirait donc aussi de l'époque où les conditions martiennes étaient les plus propices pour l'émergence d'une forme de vie organique. Il reste à identifier les sites les plus favorables à la préservation des molécules organiques, depuis le Noachien jusqu'à nos jours.

Sur Terre, la richesse des sédiments en matière organique ne semble pas liée à un lithofaciès en particulier mais serait associée à des sédiments présentant une granulométrie très fine, probablement du fait d'une capacité d'adsorption plus élevée (Tissot and Welte, 1984). En plus d'une grande surface spécifique (aire massique) pour l'adsorption, les phyllosilicates présentent une structure en feuillets fins et des surfaces chargées négativement, ce qui en fait des sites de fixation idéaux pour les molécules organiques (Summons et al., 2011). Pour permettre la préservation et la concentration de la matière organique dans des roches sédimentaires, un équilibre de conditions environnementales est de plus nécessaire entre le niveau d'énergie du cours d'eau et le taux de sédimentation. A cause de la faible densité des argiles et de la matière organique en suspension, les grains et particules sont emportés depuis les cours d'eau de haute énergie vers des eaux plus calmes où ils seront concentrés. Un taux de sédimentation trop élevée sera également néfaste car les

¹ UA = Unité Astronomique, basée sur la distance Terre-Soleil. Il s'agit de la distance au soleil d'une particule de masse négligeable sur une orbite ayant pour période orbitale 365,256 898 jours.

Une Unité Astronomique équivaut à 149 597 870, 691 km.

² Le Noachien est, avec l'Hespérien et l'Amazonien, l'une des trois époques géologiques de Mars. Cette période s'étend de la formation de la planète à $-3,7/-3,5 \text{ Ga}$, soit sur le premier milliard d'années environ.

molécules organiques seront alors diluées dans les minéraux, ce qui résultera en un sédiment pauvre en matière organique (Tissot and Welte, 1984).

Pour permettre la présence d'eau liquide, on a imaginé Mars primitive avec un climat plus hospitalier, humide, des températures plus douces, semblables à ceux de la Terre primitive. Cependant, les modèles climatiques peinent à obtenir un tel climat sur Mars, essentiellement à cause d'une trop faible irradiation solaire. De plus, il a été montré qu'aux hautes pressions – indispensables pour obtenir un effet de serre suffisant – CO₂ condensait, ce qui d'une part diminue l'effet de serre et d'autre part forme des nuages qui réduisent l'influx solaire en surface (Haberle, 1998; Kasting, 1991). Bien que l'existence passée d'eau liquide pérenne sur Mars ne soit plus discutable, il reste difficile de montrer que Mars a un jour été une jumelle climatique de la Terre.

Avec l'essor de l'exploration du Système Solaire (Cassini-Huygens 1997-2017 NASA/ESA, Juno/NASA lancée en 2011, JUICE/ESA prévue pour 2022) ainsi que l'observation d'exoplanètes aussi nombreuses que diverses (téléscopes spatiaux CoRoT/CNES, Kepler/NASA, futur JWST/NASA), Mars n'est plus l'unique objet d'attention des exobiologistes, qui se tournent de plus en plus vers ces nouveaux mondes représentant autant d'habitats possibles pour des formes de vie extraterrestre, que ce soit dans un océan sous les surfaces glacées des lunes Encelade, Europe, Callisto (Khurana et al., 1998) ou Ganymède (Kivelson et al., 2002), ou bien à la surface plus exotique d'une exoplanète. L'exploration des systèmes Saturnien et Jovien a en effet montré que la Terre n'est pas le seul objet du système Solaire à rassembler les conditions nécessaires à la formation de sources hydrothermales, à savoir de l'eau liquide en contact avec de la roche et une source de chaleur interne. Les planètes géantes telles que Jupiter ou Saturne exercent des forces de marées qui génèrent des frictions et donc de la chaleur à l'intérieur de leurs lunes. Si de plus, un océan ou lac sous-glaciaire est présent, l'hydrothermalisme extra-terrestre est tout à fait envisageable. C'est le cas pour le satellite saturnien Encelade qui émet des panaches de vapeur d'eau à plusieurs centaines de kilomètres de hauteur. La sonde Cassini a permis d'identifier par spectrométrie de masse des particules silicatées, des composés organiques et récemment de l'hydrogène moléculaire dans les panaches d'Encelade, ne laissant que peu de doute sur leur origine hydrothermale (Hsu et al., 2015; Waite et al., 2017).

Si la chimie atmosphérique a contribué à fournir sur Terre des molécules organiques prébiotiques, on comprend aisément tout l'intérêt porté vers le satellite saturnien Titan, seul autre objet tellurique du Système Solaire à posséder une atmosphère dense majoritairement constituée d'azote. L'atmosphère de Titan, qui exerce une pression à la surface d'environ 1,5 bar, s'étend jusqu'à approximativement 1500 km d'altitude (limite de détectabilité par l'accéléromètre de la sonde Huygens (Fulchignoni et al., 2005)). Comme sur Terre, elle est principalement constituée de diazote (N₂, rapport de mélange de 98% dans la stratosphère), les autres composés majoritaires étant le méthane (CH₄, 1,6% à 2% dans la stratosphère) et le dihydrogène (H₂, ~0,1%) (Flasar et al., 2005; Niemann et al., 2010, 2005). Cette composition génère une chimie organique complexe amorcée dans la haute atmosphère (thermosphère et ionosphère) où la dissociation de CH₄ et de N₂ par interaction avec des photons énergétiques (UV et EUV) ou par impact de particules énergétiques provenant de la magnétosphère de Saturne, produit des espèces hautement réactives : ions, radicaux, atomes excités (Krasnopolsky, 2009). Ces espèces réagissent ensuite entre elles pour former d'abord des hydrocarbures et nitriles simples (C₂H₂, HCN), puis des molécules organiques plus lourdes et plus complexes (Lavvas et al., 2008). Les petites particules solides issues de cette chimie s'agrègent, via des mécanismes microphysiques encore peu compris, pour former des particules vraisemblablement fractales qui croissent ensuite probablement par condensation en surface d'espèces de la phase gazeuse (Lavvas et al., 2011). Les aérosols ainsi formés constituent la brume orangée qui masque la

surface du satellite dans le domaine des longueurs d'onde visibles. Cette chimie organique complexe, à la fois en phase gazeuse, en phase particulaire et à la surface de Titan fait de l'environnement de Titan une cible de premier choix pour l'étude d'une chimie analogue à la chimie prébiotique dans le Système Solaire (Raulin, 2007). En janvier 2005, la sonde européenne Huygens a effectué une descente dans l'atmosphère de Titan. A son bord, l'expérience ACP (Aerosol Collector and Pyrolyser) a permis la collecte et la pyrolyse des aérosols *in situ* pour l'analyse par le chromatographe en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse de Huygens (Israël et al., 2005). Plusieurs approches permettent aujourd'hui d'étudier l'atmosphère de Titan : la télédétection, la modélisation numérique et la simulation en laboratoire (Raulin et al., 2012). Cette dernière fera par ailleurs l'objet du chapitre suivant, consacré à l'étude de la composition moléculaire de différents analogues de laboratoire des aérosols de Titan.

b) Que chercher ?

Il ne s'agit plus prioritairement aujourd'hui, comme au temps des missions Viking, de détecter des formes de vie active sur Mars, mais d'essayer de détecter et d'identifier les traces laissées par d'éventuels organismes ayant vécu il y a près de trois à quatre milliards d'années. Quelles traces ces organismes ont-ils pu laisser des milliards d'années après ? Sur Terre, une partie de la matière organique provenant des organismes vivants reste dans le cycle biologique lorsqu'elle est consommée par d'autres organismes (benthos, bactéries, ...). La part qui n'est pas recyclée sera incorporée dans les roches sédimentaires et c'est dans cette matrice qu'il faudra être capable de la détecter et de l'identifier. La composition chimique de cette matière organique va dépendre grandement de la nature de l'organisme qui en est à l'origine. Si des organismes vivants ont un jour habité Mars, comme souligné plus haut, ils ont dû apparaître il y a 4 milliards d'années environ. Il est en revanche plus difficile de savoir combien de temps ils ont existé et donc leur degré d'évolution. On peut cependant supposer que l'habitabilité à la surface de Mars a pris fin lorsque la dynamo de la planète s'est arrêtée et qu'elle a perdu son champ magnétique protecteur, soit il y a 3,9 à 4,1 milliards d'années (De Pater and Lissauer, 2001). L'absence du champ magnétique a entraîné une perte de l'atmosphère et donc un refroidissement, menant à l'extinction d'une éventuelle forme de vie (Friedmann and Koriem, 1989). Cela ne laisse donc qu'une centaine de millions d'années tout au plus à l'évolution, bien que rien n'empêche d'imaginer des organismes vivant en sous-surface dans le sol martien, protégés des conditions extrêmes de la surface, dans le cas où de l'eau liquide existerait en profondeur (Michalski et al., 2013). Une potentielle vie martienne n'aurait donc pas eu le temps d'atteindre un degré important d'évolution, probablement pas même suffisamment pour permettre la photosynthèse. Pas de comparaison possible avec la Terre donc, où la biomasse est représentée essentiellement par la cellulose, hémicellulose et lignine provenant des végétaux supérieurs. Il semble plus raisonnable d'imaginer les derniers organismes martiens vivant en surface ou sous-surface proches chimiquement d'organismes primitifs de type bactéries chimiotrophes. Les traces de vie que les roches martiennes ont pu préserver dépendent naturellement de la structure et du métabolisme de ces organismes.

Les possibilités de préservation dans les roches des traces d'organismes vivants ainsi que la manière dont ces traces vont se manifester aujourd'hui et donc leurs possibilités de détection ont été détaillées par différents auteurs (Cady et al., 2003; Farmer and Des Marais, 1999; Summons et al., 2011; Westall, 1999). On décrit trois types de biosignatures (Westall et al., 2015) : (i) les structures morphologiques telles que des cellules et produits cellulaires fossilisés, stromatolithes, biohermes, etc. (ii) les molécules organiques, soit liées à une matrice minérale de type phyllosilicates comme décrit plus haut, soit piégées à l'intérieur de cellules fossilisées, et (iii) les signatures d'activité métabolique de microorganismes telles que le fractionnement isotopique, l'homochiralité ou la production de

certain gaz (CH_4 , H_2S). D'après (Westall et al., 2015), « Les restes d'une potentielle vie chimiotrophique martienne seraient préservés de la même façon que les restes microbiens sur Terre, à savoir en tant que structures physiques, en tant que molécules carbonées homochirales complexes avec des signatures isotopiques spécifiques, ou encore d'autres types de biosignatures. » Reconnaître l'un de ces types de biosignatures en tant que tel peut par ailleurs s'avérer très complexe, dans la mesure où la plupart peuvent être reproduits de manière abiotique (Cady et al., 2003). Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons seulement aux signatures relevant de la matière organique, et plus particulièrement à la détection et à l'identification des molécules organiques avec les moyens dont nous pouvons disposer *in situ*. Détecter et identifier ce type de molécules représente en effet le premier défi, avant de pouvoir statuer sur l'origine biologique ou non des composés identifiés.

Comme souligné précédemment, Mars bénéficie en permanence et depuis sa formation d'un apport exogène de matière organique. Ces molécules abiotiques, associées éventuellement à un apport endogène, qu'il soit biotique ou abiotique, ont pu s'accumuler et être préservées dans les roches. Les conditions environnementales martiennes sont néanmoins très peu propices à la préservation de ces molécules en surface. La matière organique est soumise à une combinaison de facteurs destructeurs (Atreya et al., 2006; Sephton and Botta, 2008) : le rayonnement cosmique et solaire, le rayonnement X secondaire, la réactivité photochimique, le caractère oxydant de l'atmosphère et des minéraux contribuent à la dégradation des molécules volatiles fragiles, seules restant les composés plus réfractaires. Néanmoins, l'activité géologique martienne étant faible, les roches anciennes contenant de la matière organique ont plus de chance d'y être préservées que sur Terre. Les roches très anciennes contenant potentiellement de la matière organique d'origine biologique peuvent avoir été enfouies sous d'épaisses couches de sédiments accumulés au cours du temps ce qui implique la nécessité d'aller chercher des échantillons en profondeur et/ou analyser des sites ayant été exposés à une érosion importante et suffisamment récente. La présence de perchlorates dans le sol martien (Hecht et al., 2009) présente une complication supplémentaire dans la mesure où, au cours des analyses *in situ*, le chauffage de l'échantillon entraîne l'oxydation de la matière organique qu'il pourrait éventuellement contenir (Glavin and et al, 2013; Sephton et al., 2014; Steininger et al., 2012). De plus, les contraintes liées à l'instrumentation spatiale (contraintes de masse, volume, consommation d'énergie, robustesse, automatisation, etc.) rendent l'analyse de traces sur Mars bien plus problématique que sur Terre. Malgré ces difficultés, l'instrument SAM (Mars Science Laboratory, SML/NASA) a été capable de détecter dans le cratère Gale des traces de méthane (Webster et al., 2015), en quantité cependant bien plus faible que la détection réalisée depuis l'orbite par l'instrument PFS (Planetary Fourier Spectrometer) de la sonde Mars Express (Formisano et al., 2004). Du chlorobenzène et des dichloroalcanes (C_2 à C_4) ont également été détectés par SAM (Freissinet et al., 2015), mais sont certainement issus de la transformation en présence de perchlorates martiens d'une molécule endogène à Mars, dont il est impossible pour l'instant de statuer sur la source biotique ou abiotique.

Compte tenu de la diversité d'objets où il est aujourd'hui envisageable d'imaginer l'émergence d'une forme de vie, Mars présente un intérêt exobiologique particulier en tant que seul objet extraterrestre, accessible dans l'immédiat, où nous pouvons espérer trouver des traces de vie présente ou passée en menant des analyses *in situ*. L'implication d'une telle découverte serait bouleversante, tant pour les sciences dures, biologie et astrophysique en première ligne, que pour les aspects philosophiques ou théologiques.

1.2. Problématique liée à l'analyse de traces

Comme souligné dans la partie précédente, notre étude est focalisée sur la détection et l'identification des molécules organiques potentiellement présentes à l'état de trace dans le sol martien. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (notée CPG-SM par la suite) est l'une des rares techniques d'analyse moléculaire capable d'atteindre cet objectif tout en répondant aux contraintes de spatialisation. Ces contraintes ainsi que le principe de fonctionnement de la technique sont décrits dans les paragraphes qui suivent.

1.2.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

a) Choix de la technique analytique

Le choix de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour la recherche *in situ* de molécules organiques sur Mars repose sur un compromis entre deux types de contraintes :

- (i) Les molécules organiques qui auraient été préservées sur Mars seraient diluées dans la matrice minérale. Il faut donc un outil analytique suffisamment puissant pour détecter des composés présents à l'état de traces. A ce critère de sensibilité s'ajoute une exigence de précision. L'instrument doit être capable d'analyser qualitativement et quantitativement des mélanges complexes et d'identifier les constituants moléculaires.
- (ii) La vocation d'une analyse *in situ* impose un grand nombre de contraintes liées au spatial, dont certaines sont particulièrement rédhibitoires. Des techniques extrêmement performantes telles que la HRSM (High Resolution Mass Spectrometry) ou la HPLC (High Performance Liquid Chromatography) n'ont pas encore été spatialisés. Les extractions par solvant sont délicates du fait de la conservation problématique des solvants dans des conditions extrêmes de pression et de température, surtout dans le cas d'extractions en plusieurs étapes. Tous les composants doivent résister aux contraintes mécaniques (vibrations liées au décollage, accélérations, chocs liés à l'atterrissage) et aux conditions du milieu spatial : vide, cycles thermiques, rayonnements cosmiques. L'instrument doit être entièrement miniaturisé et automatisé. Il doit représenter une masse minimale pour le lanceur. Enfin, l'analyse en elle-même doit consommer le moins d'énergie possible et être la plus courte et simple possible (une seule étape de préférence).

Bien que de nouveaux instruments spatiaux soient en cours de développement (HRSM (Carrasco et al., 2012)) et compte tenu de toutes les qualités attendues, la CPG-SM est à ce jour une des seules techniques d'analyse moléculaire *in situ* à remplir tous les critères de spatialisation. Elle présente de plus l'avantage d'être utilisée depuis des décennies dans des missions spatiales d'envergure et bénéficier donc d'un héritage spatial garantissant sa fiabilité (Sternberg and Raulin, 2007). Dès 1976, les atterrisseurs martiens Viking/NASA embarquaient des CPG-SM pour la détection de molécules organiques (Biemann et al., 1977), et c'est encore le cas aujourd'hui avec le rover Curiosity (Mars Science Laboratory, MSL/NASA) et sa suite instrumentale SAM pour Sample Analysis at Mars (Mahaffy et al., 2012). La technique CPG-SM a aussi été employée sur d'autres objets que Mars. Le CPG-SM de la sonde européenne Huygens a effectué une analyse de l'atmosphère de Titan (Niemann et al., 2005, 2002) et de ses aérosols (Israel et al., 2002; Israël et al., 2005) après leur collecte et leur pyrolyse par l'expérience ACP (Aerosol Collector and Pyrolyser). Dernièrement, c'est lors de la mission Rosetta que le CPG-SM COSAC (COMetary SAMpling and Composition experiment (Goesmann

et al., 2015; Rosenbauer et al., 2012) présent à bord de l'atterrisseur Philae a permis de détecter seize molécules organiques différentes à la surface de la comète 67P/Churyumov-Gerasimenko, dont quatre (isocyanate de méthyle, acétone, propionaldéhyde et acétamide) qui étaient détectées pour la première fois sur une comète (Goesmann et al., 2015).

b) Principe de fonctionnement

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique analytique permettant la séparation des différents constituants d'un mélange initialement gazeux ou liquide, ou plus généralement, vaporisable. L'élément central de l'instrument est la colonne chromatographique. Il existe deux types de colonnes : les colonnes remplies et les colonnes capillaires, en silice fondue ou en métal, qui ont progressivement remplacé les colonnes remplies car elles possèdent un meilleur pouvoir de séparation et nécessitent de faibles quantités d'échantillon. La paroi interne de la colonne capillaire est recouverte d'une phase stationnaire greffée ou adsorbante. Il existe de nombreuses phases stationnaires adaptées à différents types d'analytes, les plus utilisées étant des polymères siliconés dérivés du diméthyl-polysiloxane car elles présentent une très bonne inertie chimique et thermique. La colonne est positionnée dans un four permettant la programmation de différentes séquences de températures. Elle est balayée en permanence par un gaz vecteur qui constitue la phase mobile. Les phases mobiles utilisées en CPG sont l'hydrogène, l'hélium, l'azote ou l'argon purs, régulés soit en débit soit en pression. Les analytes sont injectés dans la colonne via un injecteur chauffé au-delà de leur point d'ébullition, puis entraînés dans le flux du gaz vecteur au contact de la phase stationnaire par laquelle ils seront plus ou moins retenus. Les molécules constitutives du mélange à analyser ont un temps de migration dans la colonne qui est fonction de leur affinité avec la phase stationnaire ainsi que de leurs propriétés physico-chimiques. Ce temps d'éluion ou de rétention (noté par la suite RT pour Retention Time) est caractéristique de chaque molécule pour une colonne donnée et des conditions chromatographiques données. Une fois séparées en sortie de colonne, les molécules sont envoyées vers un ou plusieurs détecteurs. De nombreux types de détecteurs peuvent être couplés à un CPG, dont certains sont très spécifiques d'une catégorie de produits (halogénés, oxygénés, organométalliques, etc.). On notera le détecteur à ionisation de flamme, très utilisé car il permet de détecter la plupart des composés organiques avec une bonne sensibilité (10^{-10} g) et le catharomètre (détecteur à conductivité thermique, TCD) qui est universel, très robuste, mais avec une plus faible sensibilité (10^{-8} g) que le FID. Le spectromètre de masse (SM) reste le détecteur idéal car en plus d'être universel, il présente une excellente sensibilité (jusqu'à 10^{-18} mol pour les SM les plus récents) et permet surtout l'identification des molécules détectées.

Le SM est constitué d'une source d'ions, d'un analyseur et d'un détecteur. La source d'ions utilisée lors des analyses présentées ici est l'impact électronique (IE) mais d'autres types de source existent et sont adaptées pour la SM (ionisation chimique, MALDI, électrospray, ...). La source IE permet d'ioniser les molécules, en leur conférant généralement une charge positive. Elle est la source la plus utilisée en couplage avec la CPG car les composés sont ionisés en phase gazeuse. La source est réglée pour générer des électrons de 70 eV, ce qui est généralement, supérieur à l'énergie nécessaire pour l'ionisation des molécules organiques, l'excédent servant à la fragmentation de la molécule. Les ions moléculaires ne sont ainsi parfois pas préservés. Toutes les bibliothèques de référence en spectrométrie de masse sont réalisées à 70eV. Ce type d'ionisation/fragmentation présente l'avantage d'être très reproductible. Le signal généré par les fragments issus de l'ion moléculaire peut donc être comparé à ceux d'une bibliothèque de référence pour l'identification de la molécule. L'analyseur permet de séparer les fragments ioniques en fonction de leurs rapports masse sur charge m/z . Comme la charge z vaut généralement +1, le rapport m/z est le plus souvent égal à la masse du fragment.

L'analyseur utilisé pour les expériences décrites dans ce manuscrit est un quadripôle. Il est constitué de quatre barreaux disposés parallèlement deux par deux. Une différence de potentiel (ddp) et un champ radiofréquence (RF) sont appliqués aux barreaux de sorte que pour une paire de valeurs de ddp-RF seuls les ions ayant une énergie cinétique bien précise peuvent passer entre les barreaux, tandis que les autres entrent en collision avec eux. Le scan des masses se fait lorsque la ddp et la RF varient ensemble, permettant successivement le passage d'ions avec des rapports m/z différents. Le détecteur est un multiplicateur d'électrons constitué d'une série de dynodes et qui permet de transformer le flux ionique en flux électronique. Les ions vont arracher des électrons de la surface métallique d'une première électrode (dynode). Les électrons secondaires ainsi émis vont se diriger vers la seconde dynode et provoquer l'émission d'électrons supplémentaires et ainsi de suite. Le flux d'électrons sera amplifié de dynode en dynode jusqu'à obtenir un courant exploitable. Le gain est généralement de $3 \cdot 10^5$ électrons par ion. Le signal est ensuite relayé à l'ordinateur pour le traitement informatique.

Afin de mener à bien une analyse CPG-SM, il est indispensable que l'échantillon soit volatil ; un chauffage modéré permet alors l'élution des analytes sans décomposition thermique. Dans le cas d'échantillons organiques solides polaires, peu volatils, ou fortement liés à une matrice minéralogique, la désorption, l'extraction et la volatilisation des molécules d'intérêt nécessitent des températures élevées, voire une pyrolyse, pouvant provoquer leur craquage thermique et leur dégradation. Pour réaliser l'analyse à des températures plus basses et ainsi pallier le problème de la dégradation thermique des composés organiques, des techniques de chimie humide ont été développées et adaptées à l'analyse *in situ*. C'est le cas de la dérivation chimique et de la thermochimolyse.

1.2.2. Dérivation chimique au MTBSTFA

Le processus de dérivation chimique consiste à modifier, grâce à un agent de chimie dit de dérivation ou de fonctionnalisation, un ou plusieurs groupements fonctionnels d'un analyte, dans le but d'augmenter sa volatilité, diminuer sa polarité, réduire son adsorption sur les parois de l'appareillage, améliorer la réponse du détecteur et améliorer la symétrie et la séparation des pics chromatographiques. En CPG, les groupements chimiques visés par la dérivation sont ceux possédant des hydrogènes actifs et pouvant par conséquent former des liaisons hydrogènes intermoléculaires, ce qui réduit leur volatilité.

L'agent de dérivation doit conduire à un taux de produits dérivés proche de 100% (> 95%) et ne doit pas entraîner de perte d'échantillon au cours de la réaction. Le produit dérivé doit quant à lui être stable au cours du temps, et ne pas interagir chimiquement avec la phase stationnaire de la colonne chromatographique.

Trois types de réactions sont utilisés pour la dérivation en CPG : l'alkylation, l'acylation et la silylation. Le N-méthyl-N-t-butyldiméthylsilyltrifluoroacétamide (MTBSTFA) fait partie de nombreux réactifs utilisés pour la dérivation chimique par silylation. Le MTBSTFA réagit avec les composés possédant des hydrogènes labiles (dont les acides carboxyliques, alcools, acides aminés, amines primaires et secondaires) pour les substituer par un groupement t-butyldiméthylsilyl (t-BDMS). Les molécules dérivées ainsi formées sont volatiles (Scott, 2003), plus résistantes à l'hydrolyse, présentent une grande stabilité thermique, et ont une signature de fragmentation bien distincte, ce qui rend leur identification plus facile en CPG-SM (Orata, 2012).

La réaction générale de dérivatisation par le MTBSTFA d'une molécule possédant un atome d'hydrogène labile est montrée en Figure 1-1.

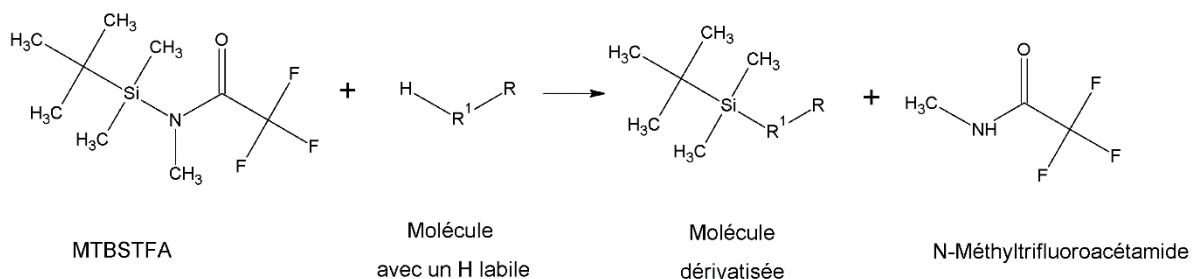


Figure 1-1 Réaction de dérivatisation d'une molécule avec un hydrogène labile par le MTBSTFA. $R^1 = O, S, NH, NR^2, COO$; $R, R^2 = Ar, Alk$.

Le MTBSTFA étant un agent de dérivatisation universel, à savoir sensible à tous les composés possédant des hydrogènes acides, il est couramment utilisé en prétraitement d'échantillons peu volatils destinés à une analyse en CPG. La réaction de silylation par le MTBSTFA a été optimisée sur des acides aminés standards par (MacKenzie et al., 1987) montrant que les conditions optimales sont un chauffage à 75°C pendant 30 minutes. La faisabilité de la dérivatisation a ensuite été démontrée sur des échantillons aussi variés que des sédiments d'Antarctique (Bishop et al., 2013), le sol du désert d'Atacama, Chili ((Buch et al., 2009, 2006; Stalport et al., 2012), des extraits de la bactérie E. Coli (Glavin et al., 2006), des sédiments issus du fleuve Rio Tinto, Espagne (Stalport et al., 2012), un fragment de la météorite de Murchison (chondrite carbonée) (Stalport et al., 2012) et un stromatolithe de Svalbard, Norvège (Stalport et al., 2012).

1.2.3. Thermochimiolyse en présence de TMAH

La thermochimiolyse allie la pyrolyse analytique, à savoir le chauffage de l'échantillon à haute température (200°C à 1000°C selon l'échantillon à analyser), à la dérivatisation chimique. La pyrolyse (ou thermolyse) seule permet d'extraire les molécules de l'échantillon de sol et de les volatiliser. En général, l'extraction et la volatilisation par chauffage à haute température sont accompagnées de la décomposition thermique des composés organiques.

L'utilisation d'un sel d'ammonium quaternaire pendant la thermolyse permet d'une part de protéger les composés thermolabiles et ainsi de préserver leur information structurale et d'autre part de séparer par chromatographie les molécules polaires et non-polaires en une seule analyse. Des composés possédant des hydrogènes labiles tels que les hydrogènes des fonctions hydroxyles (-OH), amines (-NH₂) ou encore acides carboxyliques (-COOH), voient cet atome substitué par un groupement alkyle lorsqu'ils sont mis en présence d'un sel d'ammonium quaternaire puis chauffés. Les dérivés alkylés ainsi obtenus sont moins polaires et plus volatils, et donc analysables en CPG. En plus d'améliorer la volatilité des composés cibles, le sel d'ammonium quaternaire allié au chauffage améliore l'extraction des molécules de l'échantillon de sol en coupant les liens entre la matière organique et la matrice minéralogique. Ces actions combinées permettent de réduire la température d'analyse par rapport à une pyrolyse simple et donc de limiter la dégradation thermique de composés fragiles. La thermochimiolyse est un traitement chimique plus agressif que la dérivatisation et cible la matière organique la plus réfractaire : acides gras, lipides, hydrocarbures aromatiques polycycliques.

L'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) utilisé au cours de cette étude est l'un des agents les plus couramment employés pour effectuer des réactions de thermochimioolyse (Challinor, 2001). La Table 1-1 donne la formule et les principales propriétés du TMAH. La Figure 1-2 montre le mécanisme réactionnel proposé par (Kossa et al., 1979) et toujours accepté pour expliquer la thermochimioolyse en présence de TMAH. Le TMAH réagit avec les composés possédant des hydrogènes labiles pour les substituer par un groupement méthyle ($-\text{CH}_3$).

Les effets du solvant dans lequel le TMAH est dilué (eau ou méthanol) sur la réaction ont été étudiés par (Venema and Boom-van Geest, 1995). Des taux de méthylation plus élevés ont été obtenus avec le méthanol pour les acides carboxyliques et les groupements amines aromatiques. L'utilisation de TMAH en solution aqueuse conduit de plus à une dégradation plus importante des dérivés méthylés que lorsque le méthanol est employé. (Ishida et al., 1995) ont montré que le solvant contribuait également, dans une certaine mesure, aux méthylations. Ainsi, les composés méthylés ne sont pas seulement formés par hydrolyse par le TMAH, mais également par méthanolyse. Par conséquent, le TMAH utilisé ici est une solution à 25% en masse dans du méthanol.

On notera également que lorsque le TMAH est chauffé au contact de la silice, il se décompose en méthanol et triméthylamine (Ikeda et al., 2003). L'impact de cette décomposition sur la fonctionnalisation n'a pas été étudié, car (Ikeda et al., 2003) ont utilisé le TMAH en tant que catalyseur de réaction de dépolymérisation et non en tant qu'agent de fonctionnalisation.

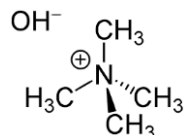
Structure du TMAH (représentation de Cram)	
Formule brute	$\text{C}_4\text{H}_{13}\text{NO}$
Masse molaire	$91,154 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Point de fusion	63°C
Solubilité dans l'eau (25°C)	$10^6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Densité (25°C , solution à 25% dans du méthanol)	$0,866 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$
pKb	4,2

Table 1-1 Principales propriétés de l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH).

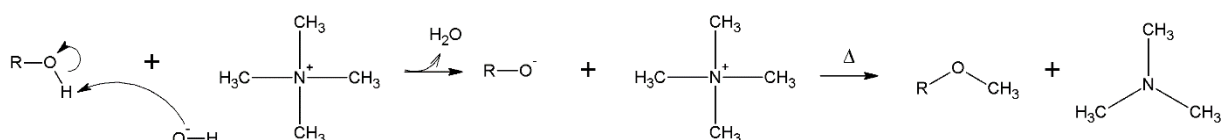


Figure 1-2 Mécanisme réactionnel de méthylation lors d'une thermochimioolyse en présence de TMAH, adapté de Kossa et al. 1979.

La thermochimioolyse en présence de TMAH est couramment utilisée pour caractériser en laboratoire la matière organique dans les échantillons naturels terrestres tels que le sol de forêt (Allard and Derenne, 2013), les acides fulviques (Lehtonen et al., 2000), l'albumine bovine (Zang et al., 2001), le sol du désert d'Atacama (Geffroy-Rodier et al., 2009), mais aussi pour la caractérisation de polymères de synthèse (Challinor, 1989), pour l'étude de mécanisme chimiques et thermiques mis en

jeu lors de la thermochimieolyse sur des standards analytiques d'hydrates de carbones (Fabbri and Helleur, 1999) et d'acides aminés et dipeptides (Gallois et al., 2010, 2007) ou encore à des fins de comparaison avec d'autres agents de dérivation (Meierhenrich and Thiemann, 2001). Ces études ont montré que le TMAH permettait d'extraire et/ou méthyler puis d'identifier par CPG-SM un large nombre de composés dont des acides carboxyliques et hydroxy-carboxyliques, alcools, hydrates de carbone, acides aminés, alcènes et hydrocarbures aromatiques. Bien que toutes les thermochimieolyses précédemment citées aient été réalisées à des températures variables d'une étude à l'autre, allant de 280°C (Meierhenrich and Thiemann, 2001) à 770°C (Challinor, 1989), certains auteurs ont comparé les pyrolysats obtenus à différentes températures. (Lehtonen et al., 2000) ont pyrolysé à 300°C, 450°C et 600°C des acides fulviques préalablement traités au TMAH à 100°C pendant 10 minutes et concluent que 600°C sont nécessaires pour détecter les sous-unités aromatiques les plus liées à la matière humique. L'optimisation des conditions de thermochimieolyse des carbohydrates par (Fabbri and Helleur, 1999) montre aussi que des températures supérieures à 550°C donnent de meilleurs rendements pour les composés méthylés de hautes masses moléculaires et une meilleure reproductibilité.

Néanmoins, ces études ont été réalisées dans des conditions de laboratoire et faisant souvent appel à des conditions ou techniques non applicables dans le spatial (prétraitements par extraction par solvant, hydrolyse acide ou basique, traitement chimique ou thermique sous atmosphère terrestre, off-line et multi-étapes). Afin d'assurer la réussite d'une analyse de sol martien, la thermochimieolyse doit être optimisée dans des conditions similaires ou les plus proches possible de celles qui seront applicables *in situ* en termes de quantités d'analytes et de réactifs, de temps, d'étapes et de températures.

1.2.4. L'extraction solide-liquide simple par solvant

La technique de l'extraction solide-liquide fait appel à un solvant et ne fait donc pas partie des techniques aisément spatialisables. Elle a cependant été utilisée dans le cadre de cette étude pour caractériser le contenu organique des échantillons.

L'extraction solide-liquide a pour but d'extraire, de séparer ou de dissoudre, par immersion (ou arrosage) dans un liquide (le solvant), certains composants – solides ou liquides – mélangés à un solide. De nombreux paramètres interviennent dans l'efficacité de l'extraction : état du solide et du soluté, nature du solvant, température, pH, degré d'agitation des phases, humidité (Leybros and Frémeaux, 1990). Les phénomènes physico-chimiques mis en jeu lors de l'extraction solide-liquide sont donc très complexes et leur analyse sort du cadre de l'étude. On retiendra qu'il s'agit de réaliser un transfert de matière (ici de la matière organique) entre une phase solide (ici la phase minérale du sol) et une phase liquide (le solvant), le but étant de rendre cette matière directement analysable en CPG.

Le choix du solvant est crucial, car les molécules organiques présentes dans le sol peuvent être de natures très variées, en particulier en termes de polarité, et elles doivent être solubles dans le solvant pour que l'extraction soit efficace. Il est également préférable que le solvant soit plus volatil que les composés à extraire pour qu'il soit élué en début d'acquisition. Dans le cadre de cette étude, le choix du solvant s'est appuyé sur une précédente étude par (Buch et al., 2006) montrant que le mélange 1 : 1 d'eau et d'isopropanol est le plus pertinent pour extraire une large gamme de composés tout en limitant une éventuelle dissolution de sels dans le solvant, ces derniers pouvant être gênants lors de l'étape de dérivation.

Afin d'en améliorer le rendement et la cinétique, l'extraction que nous avons mise en œuvre a été assistée par ultrasons. Les ultrasons dits de puissance (16kHz à 1MHz) modifient les propriétés du milieu dans lequel ils se propagent et créent des variations de densité dans les liquides. Des bulles, ou cavités, se forment alors dans les zones de faible densité, puis grandissent jusqu'à imploser, créant

localement des conditions extrêmes de pression et de température. C'est le phénomène de cavitation acoustique. Il facilite le transfert de masse entre la phase solide et la phase liquide en augmentant l'interface de contact entre les deux phases, en cassant les liaisons de Van der Waals et en homogénéisant le liquide afin que le solvant saturé de reste pas au contact de la surface d'échange. L'extraction assistée par ultrasons est couramment employée pour extraire notamment les hydrocarbures aromatiques depuis des échantillons solides (Sun et al., 1998) car elle permet d'obtenir de meilleurs rendements d'extraction en des temps plus courts que la traditionnelle méthode de Soxhlet.

1.3. La simulation en laboratoire et l'analyse *in situ* : deux approches pour l'étude de la chimie prébiotique et la détection de traces de vie

1.3.1. Simulation d'atmosphère en laboratoire

a) Les chambres de simulation atmosphérique

Les premières chambres de simulation atmosphérique sont apparues dans les années 60 et ont d'abord été développées pour l'étude de la formation et de l'évolution chimique de polluants dans l'atmosphère terrestre. Il s'agit de caissons de tailles variables, contenant un mélange gazeux de composition chimique choisie, à pression et température contrôlées. Le système peut être fermé ou sous flux continu de gaz balayant le caisson. Une source d'énergie externe peut être appliquée pour initier la chimie en phase gazeuse (électricité, rayonnement, décharge plasma, ...). Une revue sur le développement de ce type de chambre a été réalisée par (Becker, 2006).

Le Laboratoire Interuniversitaire des Systèmes Atmosphériques (LISA, Créteil, France) possède par exemple les expériences CSA (Chambre de Simulation Atmosphérique) pour la simulation expérimentale des mécanismes chimiques régissant l'évolution des polluants organiques dans l'atmosphère et CESAM (Chambre Expérimentale de Simulation Atmosphérique Multiphasique) spécifiquement dédiée à l'étude des processus atmosphériques multiphasiques (Wang et al., 2011). Parmi les systèmes expérimentaux d'envergure, on peut également citer les chambres LPCA-one et CHARME (CHamber for Atmospheric Reactivity and Metrology of the Environment) au Laboratoire de Physico-Chimie de l'Atmosphère (LPCA, Dunkerque, France) pour l'étude de la réactivité des composés organiques volatiles (COVs) avec les principaux oxydants atmosphériques (les radicaux $\cdot\text{OH}$ et $\cdot\text{NO}_3$, l'ozone et les atomes de chlore) et les trois plus grande plateformes européennes ouvertes à la communauté scientifiques internationale qui sont HELIOS à l'Institut de Combustion, Aérothermique, Réactivité et Environnement (ICARE-CNRS, Orléans, France) (Ren et al., 2017), EUPHORE (EUropean PHOtoREactor, Valence, Espagne) (Muñoz et al., 2011) et SAPHIR (Simulation of Atmospheric PHotochemistry In a large Reaction Chamber, Jülich, Allemagne) (Karl et al., 2006; Rohrer et al., 2005; Wisthaler et al., 2008).

La simulation d'atmosphères en laboratoire représente également une alternative ou un moyen complémentaire à l'exploration et l'analyse planétaire *in situ*, avec des coûts moins élevés, une mise en œuvre plus rapide et sans les contraintes analytiques et techniques liées au spatial. De fait, les installations de laboratoire telles que la chambre PASC (Planetary Atmosphere and Surfaces Chamber, Espagne) (Mateo-Marti, 2014), peuvent reproduire les conditions atmosphériques ou de surface de la plupart des objets du Système Solaire. La Chambre de Simulation Atmosphérique (CSA) du LISA a aussi été utilisée pour simuler la photochimie de l'atmosphère de Titan et l'environnement cométaire (Gazeau et al., 2000). Compte tenu de l'intérêt particulier suscité par la planète Mars, de nombreuses

chambres ont été développées pour simuler spécifiquement les conditions martiennes : MARTE (Sobrado et al., 2014), MARSWIT (Greeley et al., 1980), EXOCAM (Rannou et al., 2001), MECSH (Jensen et al., 2008), (Chevrier et al., 2007),... De même, de nombreux dispositifs – recensés dans les revues de (Cable et al., 2012) et (Coll et al., 2013) – permettent de reproduire la chimie atmosphérique du satellite saturnien Titan, dont l'expérience PAMPRE décrite ci-dessous et, parmi les plus récemment développés, le réacteur APSIS (Atmospheric Photochemistry Simulated by Synchrotron) qui permet de reproduire la réactivité dans les hautes atmosphères planétaires, dont celle de Titan, avec une source d'énergie synchrotron (Peng et al., 2013).

b) L'expérience PAMPRE

Le dispositif PAMPRE (Production d'Aérosols en Microgravité par Plasmas REactifs, LATMOS, Guyancourt, France) sur lequel ont été réalisées les expériences présentées dans le chapitre 2 a été conçu pour la synthèse et l'analyse d'analogues d'aérosols de Titan, et pour aider à l'interprétation des résultats de l'expérience ACP de la sonde Huygens. Le réacteur est composé d'une chambre cylindrique en acier inoxydable (30 cm de diamètre, 40 cm de hauteur) à l'intérieur de laquelle deux électrodes cylindriques permettent de générer une décharge radiofréquence (RF) à 13,56 MHz (Szopa et al., 2006). La décharge RF dans une chambre à basse pression produit un plasma froid, à savoir un plasma où la température électronique peut atteindre plusieurs milliers de degrés Celsius, mais où la température des espèces neutres n'est que faiblement supérieure à l'ambiante (Sagan et al., 1992). Le plasma ainsi généré est confiné à l'intérieur d'une cage métallique grillagée, dont le potentiel est porté à celui de la masse. Le mélange gazeux étudié – ici un mélange CH_4/N_2 – est injecté en continu à travers l'électrode supérieure et pompé par une pompe à vide primaire de sorte à maintenir un débit et une pression constants dans la chambre de réaction. Le rapport de mélange peut être ajusté entre 0 % et 10 % de méthane en mélangeant du diazote pur avec un pré-mélange CH_4/N_2 contenant 10 % de CH_4 . Lorsque le gaz traverse le plasma, les électrons ionisent et dissocient les molécules de diazote et de méthane. La création d'ions et de radicaux par impact électronique initie ainsi la chaîne réactionnelle et la croissance des molécules, pour aboutir à la production d'hydrocarbures et de molécules organiques azotées, qui s'associent pour former in fine des particules solides, les tholins (Kuga et al., 2014). Un cristalliseur en verre, destiné à recueillir les particules solides générées entoure la cage.

La particularité du dispositif PAMPRE réside dans le maintien en lévitation des particules au cours de leur formation. Le champ électrique entre les électrodes permet aux grains électriquement chargés (négativement) de croître en volume dans la phase gazeuse, et de s'affranchir ainsi des effets de paroi, tandis que dans d'autres montages à décharge plasma, les tholins se déposent sous forme de films sur des substrats solides (Coll et al., 1998).

1.3.2. L'expérience SAM à bord du rover Curiosity

L'acronyme SAM pour Sample Analysis at Mars désigne une suite instrumentale présente à bord du rover Curiosity de la mission Mars Science Laboratory (MSL, NASA). Le rover s'est posé sur Mars, dans le cratère Gale, en août 2012 avec pour principaux objectifs d'étudier le climat, caractériser la géologie et évaluer l'habitabilité actuelle et passée de la planète. La suite analytique SAM représente 40 kg sur 75 kg de charge utile embarquée. SAM est constitué de trois instruments dont une description détaillée peut être consultée dans (Mahaffy et al., 2012) :

- Un spectromètre laser accordable (Tunable Laser Spectrometer, TLS) pour la mesure des abondances isotopiques du carbone, oxygène et hydrogène dans les gaz atmosphériques (H_2O , CO_2 , CH_4), développé par le Jet Propulsion Laboratory (NASA, USA),

- Un chromatographe en phase gazeuse (Gas Chromatograph, CPG) pour la séparation des constituants de mélanges gazeux, développé conjointement par les laboratoires français LATMOS (Laboratoire des Atmosphères, Milieux, et Observations Spatiales, Guyancourt) et LISA (Laboratoire Interuniversitaires des Systèmes Atmosphériques, Créteil),
- Un spectromètre de masse quadripolaire (Quadrupole Mass Spectrometer, QMS) pour l'identification moléculaire des échantillons, développé par le Goddard Space Flight Center (GSFC, NASA, USA). Le QMS de SAM permet l'analyse de composés dans une gamme de masses comprises entre 2 et 535 Da avec une résolution en masse de 1 Da.

Les trois instruments fonctionnent de manière indépendante ou couplée afin de fournir des informations complémentaires sur l'atmosphère d'une part et sur le sol d'autre part, moyennant le chauffage préalable des échantillons solides pour extraire les composés volatils. SAM-CPG-SM a de plus été spécialement conçu pour détecter et identifier des molécules organiques qui peuvent être extraites thermiquement ou chimiquement depuis les échantillons de sol.

Afin que la gamme de composés analysables par SAM soit la plus large possible, SAM-CPG possède six voies analytiques indépendantes comprenant six colonnes chromatographiques métalliques de 30 m de long et 0,25 mm de diamètre interne, dont les noms, les phases stationnaires et les espèces ciblées sont détaillés dans la Table 1-2. Cinq de ces voies sont équipées de catharomètres, des détecteurs à conductivité thermique qui, bien que de faible sensibilité, présentent l'avantage d'être petits, robustes et surtout non destructifs, ce qui permet une analyse SM en aval.

SAM dispose d'un carrousel de 74 récipients, en quartz ou en métal, répartis en deux cercles concentriques, destinés à recevoir les échantillons solides. 59 des récipients en quartz sont consacrés à l'expérience Evolved Gas Analysis (EGA), destinée à l'analyse des composés volatilisés du sol par chauffage ou pyrolyse de l'échantillon dans le four de SAM pouvant atteindre 950°C. L'analyse consiste à sélectionner une masse donnée et à suivre par SM la quantité de molécules ayant cette masse, volatilisées en fonction de la température.

La détection de certains composés cibles tels que les acides aminés, les acides carboxyliques, ou les bases pyrimidiques nécessite un traitement de chimie humide afin de transformer ces composés en espèces volatiles et transférables au CPG. Par conséquent, neuf récipients métalliques de SAM sont consacrés à l'expérience de chimie humide dont 7 contiennent 0,5 mL d'un mélange 4:1 de MTBSTFA et de DMF et 2 contiennent une solution de TMAH (à 25% dans du méthanol).

Trois des colonnes chromatographiques de SAM (CPG4, CPG5 et CPG6) sont associées à des pièges chimiques individuels permettant une préconcentration de la matière organique et son injection ponctuelle dans la colonne chromatographique. Deux de ces pièges utilisent du Tenax GR[®] comme adsorbant alors que le troisième utilise du Carbosieve[®] S-III. Le Tenax[®] est dédié aux molécules organiques volatiles en C3-C12 alors que le Carbosieve[®] est plus adapté pour les gaz, les molécules volatiles inorganiques et les composés organiques les plus légers (C1-C3).

Colonne	Phase stationnaire	Espèces ciblées
CPG1-MXT 20 (WCOT)	Polydiméthylsiloxane avec 20% de phenyl	Masses moléculaires intermédiaires (C5–C15)
CPG2-MTX 5 (WCOT)	Polydiméthylsiloxane avec 5% de phenyl	Masses moléculaires élevées (>C15)
CPG3-Carbobond (PLOT)	Carbon molecular sieve	Gaz permanents et hydrocarbures en C1–C2
CPG4-Chirasil-β Dex CB	β cyclodextrine	Enantiomères de VOCs
CPG5-MXT CLP (WCOT)	Polydiméthylsiloxane avec phenyl et cyanopropyle	Masses moléculaires intermédiaires (C5–C15)
CPG6-MXT Q (PLOT)	Divinylbenzène	VOCs en C1–C4, NH ₃ , composés soufrés

Table 1-2 Les colonnes chromatographiques de SAM-CPG. PLOT = porous layer open tubes; WCOT = wall coated open tubular; VOC = volatile organic compounds (composés organiques volatiles). Adapté de (Mahaffy et al., 2012).

1.3.3. L'expérience MOMA pour la mission ExoMars-2020

La suite instrumentale Mars Organic Molecule Analyzer, MOMA, fera partie des neuf expériences embarquées à bord du rover ExoMars, qui devrait être lancé en 2020 et effectuer le premier atterrissage européen d'un rover sur Mars. MOMA est une expérience analogue à SAM, et tout comme SAM, elle est constituée de trois instruments (Buch et al., 2014; Goesmann et al., 2017; Goetz et al., 2016) :

- Un laser à désorption (LD) développé par l'entreprise LZH, Hanovre et le Max-Planck-Institut (Allemagne) pour la désorption et l'ionisation d'une petite surface de l'échantillon,
- Un chromatographe en phase gazeuse (CPG) développée conjointement par le LATMOS (Guyancourt, France), le LISA (Créteil, France) et le LGPM (Gif-sur-Yvette, France), pour la séparation des constituants de mélanges gazeux,
- Un spectromètre de masse à trappe d'ion (ITMS) développé par le GSFC (NASA, USA), pour l'identification de composés préalablement désorbés par laser (mode LD-SM) ou bien volatilisés par pyrolyse/thermochimiolysse/dérivatisation et séparés par CPG (mode CPG-SM). L'ITMS de MOMA peut analyser des masses allant jusqu'à 1000 Da avec une résolution en masse comprise entre 1 et 2 Da.

MOMA-CPG est équipé de quatre colonnes chromatographiques (MXT-5, MXT-CLP, MXT-Q-BOND, Chirasil-Dex), dont une colonne chirale pour la séparation d'énantiomères, reliées (sauf la colonne MXT-5) à des catharomètres (TCD). Les colonnes sont associées en amont à des pièges chimiques à base de Tenax GR® (Brinckerhoff et al., 2015) pour la préconcentration des molécules. Le chauffage « flash » des pièges à 300°C libère les molécules qui sont entraînées par un flux continu d'hélium pour une injection ponctuelle dans la colonne.

Les 21 récipients de MOMA, destinés à recevoir chacun environ 150 mm³ d'échantillons solides, sont de petits fours individuels disposés en carrousel. Comme sur SAM des expériences de chimie humide sont prévues en présence de MTBSTFA et de TMAH, avec une expérience supplémentaire de dérivation par le N,N-diméthylformamide diméthyl-acétal (DMF-DMA). Le DMF-DMA est un agent de fonctionnalisation qui remplace les hydrogènes labiles par des groupements méthyle en préservant les éventuels centres chiraux de la molécule. La séparation énantiomérique sur colonne chirale peut ainsi être réalisée même sur les composés peu volatiles (Freissinet, 2010). Les molécules particulièrement ciblées sont les acides aminés et les acides carboxyliques possédant des centres chiraux.

L'objectif principal de MOMA est, tout comme celui de SAM, de rechercher la matière organique dans le sol et l'atmosphère de surface avec, de plus, la possibilité de statuer sur l'origine biotique ou abiotique des composés chiraux grâce à l'analyse énantiomérique.

Le rover ExoMars sera équipé d'une foreuse et capable de forer et prélever du sol jusqu'à 2 mètres de profondeur, tandis que Curiosity avait la possibilité de creuser jusqu'à 5cm seulement. MOMA aura donc également l'avantage sur SAM d'analyser des échantillons provenant du sous-sol de Mars, où la matière organique est protégée de la dégradation oxydative et radiative qui a lieu en surface.

Dans les travaux présentés ci-après, nous nous sommes en premier lieu intéressés à la composition moléculaire des tholins, analogues des aérosols organiques de Titan. Nous avons synthétisé en laboratoire différents tholins grâce à l'expérience PAMPRE, puis nous les avons analysés par Pyr-CPG-SM. Dans un second temps, nous avons travaillé avec un échantillon bien plus pauvre en matière organique : un analogue terrestre de sol martien nommé JSC-Mars-1. Les échantillons de JSC-Mars-1 nous ont permis de mener des études d'optimisation de la thermochimie pour une application à l'analyse *in situ* du sol martien par les instruments SAM et MOMA. Enfin, dans la dernière partie, nous avons utilisé des standards analytiques de nucléobases dont nous avons étudié la détectabilité par la technique de thermochimie et déterminé la température optimale d'analyse. Une base de données a été réalisée afin de faciliter l'identification *in situ* de cette famille de molécules.

Bibliographie

- Allard, B., Derenne, S., 2013. Characterization of soil organic matter using microwave assisted acid and base hydrolysis. *Org. Geochem.* 65, 103–117. doi:10.1016/j.orggeochem.2013.10.009
- Anders, E., 1989. Pre-biotic organic matter from comets and asteroids 342, 255. doi:10.1038/342255A0
- Atreya, S.K., Wong, A.-S., Renno, N.O., Farrell, W.M., Delory, G.T., Sentman, D.D., Cummer, S.A., Marshall, J.R., Rafkin, S.C.R., Catling, D.C., 2006. Oxidant enhancement in martian dust devils and storSM: implications for life and habitability. *Astrobiology* 6, 439–50. doi:10.1089/ast.2006.6.439
- Becker, K.H., 2006. Overview on the Development of Chambers for the Study of Atmospheric Chemical Processes, in: *Environmental Simulation Chambers: Application to Atmospheric Chemical Processes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 1–26. doi:10.1007/1-4020-4232-9_1
- Bersini, H., Reisse, J., 2007. Comment définir la vie? : les réponses de la biologie, de l'intelligence artificielle et de la philosophie des sciences. Vuibert.
- Bibring, J.-P., Langevin, Y., Mustard, J.F., Poulet, F., Arvidson, R., Gendrin, A., Gondet, B., Mangold, N., Pinet, P., Forget, F., Berthé, M., Bibring, J.-P., Gendrin, A., Gomez, C., Gondet, B., Jouglet, D., Poulet, F., Soufflot, A., Vincendon, M., Combes, M., Drossart, P., Encrenaz, T., Fouchet, T., Merchiorri, R., Belluci, G., Altieri, F., Formisano, V., Capaccioni, F., Cerroni, P., Coradini, A., Fonti, S., Korabiev, O., Kottsov, V., Ignatiev, N., Moroz, V., Titov, D., Zasova, L., Loiseau, D., Mangold, N., Pinet, P., Douté, S., Schmitt, B., Sotin, C., Hauber, E., Hoffmann, H., Jaumann, R., Keller, U., Arvidson, R., Mustard, J.F., Duxbury, T., Forget, F., Neukum, G., 2006. Global Mineralogical and Aqueous Mars History Derived from OMEGA/Mars Express Data. *Science* (80-). 312, 400–404. doi:10.1126/science.1122659
- Biemann, K., Oro, J., Toulmin, P., Orgel, L.E., Nier, A.O., Anderson, D.M., Simmonds, P.G., Flory, D., Diaz, A. V., Rushneck, D.R., Biller, J.E., Lafleur, A.L., 1977. The search for organic substances and inorganic volatile compounds in the surface of Mars. *J. Geophys. Res.* 82, 4641–4658. doi:10.1029/JS082i028p04641
- Bishop, J.L., Franz, H.B., Goetz, W., Blake, D.F., Freissinet, C., Steininger, H., Goesmann, F., Brinckerhoff, W.B., Getty, S., Pinnick, V.T., Mahaffy, P.R., Dyar, M.D., 2013. Coordinated analyses of Antarctic sediments as Mars analog materials using reflectance spectroscopy and current flight-like instruments for CheMin, SAM and MOMA. *Icarus* 224, 309–325. doi:10.1016/j.icarus.2012.05.014
- Botta, O., Bada, J.L., 2002. Extraterrestrial organic compounds in meteorites. *Surv. Geophys.* 23, 411–467. doi:10.1023/A:1020139302770
- Brinckerhoff, W.B., Danell, R.M., Van Amerom, F.H., Pinnick, V.T., Arevalo, R.D., Hovmand, L., Li, X., Chu, Z., Mahaffy, P.R., Goesmann, F., Steininger, H., Goetz, W., 2015. Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA) Mass Spectrometer status and science operations on the ExoMars rover, in: *46th Lunar and Planetary Science Conference*. p. 2579. doi:10.1109/AERO.2013.
- Brinton, K.L.F., Engrand, C., Glavin, D.P., Bada, J.L., Maurette, M., 1998. A Search for Extraterrestrial Amino Acids in Carbonaceous Antarctic Micrometeorites. *Orig. Life Evol. Biosph.* 28, 413–424. doi:10.1023/A:1006548905523
- Buch, A., Glavin, D.P., Sternberg, R., Szopa, C., Rodier, C., Navarro-González, R., Raulin, F., Cabane, M., Mahaffy, P.R., 2006. A new extraction technique for in situ analyses of amino and carboxylic acids on Mars by gas chromatography mass spectrometry. *Planet. Space Sci.* 54, 1592–1599. doi:10.1016/j.pss.2006.05.041
- Buch, A., Pinnick, V., Szopa, C., Danell, R., Amerom, F.H.W. Van, Glavin, D., Freissinet, C., Coll, P., 2014. MOMA CPG-SM COUPLING, in: *45th Lunar and Planetary Science Conference*. pp. 4–5.
- Buch, A., Sternberg, R., Szopa, C., Freissinet, C., Garnier, C., Bekri, E.J., Rodier, C., Navarro-González, R., Raulin, F., Cabane, M., Stambouli, M., Glavin, D.P., Mahaffy, P.R., 2009. Development of a gas

- chromatography compatible Sample Processing System (SPS) for the in-situ analysis of refractory organic matter in martian soil: preliminary results. *Adv. Sp. Res.* 43, 143–151. doi:10.1016/j.asr.2008.05.001
- Cable, M.L., Hörst, S.M., Hodyss, R., Beauchamp, P.M., Smith, M. a, Willis, P. a, 2012. Titan tholins: simulating Titan organic chemistry in the Cassini-Huygens era. *Chem. Rev.* 112, 1882–909. doi:10.1021/cr200221x
- Cady, S.L., Farmer, J.D., Grotzinger, J.P., Schopf, J.W., Steele, A., 2003. Morphological biosignatures and the search for life on Mars. *Astrobiology* 3, 351–68. doi:10.1089/153110703769016442
- Carrasco, N., Szopa, C., Chapuis, C., Bouabdellah, A., Thissen, R., Cornelli, S., Puget, P., Briois, C., Thirkell, L., Boukrara, A., Lebreton, J.-P., Cottin, H., Grand, N., Engrand, C., Makarov, A., 2012. Ultra high mass-resolution for space exploration: the Orbitrap mass analyser. p. EPSC2012-869.
- Challinor, J.M., 2001. Review: The development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 61, 3–34. doi:10.1016/S0165-2370(01)00146-2
- Challinor, J.M., 1989. A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography technique for the structural elucidation of some synthetic polymers. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 16, 323–333. doi:10.1016/0165-2370(89)80015-4
- Chevrier, V., Sears, D.W.G., Chittenden, J.D., Roe, L.A., Ulrich, R., Bryson, K., Billingsley, L., Hanley, J., 2007. Sublimation rate of ice under simulated Mars conditions and the effect of layers of mock regolith JSC Mars-1. *Geophys. Res. Lett.* 34, L02203. doi:10.1029/2006GL028401
- Chyba, C., Sagan, C., 1992. Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature* 355, 125–32. doi:10.1038/355125a0
- Cleland, C.E., Chyba, C.F., 2002. Defining “life.” *Orig. Life Evol. Biosph.* 32, 387–393. doi:10.1023/A:1020503324273
- Clemett, S.J., Chillier, X.D., Gillette, S., Zare, R.N., Maurette, M., Engrand, C., Kurat, G., 1998. Observation of indigenous polycyclic aromatic hydrocarbons in “giant” carbonaceous antarctic micrometeorites. *Orig. Life Evol. Biosph.* 28, 425–48.
- Coll, P., Coscia, D., Gazeau, M.-C., Guez, L., Raulin, F., 1998. Review and Latest Results of Laboratory Investigations of Titan’s Aerosols. *Orig. life Evol. Biosph.* 28, 195–213. doi:10.1023/A:1006521601133
- Coll, P., Navarro-González, R., Szopa, C., Poch, O., Ramírez, S.I., Coscia, D., Raulin, F., Cabane, M., Buch, a., Israël, G., 2013. Can laboratory tholins mimic the chemistry producing Titan’s aerosols? A review in light of ACP experimental results. *Planet. Space Sci.* 77, 91–103. doi:10.1016/j.pss.2012.07.006
- De Pater, I., Lissauer, J.J., 2001. *Planetary sciences*, 2nd editio. ed. Cambridge University Press.
- Encrenaz, T., Knacke, R., 1991. Carbonaceous Compounds in Comets: Infrared Observations, in: *Comets in the Post-Halley Era*. Springer Netherlands, pp. 107–137. doi:10.1007/978-94-011-3378-4_5
- Engrand, C., Maurette, M., 1998. Carbonaceous micrometeorites from Antarctica. *Meteorit. Planet. Sci.* 33, 565–580. doi:10.1111/j.1945-5100.1998.tb01665.x
- Fabbri, D., Helleur, R., 1999. Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 277–293. doi:10.1016/S0165-2370(98)00085-0
- Farmer, J.D., Des Marais, D.J., 1999. Exploring for a record of ancient Martian life. *J. Geophys. Res. Planets* 104, 26977–26995. doi:10.1029/1998JE000540
- Flasar, F.M., Achterberg, R.K., Conrath, B.J., Gierasch, P.J., Kunde, V.G., Nixon, C. a, Bjoraker, G.L., Jennings, D.E., Romani, P.N., Simon-Miller, a a, Bézard, B., Coustenis, a, Irwin, P.G.J., Teanby, N. a, Brasunas, J., Pearl, J.C., Segura, M.E., Carlson, R.C., Mamoutkine, a, Schinder, P.J., Barucci, a, Courtin, R., Fouchet, T., Gautier, D., Lellouch, E., Marten, a, Prangé, R., Vinatier, S., Strobel, D.F.,

- Calcutt, S.B., Read, P.L., Taylor, F.W., Bowles, N., Samuelson, R.E., Orton, G.S., Spilker, L.J., Owen, T.C., Spencer, J.R., Showalter, M.R., Ferrari, C., Abbas, M.M., Raulin, F., Edgington, S., Ade, P., Wishnow, E.H., 2005. Titan's atmospheric temperatures, winds, and composition. *Science* 308, 975–8. doi:10.1126/science.1111150
- Fleury, B., Carrasco, N., Gautier, T., Mahjoub, A., He, J., Szopa, C., Hadamcik, E., Buch, A., Cernogora, G., 2014. Influence of CO on Titan atmospheric reactivity. *Icarus* 238, 221–229. doi:10.1016/j.icarus.2014.05.027
- Flynn, G.J., 1996. The delivery of organic matter from asteroids and comets to the early surface of Mars. *Earth. Moon. Planets* 72, 469–74.
- Formisano, V., Atreya, S., Encrenaz, T., Ignatiev, N., Giuranna, M., 2004. Detection of Methane in the Atmosphere of Mars. *Science* (80-.). 306.
- Forterre, P., 2016. To be or not to be alive: How recent discoveries challenge the traditional definitions of viruses and life. *Stud. Hist. Philos. Sci. Part C Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 1–9. doi:10.1016/j.shpsc.2016.02.013
- Forterre, P., Gribaldo, S., Brochier, C., 2005. Luca : à la recherche du plus proche ancêtre commun universel. *Médecine/Sciences* 21.
- Fray, N., Bardyn, A., Cottin, H., Altwegg, K., Baklouti, D., Briois, C., Colangeli, L., Engrand, C., Fischer, H., Glasmachers, A., Grün, E., Haerendel, G., Henkel, H., Höfner, H., Hornung, K., Jessberger, E.K., Koch, A., Krüger, H., Langevin, Y., Lehto, H., Lehto, K., Le Roy, L., Merouane, S., Modica, P., Orthous-Daunay, F.-R., Paquette, J., Raulin, F., Rynö, J., Schulz, R., Silén, J., Siljeström, S., Steiger, W., Stenzel, O., Stephan, T., Thirkell, L., Thomas, R., Torkar, K., Varmuza, K., Wanczek, K.-P., Zaprudin, B., Kissel, J., Hilchenbach, M., 2016. High-molecular-weight organic matter in the particles of comet 67P/Churyumov–Gerasimenko. *Nature* 538, 72–74. doi:10.1038/nature19320
- Freissinet, C., 2010. Recherche de traces de vie extraterrestre : élaboration d'une unité d'extraction et d'analyse chirale pour la séparation énantiomérique in situ de molécules organiques d'intérêt exobiologique. Ecole Centrale Paris.
- Freissinet, C., Glavin, D.P., Mahaffy, P.R., Miller, K.E., Eigenbrode, J.L., Summons, R.E., Brunner, A.E., Buch, A., Szopa, C., Archer, P.D., Franz, H.B., Atreya, S.K., Brinckerhoff, W.B., Cabane, M., Coll, P., Conrad, P.G., Des Marais, D.J., Dworkin, J.P., Fairén, A.G., François, P., Grotzinger, J.P., Kashyap, S., ten Kate, I.L., Leshin, L.A., Malespin, C.A., Martin, M.G., Martin-Torres, F.J., McAdam, A.C., Ming, D.W., Navarro-González, R., Pavlov, A.A., Prats, B.D., Squyres, S.W., Steele, A., Stern, J.C., Sumner, D.Y., Sutter, B., Zorzano, M.-P., 2015. Organic molecules in the Sheepbed Mudstone, Gale Crater, Mars. *J. Geophys. Res. Planets* 120, 495–514. doi:10.1002/2014JE004737
- Friedmann, E.I., Koriem, A.M., 1989. Life on Mars: How it disappeared (if it was ever there). *Adv. Sp. Res.* 9, 167–172. doi:10.1016/0273-1177(89)90224-X
- Fulchignoni, M., Ferri, F., Angrilli, F., Ball, a J., Bar-Nun, a, Barucci, M. a, Bettanini, C., Bianchini, G., Borucki, W., Colombatti, G., Coradini, M., Coustenis, a, Debei, S., Falkner, P., Fanti, G., Flamini, E., Gaborit, V., Grard, R., Hamelin, M., Harri, a M., Hathi, B., Jernej, I., Leese, M.R., Lehto, a, Lion Stoppato, P.F., López-Moreno, J.J., Mäkinen, T., McDonnell, J. a M., McKay, C.P., Molina-Cuberos, G., Neubauer, F.M., Pirronello, V., Rodrigo, R., Saggin, B., Schwingenschuh, K., Seiff, a, Simões, F., Svedhem, H., Tokano, T., Towner, M.C., Trautner, R., Withers, P., Zarnecki, J.C., 2005. In situ measurements of the physical characteristics of Titan's environment. *Nature* 438, 785–91. doi:10.1038/nature04314
- Gallois, N., Templier, J., Derenne, S., 2010. Limitations in interpreting TMAH thermochemolysis of natural organic matter via consideration of glycine and alanine derivatives. *Org. Geochem.* 41, 1338–1340. doi:10.1016/j.orggeochem.2010.05.018
- Gallois, N., Templier, J., Derenne, S., 2007. Pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry of the 20 protein amino acids in the presence of TMAH. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 80, 216–230.

doi:10.1016/j.jaap.2007.02.010

- Gazeau, M.-C., Cottin, H., Vuitton, V., Smith, N., Raulin, F., 2000. Experimental and theoretical photochemistry: application to the cometary environment and Titan's atmosphere. *Planet. Space Sci.* 48, 437–445. doi:10.1016/S0032-0633(00)00017-9
- Geffroy-Rodier, C., Grasset, L., Sternberg, R., Buch, a., Amblès, a., 2009. Thermochemistry in search for organics in extraterrestrial environments. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 85, 454–459. doi:10.1016/j.jaap.2008.10.005
- Gilvarry, J.J., Hochstim, A.R., 1963. Possible Role of Meteorites in the Origin of Life. *Nature* 197, 624–625. doi:10.1038/197624c0
- Glansdorff, N., Xu, Y., Labedan, B., 2008. The last universal common ancestor: emergence, constitution and genetic legacy of an elusive forerunner. *Biol. Direct* 3, 29. doi:10.1186/1745-6150-3-29
- Glavin, D.P., Cleaves, H.J., Buch, A., Schubert, M., Aubrey, A., Bada, J.L., Mahaffy, P.R., 2006. Sublimation extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry: A new technique for future in situ analyses of purines and pyrimidines on Mars. *Planet. Space Sci.* 54, 1584–1591. doi:10.1016/j.pss.2005.12.023
- Glavin, D.P., et al, 2013. Evidence for Perchlorates and the Origin of Chlorinated Hydrocarbons Detected by SAM at the Rocknest Aeolian Deposit in Gale Crater. *J. Geophys. Res.*
- Goesmann, F., Brinckerhoff, W.B., Raulin, F., Goetz, W., Danell, R., Getty, S., Siljeström, S., Steininger, H., Jr., R.A., Buch, A., Freissinet, C., Grubisi, A., Meierhenrich, U., Mißbach, H., Pinnick, V., Stalport, F., Szopa, C., Brucato, J.R., Glavin, D.P., Grand, N., Li, X., F. H. W. van Amerom, and the M.S.T., 2017. The Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA) Instrument: Characterization of Organic Material in Martian Sediments. *Astrobiology* In Press.
- Goesmann, F., Rosenbauer, H., Bredehöft, J.H., Cabane, M., Ehrenfreund, P., Gautier, T., Giri, C., Krüger, H., Le Roy, L., MacDermott, A.J., McKenna-Lawlor, S., Meierhenrich, U.J., Caro, G.M.M., Raulin, F., Roll, R., Steele, A., Steininger, H., Sternberg, R., Szopa, C., Thiemann, W., Ulamec, S., 2015. Organic compounds on comet 67P/Churyumov-Gerasimenko revealed by COSAC mass spectrometry. *Science* (80-.). 349.
- Goetz, W., Brinckerhoff, W.B., Arevalo, R., Freissinet, C., Getty, S., Glavin, D.P., Siljeström, S., Buch, A., Stalport, F., Grubisic, A., Li, X., Pinnick, V., Danell, R., van Amerom, F.H.W., Goesmann, F., Steininger, H., Grand, N., Raulin, F., Szopa, C., Meierhenrich, U., Brucato, J.R., 2016. MOMA: the challenge to search for organics and biosignatures on Mars. *Int. J. Astrobiol.* 15, 239–250. doi:10.1017/S1473550416000227
- Gomes, R., Levison, H.F., Tsiganis, K., Morbidelli, A., 2005. Origin of the cataclysmic Late Heavy Bombardment period of the terrestrial planets. *Nature* 435, 466–469. doi:10.1038/nature03676
- Greeley, R., Field, M., White, B., Iversen, J., 1980. Threshold windspeeds for sand on Mars: Wind tunnel simulations. *Geophys. Res. Lett.* 7, 121–124.
- Haberle, R.M., 1998. Early Mars Climate Models. *J. Geophys. Res.* doi:10.1029/98JE01396
- Hayatsu, R., 1964. Orgueil Meteorite: Organic Nitrogen Contents. *Science* (80-.). 146, 1291–3. doi:10.1126/science.146.3649.1291
- Hayatsu, R., Studier, M.H., Moore, L.P., Anders, E., 1975. Purines and triazines in the Murchison meteorite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 39, 471–488.
- Hecht, M.H., Kounaves, S.P., Quinn, R.C., West, S.J., Young, S.M.M., Ming, D.W., Catling, D.C., Clark, B.C., Boynton, W. V., Hoffman, J., Deflores, L.P., Gospodinova, K., Kapit, J., Smith, P.H., 2009. Detection of perchlorate and the soluble chemistry of martian soil at the Phoenix lander site. *Science* 325, 64–7. doi:10.1126/science.1172466
- Hennet, R.J.C., Holm, N.G., Engel, M.H., 1992. Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: A perpetual phenomenon? *Naturwissenschaften* 79, 361–365. doi:10.1007/BF01140180

- Hsu, H.-W., Postberg, F., Sekine, Y., Shibuya, T., Kempf, S., Horányi, M., Juhász, A., Altobelli, N., Suzuki, K., Masaki, Y., Kuwatani, T., Tachibana, S., Sirono, S., Moragas-Klostermeyer, G., Srama, R., 2015. Ongoing hydrothermal activities within Enceladus. *Nature* 519, 207–210. doi:10.1038/nature14262
- Ikeda, Y., Huang, W., Oku, A., 2003. Recycling of monomers and fillers from high-temperature-vulcanized silicone rubber using tetramethylammonium hydroxide Presented at The First International Conference on Green & Sustainable Chemistry, Tokyo, Japan, March 13–15, 2003. *Green Chem.* 5, 508. doi:10.1039/b304483c
- Ishida, Y., Ohtani, H., Tsuge, S., 1995. Effects of solvents and inorganic salts on the reactive pyrolysis of aromatic polyester in the presence of tetramethylammonium hydroxide studied by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 33, 167–180. doi:10.1016/0165-2370(94)00860-4
- Israel, G., Cabane, M., Niemann, H., Way, S., Riedler, W., Steller, M., Raulin, F., Coscia, D., 2002. HUYGENS PROBE AEROSOL COLLECTOR PYROLYSER. *Space Sci. Rev.* 104, 433–468.
- Israël, G., Szopa, C., Raulin, F., Cabane, M., Niemann, H.B., Atreya, S.K., Bauer, S.J., Brun, J.-F., Chassefière, E., Coll, P., Condé, E., Coscia, D., Hauchecorne, a, Millian, P., Nguyen, M.-J., Owen, T., Riedler, W., Samuelson, R.E., Siguier, J.-M., Steller, M., Sternberg, R., Vidal-Madjar, C., 2005. Complex organic matter in Titan's atmospheric aerosols from in situ pyrolysis and analysis. *Nature* 438, 796–9. doi:10.1038/nature04349
- Jensen, L.L., Merrison, J., Hansen, A.A., Mikkelsen, K.A., Kristoffersen, T., Nørnberg, P., LoSMtein, B.A., Finster, K., 2008. A Facility for Long-Term Mars Simulation Experiments: The Mars Environmental Simulation Chamber (MESCH). *Astrobiology* 8, 537–548. doi:10.1089/ast.2006.0092
- Karl, M., Dorn, H.-P., Holland, F., Koppmann, R., Poppe, D., Rupp, L., Schaub, A., Wahner, A., 2006. Product study of the reaction of OH radicals with isoprene in the atmosphere simulation chamber SAPHIR. *J. Atmos. Chem.* 55, 167–187. doi:10.1007/s10874-006-9034-x
- Kasting, J.F., 1993. Earth's early atmosphere. *Sci. New Ser.* 259, 920. doi:10.1126/science.11536547
- Kasting, J.F., 1991. CO₂ condensation and the climate of early Mars. *Icarus* 94, 1–13.
- Khurana, K.K., Kivelson, M.G., Stevenson, D.J., Schubert, G., Russell, C.T., Walker, R.J., Polanskey, C., 1998. Induced magnetic fields as evidence for subsurface oceans in Europa and Callisto. *Nature* 395, 777–780. doi:10.1038/27394
- Kivelson, M.G., Khurana, K.K., Volwerk, M., 2002. The Permanent and Inductive Magnetic Moments of Ganymede. *Icarus* 157, 507–522. doi:10.1006/icar.2002.6834
- Kossa, W.C., MacGee, J., Ramachandran, S., Webber, A.J., 1979. Pyrolytic Methylation/Gas Chromatography: A Short Review. *J. Chromatogr. Sci.* 17, 177–187. doi:10.1093/chroSMci/17.4.177
- Krasnopolsky, V., 2009. A photochemical model of Titan's atmosphere and ionosphere. *Icarus* 201, 226–256. doi:10.1016/j.icarus.2008.12.038
- Krueger, F., Korth, A., Kissel, J., 1991. The organic matter of comet Halley as inferred by joint gas phase and solid phase analyses. *Space Sci. Rev.* 56, 167–175. doi:10.1007/BF00178406
- Kuga, M., Carrasco, N., Marty, B., Marrocchi, Y., Bernard, S., Rigaudier, T., Fleury, B., Tissandier, L., 2014. Nitrogen isotopic fractionation during abiotic synthesis of organic solid particles. *Earth Planet. Sci. Lett.* 393, 2–13. doi:10.1016/j.epsl.2014.02.037
- Lane, N., Martin, W.F., 2012. The Origin of Membrane Bioenergetics. *Cell* 151, 1406–1416. doi:10.1016/j.cell.2012.11.050
- Lavvas, P., Coustenis, A., Vardavas, I.M., 2008. Coupling photochemistry with haze formation in Titan's atmosphere, Part II: Results and validation with Cassini/Huygens data. *Planet. Space Sci.* 56, 67–99. doi:10.1016/j.pss.2007.05.027
- Lavvas, P., Sander, M., Kraft, M., Imanaka, H., 2011. SURFACE CHEMISTRY AND PARTICLE SHAPE:

- PROCESSES FOR THE EVOLUTION OF AEROSOLS IN TITAN'S ATMOSPHERE. *Astrophys. J.* 728, 80. doi:10.1088/0004-637X/728/2/80
- Lehtonen, T., Peuravuori, J., Pihlaja, K., 2000. Degradation of TMAH treated aquatic humic matter at different temperatures. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 55, 151–160. doi:10.1016/S0165-2370(99)00094-7
- Leipe, D.D., Aravind, L., Koonin, E. V., 1999. Did DNA replication evolve twice independently? *Nucleic Acids Res.* 27, 3389–401.
- Leybros, J., Frémeaux, P., 1990. Extraction solide-liquide. Aspects théoriques. *Tech. l'ingénieur* 3, 1–15.
- López-García, P., Moreira, D., López-García, P., Moreira, D., Gupta, R.S., Golding, G.B., Martin, W., Müller, M., Moreira, D., López-García, P., Hugenholtz, P., Goebel, B.M., Pace, N.P., Gupta, R.S., Schopf, J.W., Brocks, J.J., al., et, Fenchel, T., Finlay, B.J., Kawarabayasi, Y., al., et, 1999. On hydrogen transfer and a chimeric origin of eukaryotes. *Trends Biochem. Sci.* 24, 424. doi:10.1016/S0968-0004(99)01486-3
- MacKenzie, S.L., Tenaschuk, D., Fortier, G., 1987. Analysis of amino acids by gas-liquid chromatography as tert.-butyldimethylsilyl derivatives. Preparation of derivatives in a single reaction. *J. Chromatogr.* 387, 241–53.
- Mahaffy, P.R., Webster, C.R., Cabane, M., Conrad, P.G., Coll, P., Atreya, S.K., Arvey, R., Barciniak, M., Benna, M., Bleacher, L., Brinckerhoff, W.B., Eigenbrode, J.L., Carignan, D., Cascia, M., Chalmers, R. a., Dworkin, J.P., Errigo, T., Everson, P., Franz, H., Farley, R., Feng, S., Frazier, G., Freissinet, C., Glavin, D.P., Harpold, D.N., Hawk, D., Holmes, V., Johnson, C.S., Jones, A., Jordan, P., Kellogg, J., Lewis, J., Lyness, E., Malespin, C. a., Martin, D.K., Maurer, J., McAdam, A.C., McLennan, D., Nolan, T.J., Noriega, M., Pavlov, A. a., Prats, B., Raaen, E., Sheinman, O., Sheppard, D., Smith, J., Stern, J.C., Tan, F., Trainer, M., Ming, D.W., Morris, R. V., Jones, J., Gundersen, C., Steele, A., Wray, J., Botta, O., Leshin, L. a., Owen, T., Battel, S., Jakosky, B.M., Manning, H., Squyres, S., Navarro-González, R., McKay, C.P., Raulin, F., Sternberg, R., Buch, A., Sorensen, P., Kline-Schoder, R., Coscia, D., Szopa, C., Teinturier, S., Baffes, C., Feldman, J., Flesch, G., Forouhar, S., Garcia, R., Keymeulen, D., Woodward, S., Block, B.P., Arnett, K., Miller, R., Edmonson, C., Gorevan, S., Mumm, E., 2012. The Sample Analysis at Mars Investigation and Instrument Suite. *Space Sci. Rev.* 170, 401–478. doi:10.1007/s11214-012-9879-z
- Martins, Z., Botta, O., Fogel, M.L., Sephton, M. a., Glavin, D.P., Watson, J.S., Dworkin, J.P., Schwartz, A.W., Ehrenfreund, P., 2008. Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* 270, 130–136. doi:10.1016/j.epsl.2008.03.026
- Mateo-Marti, E., 2014. Planetary Atmosphere and Surfaces Chamber (PASC): A Platform to Address Various Challenges in Astrobiology. *Challenges* 5, 213–223. doi:10.3390/challe5020213
- Meierhenrich, U., Thiemann, W.H., 2001. Pyrolytic methylation assisted enantioseparation of chiral hydroxycarboxylic acids 60, 13–26.
- Michalski, J.R., Cuadros, J., Niles, P.B., Parnell, J., Deanne Rogers, A., Wright, S.P., 2013. Groundwater activity on Mars and implications for a deep biosphere. *Nat. Geosci.* 6, 133–138. doi:10.1038/ngeo1706
- Michaud, Y., 2000. Qu'est-ce que la vie ? (Volume 1), Odile Jaco. ed.
- Miller, S.L., 1953. A production of amino acids under possible primitive Earth conditions. *Sci. New Ser.* 117, 528–529.
- Miller, S.L., Urey, H.C., 1959. Organic compound synthesis on the primitive earth. *Science* 130, 245–51. doi:10.1126/science.130.3370.245
- Muñoz, A., Person, A. Le, Calvé, S. Le, Mellouki, A., Borrás, E., Daële, V., Vera, T., 2011. Studies on atmospheric degradation of diazinon in the EUPHORE simulation chamber. *Chemosphere* 85, 724–730. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.06.044

- Mushegian, A.R., Koonin, E. V, 1996. A minimal gene set for cellular life derived by comparison of complete bacterial genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 10268–73.
- Niemann, H.B., Atreya, S.K., Bauer, S.J., Biemann, K., Carignan, G.R., Donahue, T.M., Frost, R.L., Gautier, D., Haberman, J.A., Harpold, D., Hunten, D.M., Israel, G., Mauersberger, K., Owen, T.C., Raulin, F., Way, S.H., 2002. THE GAS CHROMATOGRAPH MASS SPECTROMETER FOR THE HUYGENS PROBE. *Space Sci. Rev.* 104, 553–591.
- Niemann, H.B., Atreya, S.K., Bauer, S.J., Carignan, G.R., Demick, J.E., Frost, R.L., Gautier, D., Haberman, J. a, Harpold, D.N., Hunten, D.M., Israel, G., Lunine, J.I., Kasprzak, W.T., Owen, T.C., Paulkovich, M., Raulin, F., Raen, E., Way, S.H., 2005. The abundances of constituents of Titan’s atmosphere from the CPGSM instrument on the Huygens probe. *Nature* 438, 779–84. doi:10.1038/nature04122
- Niemann, H.B., Atreya, S.K., Demick, J.E., Gautier, D., Haberman, J.A., Harpold, D.N., Kasprzak, W.T., Lunine, J.I., Owen, T.C., Raulin, F., 2010. Composition of Titan’s lower atmosphere and simple surface volatiles as measured by the Cassini-Huygens probe gas chromatograph mass spectrometer experiment. *J. Geophys. Res.* 115, E12006. doi:10.1029/2010JE003659
- Nutman, A.P., Bennett, V.C., Friend, C.R.L., Van Kranendonk, M.J., Chivas, A.R., 2016. Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature* 537, 535–538. doi:10.1038/nature19355
- Orata, F., 2012. Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis, in: Mohd, M. ali (Ed.), *Advanced Gas Chromatography - Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*. InTech, pp. 83–108.
- Peng, Z., Gautier, T., Carrasco, N., Pernot, P., Giuliani, A., Mahjoub, A., Correia, J.-J., Buch, A., Bénilan, Y., Szopa, C., Cernogora, G., 2013. Titan’s atmosphere simulation experiment using continuum UV-VUV synchrotron radiation. *J. Geophys. Res. Planets* 118, 778–788. doi:10.1002/jgre.20064
- Peretó, J., López-García, P., Moreira, D., 2004. Ancestral lipid biosynthesis and early membrane evolution. *Trends Biochem. Sci.* 29, 469–477. doi:10.1016/j.tibs.2004.07.002
- Poulet, F., Bibring, J.-P., Mustard, J.F., Gendrin, A., Mangold, N., Langevin, Y., Arvidson, R.E., Gondet, B., Gomez, C., Berthé, M., Bibring, J.-P., Langevin, Y., Erard, S., Forni, O., Gendrin, A., Gondet, B., Manaud, N., Poulet, F., Poulleau, G., Soufflot, A., Combes, M., Drossart, P., Encrenaz, T., Fouchet, T., Melchiorri, R., Bellucci, G., Altieri, F., Formisano, V., Fonti, S., Capaccioni, F., Cerroni, P., Coradini, A., Korablev, O., Kottsov, V., Ignatiev, N., Titov, D., Zasova, L., Mangold, N., Pinet, P., Schmitt, B., Sotin, C., Hauber, E., Hoffmann, H., Jaumann, R., Keller, U., Arvidson, R., Mustard, J., Forget, F., 2005. Phyllosilicates on Mars and implications for early martian climate. *Nature* 438, 623–627. doi:10.1038/nature04274
- Rannou, P., Chassefiere, E., Encrenaz, T., Erard, S., Genin, J.M., Ingrin, J., Jambon, A., Jolivet, J.P., Raulin, F., Renault, P., Rochette, P., Person, A., Siguier, J.M., Toublanc, D., 2001. EXOCAM: Mars in a box to simulate soil-atmosphere interactions. *Adv. Space Res.* 27, 189–93.
- Raulin, F., 2007. Titan: a new astrobiological vision from the Cassini–Huygens data, in: Pudritz, R., Higgs, P., Stone, J. (Eds.), *PLANETARY SYSTEMS AND THE ORIGINS OF LIFE*. Cambridge University Press, pp. 263–278.
- Raulin, F., Bossard, a, 1984. Organic syntheses in gas phase and chemical evolution in planetary atmospheres. *Adv. Space Res.* 4, 75–82.
- Raulin, F., Brassé, C., Poch, O., Coll, P., 2012. Prebiotic-like chemistry on Titan. *Chem. Soc. Rev.* 41, 5380–93. doi:10.1039/c2cs35014a
- Raulin, F., Bruston, P., 1996. Photochemical growing of complex organics in planetary atmospheres. *Adv. Sp. Res.* 18, 41–49. doi:10.1016/0273-1177(96)00026-9
- Ren, Y., Grosselin, B., Daële, V., Mellouki, A., 2017. Investigation of the reaction of ozone with isoprene, methacrolein and methyl vinyl ketone using the HELIOS Chamber. *Faraday Discuss.*

doi:10.1039/C7FD00014F

- Rivera, M.C., Lake, J.A., 2004. The ring of life provides evidence for a genome fusion origin of eukaryotes. *Nature* 431, 152–5. doi:10.1038/nature02848
- Rohrer, F., Bohn, B., Brauers, T., Uning, D.B., Johnen, F.-J., Wahner, A., Kleffmann, J., 2005. Characterisation of the photolytic HONO-source in the atmosphere simulation chamber SAPHIR. *Atmos. Chem. Phys* 5, 2189–2201.
- Rosenbauer, H., Fuselier, S.A., Ghielmetti, A., Greenberg, J.M., Goesmann, F., Ulamec, S., Israel, G., 2012. THE COSAC EXPERIMENT ON THE LANDER OF THE ROSETTA MISSION 23, 333–340.
- Russell, M.J., Barge, L.M., Bhartia, R., Bocanegra, D., Bracher, P.J., Branscomb, E., Kidd, R., McGlynn, S., Meier, D.H., Nitschke, W., Shibuya, T., Vance, S., White, L., Kanik, I., 2014. The Drive to Life on Wet and Icy Worlds. *Astrobiology* 14, 308–343. doi:10.1089/ast.2013.1110
- Sagan, C., Thompson, W.R., Khare, B.N., 1992. Titan: a laboratory for prebiological organic chemistry. *Acc. Chem. Res.* 25, 286–292. doi:10.1021/ar00019a003
- Schrödinger, E., 1944. *Qu'est-ce que la vie ?* Cambridge University Press.
- Scott, R.P.W., 2003. Book 2, Gas Chromatography. Chrom-Ed Book Series.
- Sephton, M.A., 2002. Organic compounds in carbonaceous meteorites. *Nat. Prod. Rep.* 19, 292–311. doi:10.1039/b103775g
- Sephton, M.A., Botta, O., 2008. Extraterrestrial Organic Matter and the Detection of Life. *Space Sci. Rev.* 135, 25–35. doi:10.1007/s11214-007-9171-9
- Sephton, M.A., Lewis, J.M.T., Watson, J.S., Montgomery, W., Garnier, C., 2014. Perchlorate-induced combustion of organic matter with variable molecular weights: Implications for Mars missions. *Geophys. Res. Lett.* 7453–7460. doi:10.1002/2014GL062109. Received
- Sobrado, J.M., Martín-Soler, J., Martín-Gago, J.A., 2014. Mimicking Mars: A vacuum simulation chamber for testing environmental instrumentation for Mars exploration. *Rev. Sci. Instrum.* 85, 35111. doi:10.1063/1.4868592
- Sojo, V., Herschy, B., Whicher, A., Camprubí, E., Lane, N., 2016. The Origin of Life in Alkaline Hydrothermal Vents. *Astrobiology* 16, 181–197. doi:10.1089/ast.2015.1406
- Sonett, C., 1963. A summary review of the scientific findings of the Mariner Venus mission. *Space Sci. Rev.* 2, 751–777. doi:10.1007/BF00208814
- Stalport, F., Glavin, D.P., Eigenbrode, J.L., Bish, D., Blake, D., Coll, P., Szopa, C., Buch, a., McAdam, a., Dworkin, J.P., Mahaffy, P.R., 2012. The influence of mineralogy on recovering organic acids from Mars analogue materials using the “one-pot” derivatization experiment on the Sample Analysis at Mars (SAM) instrument suite. *Planet. Space Sci.* 67, 1–13. doi:10.1016/j.pss.2012.02.010
- Steininger, H., Goesmann, F., Goetz, W., 2012. Influence of magnesium perchlorate on the pyrolysis of organic compounds in Mars analogue soils. *Planet. Space Sci.* 71, 9–17. doi:10.1016/j.pss.2012.06.015
- Sternberg, R., Raulin, F., 2007. Gas chromatography in space exploration. *Encycl. Sep. Sci.*
- Stoks, P.G., Schwartz, A.W., 1979. Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature* 282, 709–710.
- Stoks, Schwartz, 1981. Nitrogen-heterocyclic compounds in meteorites: significance and mechanism of formation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45, 563–569. doi:10.1016/0016-7037(81)90189-7
- Stribling, R., Miller, S.L., 1987. Energy yields for hydrogen cyanide and formaldehyde syntheses: The HCN and amino acid concentrations in the primitive ocean. *Orig. Life Evol. Biosph.* 17, 261–273. doi:10.1007/BF02386466
- Summons, R.E., Amend, J.P., Bish, D., Buick, R., Cody, G.D., Des Marais, D.J., Dromart, G., Eigenbrode, J.L., Knoll, A.H., Sumner, D.Y., 2011. Preservation of martian organic and environmental records: final report of the Mars biosignature working group. *Astrobiology* 11, 157–81. doi:10.1089/ast.2010.0506
- Sun, F., Littlejohn, D., David Gibson, M., 1998. Ultrasonication extraction and solid phase extraction

- clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. *Anal. Chim. Acta* 364, 1–11. doi:10.1016/S0003-2670(98)00186-X
- Szopa, C., Cernogora, G., Boufendi, L., Correia, J.J., Coll, P., 2006. PAMPRE: A dusty plasma experiment for Titan's tholins production and study. *Planet. Space Sci.* 54, 394–404. doi:10.1016/j.pss.2005.12.012
- Tissot, B.P., Welte, D.H., 1984. Sedimentary processes and the accumulation of organic matter, in: *Petroleum Formation and Occurrence Second Revised and Enlarged Edition*. pp. 55–62. doi:10.1029/EO066i037p00643
- Trail, D., Watson, E.B., Tailby, N.D., 2011. The oxidation state of Hadean magmas and implications for early Earth's atmosphere. *Nature* 480, 79–82. doi:10.1038/nature10655
- Van der Velden, W., Schwartz, A.W., 1977. Search for purines and pyrimidines in the Murchison meteorite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 961–968. doi:10.1016/0016-7037(77)90155-7
- Venema, A., Boom-van Geest, R.C. a, 1995. In-Situ Hydrolysis / Methylation Pyrolysis CCPG for the Characterization of Polyaramides. *J. Microcolumn Sep.* 7, 337–343.
- Waite, J.H., Glein, C.R., Perryman, R.S., Teolis, B.D., Magee, B.A., Miller, G., Grimes, J., Perry, M.E., Miller, K.E., Bouquet, A., Lunine, J.I., Brockwell, T., Bolton, S.J., 2017. Cassini finds molecular hydrogen in the Enceladus plume: Evidence for hydrothermal processes. *Science* (80-.). 356.
- Wang, J., Doussin, J.F., Perrier, S., Perraudin, E., Katrib, Y., Pangui, E., Picquet-Varrault, B., 2011. Design of a new multi-phase experimental simulation chamber for atmospheric photosmog, aerosol and cloud chemistry research. *Atmos. Meas. Tech.* 4, 2465–2494. doi:10.5194/amt-4-2465-2011
- Watson, J.D., Crick, F.H.C., 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids. *Nature* 171, 737–738.
- Webster, C.R., Mahaffy, P.R., Atreya, S.K., Flesch, G.J., Mischna, M.A., Meslin, P., Farley, K.A., Conrad, P.G., Christensen, L.E., Pavlov, A.A., Martín-torres, J., Zorzano, M., Mcconnochie, T.H., Owen, T., Eigenbrode, J.L., Glavin, D.P., Steele, A., Malespin, C.A., Jr, P.D.A., Sutter, B., Coll, P., Bridges, J.C., Navarro-gonzalez, R., Gellert, R., 2015. Mars methane detection and variability at Gale crater. *Science* (80-.). 347, 415–417. doi:10.1126/science.1261713
- Weiss, M.C., Sousa, F.L., Mrnjavac, N., Neukirchen, S., Roettger, M., Nelson-Sathi, S., Martin, W.F., 2016. The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nat. Microbiol.* 1, 16116. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.116
- Westall, F., 1999. The nature of fossil bacteria: A guide to the search for extraterrestrial life. *J. Geophys. Res. Planets* 104, 16437–16451. doi:10.1029/1998JE900051
- Westall, F., Foucher, F., Bost, N., Bertrand, M., Loizeau, D., Vago, J.L., Kminek, G., Gaboyer, F., Campbell, K.A., Bréhéret, J.-G., Gautret, P., Cockell, C.S., 2015. Biosignatures on Mars: What, Where, and How? Implications for the Search for Martian Life. *Astrobiology* 15, 998–1029. doi:10.1089/ast.2015.1374
- Whittet, D.C.B., 1997. Is Extraterrestrial Organic Matter Relevant To the. *Orig. Life Evol. Biosph.* 27, 249–262. doi:10.1023/a:1006534500363
- Wisthaler, A., Apel, E.C., Bossmeyer, J., Hansel, A., Junkermann, W., Koppmann, R., Meier, R., Uller, K., Solomon, S.J., Steinbrecher, R., Tillmann, R., Brauers, T., 2008. Technical Note: Intercomparison of formaldehyde measurements at the atmosphere simulation chamber SAPHIR. *Atmos. Chem. Phys. Atmos. Chem. Phys.* 8, 2189–2200.
- Woese, C.R., Fox, G.E., 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdom SM. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74, 5088–5090. doi:10.1073/pnas.74.11.5088
- Zang, X., Brown, J.C., HeeSMt, J.D.H. Van, Palumbo, A., Hatcher, P.G., 2001. Characterization of amino acids and proteinaceous materials using online tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis and gas chromatography-mass spectrometry technique. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 61, 181–193.

Chapitre 2

Les aérosols organiques de Titan : structure et composition moléculaire d'après l'analyse d'analogues par pyrolyse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Les travaux présentés dans le chapitre qui suit ont fait l'objet d'un article publié en octobre 2016 dans la revue *Icarus* (Morisson et al., 2016). Le chapitre 2 est donc présenté sous forme d'article, en anglais. Le lecteur trouvera ci-dessous un résumé substantiel en français comprenant les principaux résultats obtenus lors de l'étude par Pyrolyse - Chromatographie en phase Gazeuse – Spectrométrie de Masse (Pyr-CPG-SM) d'analogues d'aérosols organiques de Titan.

Résumé du chapitre

Introduction Titan est un satellite unique dans le Système Solaire de par l'existence, la composition et la densité de son atmosphère, d'environ 1,5 fois la pression de l'atmosphère terrestre en surface. Comme sur Terre, l'atmosphère de Titan est constituée essentiellement d'azote. Cette atmosphère est le siège d'une chimie complexe, aboutissant à la formation d'aérosols organiques formant la couche de brume orangée qui cache la surface du satellite. Titan est donc certainement un des seuls corps du Système Solaire – hormis la Terre – à abriter une chimie organique complexe, ce qui en fait un objet des plus intéressants pour l'exobiologie, et tout particulièrement pour l'étude de formes de chimie prébiotique extraterrestre et la compréhension de la chimie prébiotique terrestre. L'expérience ACP-CPG-SM à bord de la sonde Huygens a permis une analyse *in situ* des aérosols prélevés dans l'atmosphère. Elle n'a cependant fourni que des résultats partiels, difficiles à exploiter, du fait de problèmes techniques. C'est pourquoi les expériences de laboratoire sont à ce jour les plus à-mêmes de fournir des informations sur les propriétés physiques et chimiques des aérosols de Titan grâce à la synthèse d'analogues nommés tholins. La pyrolyse suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Pyr-CPG-SM) est l'une des techniques les plus utilisées pour l'analyse moléculaire de tholins, de par son efficacité et sa relative simplicité de mise en œuvre. Bien que de nombreuses études de la dégradation thermique des tholins aient été menées depuis les années 80 (une revue de ces différentes études est présentée dans la partie introductive de l'article), la variabilité dans la nature des échantillons et dans les conditions analytiques utilisées a conduit à des résultats disparates et peu comparables entre eux. Afin d'améliorer la compréhension de la chimie des aérosols de Titan, nous avons réalisé une étude systématique de tholins dont les principaux objectifs étaient de (i) déterminer la variabilité dans la composition moléculaire des tholins pour des échantillons produits à partir de mélanges gazeux initiaux différents (2%, 5 % et 10% de méthane dans l'azote) dans les mêmes conditions avec le même dispositif expérimental, et (ii) étudier l'influence des conditions analytiques (température de pyrolyse, nature de la colonne chromatographique, programme de température de la colonne) sur la nature des espèces détectées

et trouver un compromis permettant, avec le moins d'analyses possible (du fait de la faible quantité d'échantillons disponibles) la détection d'un maximum de composés, des plus légers aux plus lourds.

Instrumentation et protocole Les échantillons de tholins étudiés ont été produits avec l'expérience de plasma froid PAMPRE, située au LATMOS (Guyancourt, France) sous flux continu d'un mélange gazeux N_2/CH_4 comprenant 2%, 5% et 10% de méthane. L'expérience PAMPRE nous a permis de synthétiser des grains avec une croissance en volume dans la phase gazeuse, et de s'affranchir ainsi des effets de paroi. De fait, (Carrasco et al., 2016) ont récemment montré que les tholins obtenus sous forme de films sont significativement différents en termes de compositions chimiques des tholins en grains.

Les tholins ont été chauffés dans un pyrolyseur Pyrojector II (SGE Analytical Science) couplé à l'injecteur Split-Splitless (SSL) du CPG (Ultra Trace GC, Thermo Scientific) puis les pyrolysats ont été analysés par CPG-SM. Le CPG était d'abord équipé d'une colonne MXT-Q-PLOT adaptée aux molécules les plus légères, puis d'une colonne DB-5MS plus appropriée pour l'analyse d'espèces organiques de haute masse moléculaire. Des échantillons de 1mg de chaque type de tholins ont été flash-pyrolysés à des températures comprises entre 200°C et 600°C avec un pas de 100°C, dans le but de déterminer s'il est possible de discriminer les trois types de tholins (i.e. synthétisés avec 2%, 5% ou 10% de CH_4) grâce aux produits issus de leur décomposition thermique. Un échantillon « neuf » a été utilisé pour la pyrolyse à chaque température. Les pyrolysats ont été identifiés par comparaison de leur spectre de masse avec les spectres de la base de données NIST ou par injection de standards analytiques.

Espèces identifiées Les chromatogrammes obtenus avec les deux colonnes sont qualitativement et quantitativement différents. Comme attendu, les espèces les plus légères sont mieux séparées sur la colonne Q-PLOT, qui permet aussi de détecter séparer un plus grand nombre de molécules. Près d'un tiers des composés identifiés n'ont cependant pu être identifiés qu'avec la colonne DB-5MS. Il s'agit principalement d'hétérocycles azotés, dont de nombreux dérivés du pyrrole. Les deux colonnes sont donc complémentaires et permettent une caractérisation plus exhaustive des pyrolysats. Les molécules organiques libérées par les tholins au cours des pyrolyses peuvent être réparties en cinq familles chimiques : alcanes, alcènes, nitriles aliphatiques, cycles azotés, hydrocarbures aromatiques et cycliques (voir Table 3 pour la liste exhaustive des molécules identifiées). Les analyses ont mis en évidence deux biais potentiels, liés à la technique analytique. D'une part, la fraction représentée par les composés aromatiques pourrait être surestimée du fait de l'évolution (cyclisation/aromatization) de la matière organique à haute température. Cette hypothèse est soutenue par les récents travaux de (Mahjoub et al., 2016) sur l'aromaticité des tholins synthétisés à partir de 5% de CH_4 avec le dispositif PAMPRE, et montrant que les hydrocarbures aromatiques cycliques et hétérocycles azotés ne sont présents qu'à l'état de trace dans les tholins. D'autre part, l'absence d'amines linéaires – détectés par ailleurs dans les tholins grâce à d'autres techniques telles que la RMN ou l'électrophorèse capillaire – pourrait être due à l'adsorption de ses composés sur les parois des liners (liner de l'injecteur du CPG et liner du pyrolyseur) et de la ligne de transfert du pyrolyseur.

Température de pyrolyse La dégradation thermique des trois types d'échantillon débute à 150°C, où l'acétonitrile devient détectable. Le nombre et l'intensité des pics chromatographiques augmentent ensuite lorsque la température de pyrolyse augmente, et ce jusqu'à 600°C où un maximum de composés a été identifié. Aucun composé supplémentaire n'a été identifié lors de pyrolyse à 700°C. Les tholins produisant le plus grand nombre d'espèces sont ceux synthétisés à partir du mélange à 10% de CH_4 . Les trois familles chimiques les plus importantes en nombre de composés, à savoir les nitriles (aliphatiques et aromatiques groupés), les hydrocarbures (aliphatiques, cycliques

et aromatiques groupés) et les N-hétérocycles, ont été prises en compte pour l'étude de l'évolution de la nature des pyrolysats libérés par les tholins en fonction de la température de pyrolyse. Cette évolution est représentée sur l'histogramme de la Figure 3 pour les trois échantillons. Quelle que soit la famille chimique, la tendance générale est une augmentation du nombre de molécules détectées lorsque la température augmente. La répartition relative des composés dans les trois familles ne change pas avec la température pour les tholins synthétisés avec 2% et 5 % de CH₄, mais varie significativement pour les tholins produits avec 10% de CH₄. Les nitriles sont de loin les composés les plus nombreux détectés aux basses températures (200-400°C) et, pour les échantillons à 2% et 5% de CH₄, ils restent les principaux composés libérés aux hautes températures (400-600°C). Pour les échantillons à 10% de CH₄, le nombre d'hydrocarbures excède celui des nitriles à partir de 500°C. Les composés détectés aux plus basses températures (200°C et 300°C), à savoir ceux qui sont les moins évolués thermiquement, sont certainement les plus représentatifs du matériau originel. Il s'agit principalement de nitriles et de l'éthylène. Cette étude montre que la température de pyrolyse (600°C) utilisée pour l'expérience Huygens-ACP est la plus pertinente pour l'analyse des aérosols de Titan, mais qu'une production secondaire de cycles et N-hétérocycles aromatiques doit également être envisagée à cette température.

Influence du taux de CH₄ dans le gaz initial Les tholins synthétisés à partir de 2%, 5% et 10% de CH₄ présentent tous une même signature principale : un ensemble de pics (visibles entre 8 et 15 min sur les chromatogrammes de la Figure 4) incluant les pics les plus intenses et correspondant essentiellement à des nitriles, et le pic de l'éthylène élué à environ 4 min. La différence principale entre les échantillons réside dans le nombre de molécules générées par la pyrolyse, à savoir 40, 62 et 91 composés identifiés dans les tholins à 2%, 5% et 10% de CH₄ respectivement. Quelle que soit la famille chimique, le nombre de pyrolysats augmente lorsque le taux de CH₄ augmente. Les tholins à 2% et 5% de CH₄ sont très similaires dans la nature des pyrolysats libérés, tandis que ceux à 10% diffèrent par leur plus grande richesse en hydrocarbures.

Etude semi-quantitative Une étude semi-quantitative a été menée sur sept nitriles. L'étude des aires des pics chromatographiques correspondant à ces nitriles en fonction de la température montre que la tendance globale est l'augmentation de la quantité de nitriles détectés avec la température croissante. L'augmentation de la température de pyrolyse conduit cependant aussi à une évolution thermique de la matière organique, avec une multiplication de produits de pyrolyse issus de la cyclisation et de l'aromatisation des molécules. On observe aussi que la quantité de nitriles détectés est d'autant plus faible que la chaîne carbonée est longue, ce qui peut partiellement s'expliquer par une fragmentation thermique des chaînes les plus longues. Les ratios des aires des pics chromatographiques des différents nitriles étant constants quelle que soit la température, le matériau semble homogène en terme de distribution des nitriles.

Conclusions Notre étude montre que, après avoir été utilisée avec succès dans de nombreuses missions spatiales, la Pyr-GCMS peut encore être améliorée et les analyses optimisées pour une future étude *in situ* des aérosols de Titan. La pyrolyse à 500°C semble être le meilleur compromis entre la détection d'un maximum d'espèces (en nombre et en quantité) et la formation d'un minimum d'artéfacts de pyrolyse. Nous avons mis en évidence une différence à la fois dans la nature et dans la quantité des composés libérés par les trois échantillons étudiés. La formation de composés poly-azotés serait facilitée par un faible taux de CH₄, tandis que les échantillons synthétisés avec un taux de CH₄ élevé contiendraient plus de chaînes hydrocarbonées. Les échantillons diffèrent principalement par le nombre de molécules libérées, qui augmente lorsque la concentration initiale de CH₄ augmente. Cela peut s'expliquer par une thermolabilité croissante des échantillons lorsque l'aliphatité augmente.

Une même signature principale formée de nitriles et d'éthylène a été identifiée pour tous les échantillons.

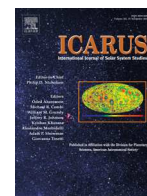
La pyrolyse à 600°C utilisée pour l'expérience ACP est donc proche de l'optimum pour l'analyse de molécules constitutives des aérosols de Titan, bien que le taux de composés aromatiques puisse être surestimé à cette température. De plus, la Pyr-CPG-SM étant sensible à l'évolution chimique elle pourrait être un outil pertinent pour la mesure de l'évolution chimique des aérosols dans l'atmosphère de Titan, y compris pour des analyses semi-quantitatives du contenu en nitriles.

Compte tenu de l'efficacité de la Pyr-CPG-SM dans le domaine de l'exploration spatiale, il ne fait aucun doute que cette technique sera intégrée à de futures sondes spatiales, comme cela est déjà prévu pour l'expérience MOMA-GCMS à bord du rover ExoMars-2020. Simple et robuste, l'instrument pourrait aussi être proposé pour une future mission d'analyse de matériaux solides présents dans l'atmosphère et à la surface de Titan. Les résultats obtenus lors de la présente étude seraient d'une aide précieuse lors de l'interprétation de futures données d'analyse par Pyr-CPG-SM de matière organique extraterrestre, que ce soit dans le cas de Titan, de matière cométaire, de surfaces planétaires ou d'astéroïdes.

Carrasco, N., Jomard, F., Vigneron, J., Etcheberry, A., Cernogora, G., 2016. Laboratory analogues simulating Titan's atmospheric aerosols: Compared chemical compositions of grains and thin films. *Planet. Space Sci.* 128, 52–57. doi:10.1016/j.pss.2016.05.006

Mahjoub, A., Schwell, M., Carrasco, N., Benilan, Y., Cernogora, G., Szopa, C., Gazeau, M.C., 2016. Characterization of aromaticity in analogues of Titan's atmospheric aerosols with two-step laser desorption ionization mass spectrometry. *Planet. Space Sci.* 131, 1–13. doi:10.1016/j.pss.2016.05.003

Morisson, M., Szopa, C., Carrasco, N., Buch, A., Gautier, T., 2016. Titan's organic aerosols: Molecular composition and structure of laboratory analogues inferred from pyrolysis gas chromatography mass spectrometry analysis. *Icarus* 277, 442–454. doi:10.1016/j.icarus.2016.05.038



Titan's organic aerosols: Molecular composition and structure of laboratory analogues inferred from pyrolysis gas chromatography mass spectrometry analysis



Marietta Morisson^{a,b,*}, Cyril Szopa^{b,c}, Nathalie Carrasco^{b,c}, Arnaud Buch^a, Thomas Gautier^d

^a LGPM Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, Ecole CentraleSupelec, Châtenay-Malabry Cedex, France

^b LATMOS/IPSL, UVSQ Université Paris-Saclay, UPMC Univ. Paris 06, CNRS, Guyancourt, France

^c Institut Universitaire de France, Paris F-75005, France

^d NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, MD 20771, United States

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 August 2015

Revised 23 May 2016

Accepted 26 May 2016

Keywords:

Titan

Atmospheres, composition

Experimental techniques

Saturn, satellites

Prebiotic chemistry

ABSTRACT

Analogues of Titan's aerosols are of primary interest in the understanding of Titan's atmospheric chemistry and climate, and in the development of in situ instrumentation for future space missions. Numerous studies have been carried out to characterize laboratory analogues of Titan aerosols (tholins), but their molecular composition and structure are still poorly known. If pyrolysis gas chromatography mass spectrometry (pyr-GCMS) has been used for years to give clues about their chemical composition, highly disparate results were obtained with this technique. They can be attributed to the variety of analytical conditions used for pyr-GCMS analyses, and/or to differences in the nature of the analogues analyzed, that were produced with different laboratory set-ups under various operating conditions.

In order to have a better description of Titan's tholin's molecular composition by pyr-GCMS, we carried out a systematic study with two major objectives: (i) exploring the pyr-GCMS analytical parameters to find the optimal ones for the detection of a wide range of chemical products allowing a characterization of the tholins composition as comprehensive as possible, and (ii) highlighting the role of the CH₄ ratio in the gaseous reactive medium on the tholin's molecular structure. We used a radio-frequency plasma discharge to synthesize tholins with different concentrations of CH₄ diluted in N₂. The samples were pyrolyzed at temperatures covering the 200–700°C range. The extracted gases were then analyzed by GCMS for their molecular identification.

The optimal pyrolysis temperature for characterizing the molecular composition of our tholins by GCMS analysis is found to be 600°C. This temperature choice results from the best compromise between the number of compounds released, the quality of the signal and the appearance of pyrolysis artifacts. About a hundred molecules are identified as pyrolysates. A common major chromatographic pattern appears clearly for all the samples even if the number of released compounds can significantly differ. The hydrocarbon chain content increases in tholins when the CH₄ ratio increases. A semi-quantitative study of the nitriles (most abundant chemical family in our chromatograms) released during the pyrolysis shows the existence of a correlation between the amount of a nitrile released and its molecular mass, similarly to the previous quantification of nitriles in the plasma gas-phase. Moreover, numerous nitriles are present both in tholins and in the gas phase, confirming their suspected role in the gas phase as precursors of the solid organic particles.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Titan's surface is well known for being hidden by a thick photochemical haze made of organic aerosols. Knowledge of the

aerosol's chemical composition is of major importance since they play a prominent role in the radiative equilibrium of the satellite (Flasar et al., 2005; McKay et al., 1991). They contribute to the surface spectral signature (Tomasko et al., 2005), act as a sink for carbon-containing molecules in the gas phase (Lebonnois, 2002) and probably as condensation nuclei for the formation of clouds (Mayo and Samuelson, 2005). Moreover, Titan is the only body in the Solar System – besides Earth – to have a well-established

* Corresponding author at: Laboratory of Chemical Engineering and Materials, CentraleSupelec, Université Paris-Saclay, 92295 Châtenay-Malabry, France
E-mail address: marietta.morisson@centralesupelec.fr (M. Morisson).

complex organic chemistry. This particularity makes Titan one of the most interesting objects for astrobiology and the search for an extraterrestrial form of prebiotic chemistry in the Solar System (Raulin, 2007).

The chemical composition of Titan's organic aerosols remains poorly characterized in spite of the numerous results from the Cassini–Huygens space mission. The Cassini/VIMS and Cassini/CIRS infrared spectrometers did not provide detailed data on the aerosol composition (Hirtzig et al., 2013; Vinatier et al., 2012), neither did the Huygens/DISR experiment which analyzed the surface and atmosphere during the Huygens probe descent in 2005 (Tomasko et al., 2005). The Huygens/ACP-GCMS experiment analyzed the chemical composition of aerosols collected in the atmosphere. The condensed molecules present in the samples were released during a first heating at 250°C and analyzed by gas chromatography–mass spectrometry. The same procedure was done at 600°C to characterize the products of pyrolysis of the refractory core. Technical issues encountered by the ACP experiment were reported in the supplementary information of the Israel et al. (2005) article. They involved a leak of the sealing valve of the oven. The lack of tightness during the analysis prevented the efficient transfer of the volatile molecules released at 250°C to the GCMS experiment, resulting in the absence of an obvious GCMS signature of these molecules. These ACP issues however did not affect the MS analysis of the remaining refractory part of the sample extracted at 600°C. The experiment detected hydrogen cyanide (HCN) and ammonia (NH₃) in the 600°C pyrolysis products, proving that the aerosols are made up of a core of refractory organics – including N-bearing compounds – without any other information about the aerosol's molecular structure (Israel et al., 2002, 2005). Laboratory experiments are thus, to date, more likely to provide information about physical and chemical properties of the aerosols. This is the reason why Titan's aerosol laboratory analogues, named “tholins” in the following, have been studied since the 1980s (Khare et al., 1981).

Pyrolysis–GC–MS is one of the most commonly used techniques for the molecular analysis of tholins, because of its efficiency and simplicity of implementation. However the variability in the nature of the analogues (Cable et al., 2012), as well as in the conditions, instruments and techniques used for the analyses, leads to disparate results which are difficult to compare. Table 1 lists the analytical and sample synthesis conditions for all the previous pyr-GCMS studies. It shows that at least one parameter changes from one study to another, preventing definitive comparisons. For example, the choice of the chromatographic column impacts the type of compounds that can be analyzed. For instance, the use of a porous layer open tubular (PLOT) column generally focuses on volatile compounds (C₁ to C₅), whereas wall coated open tubular (WCOT) columns rather allow the separation of heavier compounds.

The most recent tholins analyses dismiss the hypotheses of a purely polymeric (poly-HCN, poly-HC₃N) or co-oligomeric (HCN–C₂H₂ or HCN–HC₃N) structure (Israel et al., 2002, 2005; Khare et al., 1981), in favor of a more irregular structure (Coll et al., 2013). Studies carried out with *a priori* comparable samples – synthesized from equivalent gas mixtures (N₂:CH₄, ratio 90:10) with cold plasma discharges – still diverge about the nature of the macromolecules. They are mostly aromatic or poly-aromatic hydrocarbons according to the Pyr-GCMS analysis by Coll et al. (1998). The study by McGuigan et al. (2006) reveals N-heterocycles (pyrroles) by GC×GC-TOF-MS analysis. And the nature of the macromolecules is found to be an open-chain structure according to the TG-MS study by Nna-Mvondo et al. (2013), who, on the contrary, do not detect any aromatic, polyaromatic or cyclic compound.

The compounds detected in previous studies of thermal degradation of tholins are listed in Table 2. All these molecules, produced from tholins pyrolysis, are divided into seven main

chemical families: alkanes, alkenes, alkynes, aliphatic nitriles, aromatic nitriles, aromatic and cyclic hydrocarbons, and nitrogenous heterocycles. The “isomer” section of the table gives the empirical formula of the compounds whose exact isomeric structure could not be determined.

We should also mention that – except in the case of the study done by (Khare et al., 1981), where water was used in the initial gaseous mixture – the presence of oxygen bearing molecules, listed in the last section of the table, is due to a contamination, most probably by the molecular oxygen from the ambient air (Brassé, 2014).

As reported in Table 1, thermal degradation studies have been carried out on tholins produced under various experimental conditions. One of the main parameters is the composition of the initial gas mixture used for the synthesis (only CH₄ and N₂, or in presence of H₂O or H₂), but the effect of the pressure inside the reaction chamber is also investigated in (Imanaka et al., 2004). In the case of N₂:CH₄ mixtures, the 90:10 ratio is widely favored. Samples produced from mixtures with different CH₄/N₂ ratios are analyzed by GC–MS after a 750°C pyrolysis by (Coll et al., 2013). They however do not find any qualitative difference among the pyrolysates. They also compare the Huygens ACP experiment data with their results – obtained from pyrolysis of four kinds of samples: hydrogen cyanide polymer, solid hydrocarbons (polyethylene and anthracene), and tholins synthesized with cold and hot plasmas. The plasma is “cold” when the plasma heating does not significantly alter the temperature of the neutral gas. Coll et al. conclude that tholins produced in a cold plasma are the most similar analogues to Titan's aerosols regarding the volatiles released during pyrolysis.

Analysis conditions represent an additional variable, in terms of choice of chromatographic column (e.g. CP5i5-CB (Coll et al., 1998), DB-1 and RTX-Wax (McGuigan et al., 2006), PoraPLOT Q (Buch et al., 2006; Coll et al., 2013; Pietrogrand et al., 2001) and DB-5 (Ehrenfreund et al., 1995; Khare et al., 1984)) as well as of column temperature program, pressure conditions or pyrolysis temperature. These parameters are decisive for the kind of molecules, which are analytically detectable (polar/non-polar, heavy/light) with GCMS analysis. Lastly, the choice of pyrolyzer is important in the thermal decomposition process from solid to gas phase. Some pyrolyzers are indeed limited in the reachable pyrolysis temperature, as are the Curie point pyrolyzers. The geometry of the pyrolyzers and the residence-time of the pyrolysates are also variable, leading to a different recombination of species inside the oven (Moldoveanu, 1998). All these varying parameters explain the heterogeneity of the published studies.

Considering the disparity in the nature of the samples and in the analytical conditions used in previous studies, we carry out a systematic analysis of tholins produced in well-constrained pyr-GCMS conditions. Besides determining the composition and structure of these analogues of Titan's aerosols, the major objectives of this study are:

- (i) To determine the variability in the tholins molecular composition for samples produced with different initial gas mixtures (methane concentrations between 2% and 10%) in the same conditions and with a given experimental device. The influence of the methane concentration on the tholins chemical composition has been highlighted in Sciamma-O'Brien et al. (2010) and Pernot et al. (2010). Sciamma-O'Brien et al. (2010) carried out elementary analyses on tholins samples synthesized with the PAMPRE experiment in 2010. They showed that the C/N ratio increases when the CH₄ concentration increases. In Pernot et al. (2010) a study of the tholins soluble fraction by high-resolution mass spectrometry showed an increase in the number of methylene (–CH₂–) groups with regard to nitrogen-bearing groups and a higher

Table 1

Summary table of the analysis parameters used for previous studies of Titan tholins thermal degradation. If a pressure or a flow is given in the “column pressure/flow” column, the analysis was done at constant controlled pressure or constant controlled flow respectively. NMR: nuclear magnetic resonance; IR: infrared; TOF-MS: time of flight mass spectrometry; TG: thermogravimetric analysis; DTA: differential thermal analysis; DTG: derivative thermogravimetric analysis; DSC: differential scanning calorimetry; (s): stepwise heating; (c): continue heating.

No.	Publication	Gas mixture	Energy source	Analysis method	Chromatographic column	$T_{\text{pyrolysis}}$	Column pressure/flow	GC temperature program
1	Khare et al. (1981)	CH ₄ /NH ₃ /H ₂ O (51.5:45.9:2.6)	Hot plasma (spark discharge)	Pyr-GCMS	150' × 0.02" i.d. OS 138- polyphenylether/SCOT	150–600°C (c) 600°C (s)	N.D.	10 min at 40°C 2.5°C min ⁻¹ to 190°C
2	Khare et al. (1984)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Cold plasma (direct current electrical discharge)	Pyr-GCMS	DB-5 fused silica 30 m	Room temperature to 700°C (c) and (s)	2 cc min ⁻¹	4°C min ⁻¹ from room temperature to 250°C
3	Scattergood (1987)	N ₂ /CH ₄ /H ₂ (96.8:3:0.2)	Hot plasma (spark discharge)	Pyr-GC	Porapak	20–700°C (s)	N.D.	N.D.
4	Ehrenfreund et al. (1995)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Cold plasma (corona discharge)	Pyr(Curie)- GCMS	J & W DB-5 fused silica 30 m, 0.25 mm ID	770 °C	N.D.	4 °C min ⁻¹ from -10 °C to 300 °C
5	Clarke and Ferris (1997)	(poly-HC ₃ N)	UV (185 nm)	Pyr-RMN/IR	–	–	–	–
6	Coll et al. (1998)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Hot plasma (spark discharge)	Pyr(oven)- GCMS	CPSil 5 CB 25 m, 0.15 mm ID	600°C	1.6 bar	20 min at 30 °C 4 °C min ⁻¹ to 150 °C 10 min at 150 °C
7	Pietrogrand et al. (2001)	CH ₄ /N ₂ (90:10)	Cold plasma (corona discharge)	Pyr(Curie)- GCMS	PoraPlot Q fused-silica 25 m, 0.32 mm ID	750°C	N.D.	10 °C min ⁻¹ to 240 °C 30 min at 240 °C
8	McGuigan et al. (2006)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Cold plasma discharge	Pyr(Curie)	(1) J and W DB-1 GC×GC- TOF-MS	250–900 °C (c) and (s)	1.5 cc min ⁻¹	(1) 5 min at 40 °C then 3 °C min ⁻¹ to 190 °C hold 45 min (2) Temperature maintained 5 °C greater than (1) 2 min at 100 °C 10 °C min ⁻¹ to 240 °C 40 min at 240 °C
9	Szopa et al. (2006)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Cold plasma (capacitively coupled plasma, CCP)	Pyr(oven)- GCMS	PoraPlot Q 30 m × 0.25 mm × 0.10 μm	650 °C	7.5 psi	2 min at 100 °C 10 °C min ⁻¹ to 240 °C 40 min at 240 °C
10	De La Fuente et al. (2011)	(poly-HCN)	–	TG-MS, DTA, DSC	–	Room temperature to 1000 °C (c)	–	–
11	la Fuente et al. (2012)	N ₂ /CH ₄ /H ₂ (96.8:3:0.2)	Hot plasma (spark discharge)	TG-MS, DTA, DTG	–	Room temperature to 1000 °C (c)	–	–
12	Nna-Mvondo et al. (2013)	N ₂ /CH ₄ (90:10)	Cold plasma (inductive- coupled plasma, ICP)	TG-MS, DTA, DTG	–	Room temperature to 1000 °C (c)	–	–
13	Coll et al. (2013)	(poly-HCN)	Anhydrous or in aqueous solution synthesis	Pyr-GCMS (platinum coil filament)	PoraPlot Q 25 m, 0.32 mm ID	750°C	1.5 ml min ⁻¹	2 min at 60 °C 10 °C min ⁻¹ to 240 °C 30 min at 240 °C
14	Coll et al. (2013)	N ₂ /CH ₄	Hot plasma (spark discharge, laser)	–	–	–	–	–
15	Coll et al. (2013)	N ₂ /CH ₄	Cold plasma (corona discharge, CCP)	–	–	–	–	–
16	Coll et al. (2013)	(poly-C _n H _n)	–	–	–	–	–	–
17	He et al. (2014)	N ₂ /CH ₄ (95:5)	Cold plasma (CCP)	TG-MS, DSC, DTG	–	–	–	–

complexity of the material when the CH₄ concentration increases. The different samples studied here have therefore a significant variability in their chemical composition, but their molecular variation has not been addressed yet;

- (ii) To study the influence of the pyr-GCMS analytical conditions on the nature of the detected species. The main parameters

to be studied are: the influence of the pyrolysis temperature on the nature of the released products; the temperature program used to heat the GC column in order to find a tradeoff for the analysis of both the lightest and the heaviest compounds; the separation of the same pyrolysates by two different columns.

Table 2

List of compounds detected in previous thermal degradation and molecular composition studies of tholins. The superscripted numbers refer to the studies where each molecule has been detected, as listed in Table 1, first column. When several isomers of a molecule have been detected, the number is specified in brackets.

Ammonia		
Ammonia ^{1, 4, 5, 7, 10, 12, 14, 17}		
Alkane hydrocarbon		
Methane ^{3, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 15}	Isobutane ^{2, 3}	Pentadecane ⁸
Ethane ^{1, 3, 5, 7, 13, 14, 15, 17}	2-Methylbutane ⁷	Tridecane ⁸
Propane ^{2, 3, 12, 13, 15, 17}	Pentane ^{1, 16}	Dodecane ⁸
2-Methylpropane ^{7, 13}	Hexane ¹³	Undecane ⁸
Butane ^{1, 3, 13}	Heptane ^{2, 13}	Decane ⁸
Alkene		
Ethylene ^{3, 5, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17}	Pentene ^{1, 2}	Heptene ^{2, 6, 13}
Propene ^{1, 2, 7, 9, 11, 13}	1-Pentene ¹³	Heptadiene ^{13(2 isomers), 15}
Propadiene ⁷	3-Methyl-1-pentene ¹³	Pentadecene ⁸
1,2-Propadiene ^{13, 15}	Pentadiene ^{9(2 isomers), 13, 14, 15}	Tridecene ⁸
1-Butene ^{1, 2, 6, 7, 9, 13, 16}	1,2-Pentadiene ⁶	Dodecene ⁸
2-Butene (E) ^{6, 7, 9, 13, 14}	1,3-Pentadiene ^{6, 13}	Undecene ⁸
2-Butene (Z) ¹³	1,4-Pentadiene ^{6, 7}	Decene ⁸
2-Methylpropene ⁶	2,3-Pentadiene ^{6, 7}	1-Hexene ¹³
Butadiene ^{1, 7, 9}	Hexene ²	2-Hexene ¹³
1,2-Butadiene ^{13, 15}	1,5-Hexadiene ¹³	3-Methyl-1-hexene ⁶
1,3-Butadiene ^{6, 14}	1,3,5-Hexatriene ⁶	5-Methyl-1-hexene ⁶
2-Methyl-1,3-butadiene ⁶	2-Methyl-1,3,5-hexatriene ¹³	Hexadiene ²
3-Methyl-1,2-butadiene ⁶		
Alkyne		
Acetylene ^{3, 11, 13, 14, 15}	1-Penten-3-yne ⁶	2-Hexen-4-yne ⁶
Methylacetylene ³	3-Methyl-2-penten-4-yne ⁶	1,3-Hexadien-5-yne ⁶
Propyne ^{7, 13, 15}	2-Penten-5-yne ⁶	1,5-Hexadien-3-yne ⁶
1-Butyne ^{6, 7, 13, 16}	3-Hexen-1-yne ⁶	1,5-Hexadiyne ⁶
2-Butyne ²	1-Hexen-3-yne ⁶	2,4-Hexadiyne ⁶
2-Methyl-1-buten-3-yne ^{6, 13}		
Aliphatic nitrile		
Hydrogen cyanide ^{1–5, 7, 9–12, 14–17}	Butyronitrile ^{4, 6, 8, 9}	2-Cyano-1-butene ²
Acetonitrile ^{1–9, 11, 12, 14, 15, 16, 17}	Isobutyronitrile ^{2, 4, 6, 7, 8, 14}	Pentanenitrile ^{1, 16}
Cyanogen ^{3, 7, 9, 14, 16, 17}	But-2-enenitrile ^{2, 4}	2-Pentenitrile ^{2, 6}
Propionitrile ^{1, 2, 4, 5, 7, 8, 11, 14, 15, 17}	Succinonitrile ¹	3-Pentenitrile ⁸
Acrylonitrile ^{1, 4, 5, 6, 7, 9, 14, 15, 16, 17}	Butenenitrile ⁹	2,4-Pentadienenitrile ⁸
Propenenitrile ⁷	2-Butenenitrile ^{6, 8}	5-Hexenenitrile ²
Methacrylonitrile ^{2, 4, 6, 7, 14, 15}	3-Butenenitrile ^{2, 4, 6, 7, 8}	Hexanenitrile ⁸
Ethacrylonitrile ⁶		
Aromatic nitrile		
Benzonitrile ^{1, 2, 6, 7, 8}	Dicyanobenzene ²	1,2,4-Tricyanobenzene (non volatil) ⁵
Methyl-benzonitrile ⁷	1,3-Dicyanobenzene (non volatil) ⁵	1,3,5-Tricyanobenzene (non volatil) ⁵
Tolunitrile ^{1, 2}	1,4-Dicyanobenzene (non volatil) ⁵	
Aromatic and cyclic HC		
Cyclopropane ¹¹	1,2-Dimethyl-benzene ^{6, 9}	2-Methyl-1-ethenylbenzene ⁶
Methylcyclobutane ¹³	1,3-Dimethyl-benzene ^{6, 9}	3-Methyl-1-ethenylbenzene ⁶
1,2-Dimethyl-cyclopentane ⁶	1,4-Dimethyl-benzene ^{6, 9}	4-Methyl-1-ethenylbenzene ⁶
1,3-Dimethyl-cyclopentane ⁶	Ethylbenzene ^{6, 8, 9}	Alpha-propynylbenzene ⁶
Cyclopentene ^{2, 13}	Ethenylbenzene ^{2, 6, 7}	Alpha-beta-propadienylbenzene ⁶
1,3-Cyclopentadiene ^{6, 7, 15}	Diethenylbenzene ²	4-Methyl-1-ethynylbenzene ⁶
1-Methyl-cyclopentadiene ⁶	1,2,3-Trimethylbenzene ⁶	Toluene ^{1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15}
5-Methyl-cyclopentadiene ⁶	1,2,4-Trimethylbenzene ⁶	C3-Alkylbenzene ¹
Methylcyclohexane ¹³	1,3,5-Trimethylbenzene ⁶	C2-Alkylindane ¹
Cyclohexene ¹³	Isopropylbenzene ⁶	Indene ^{2, 8}
Cyclohexadiene ¹³	2-Methyl-1-ethylbenzene ⁶	Methyl-indene ^{1, 2, 8}
1,3-Cyclohexadiene ⁶	3-Methyl-1-ethylbenzene ⁶	1,3-Dimethyl-indene ⁸
1,4-Cyclohexadiene ⁶	4-Methyl-1-ethylbenzene ⁶	1-Methylene-indene ⁶
4-Methyl-cyclohexene ^{13(2 isomers)}	Methyl-ethenylbenzene ²	Azulene ⁶
Cycloheptane ⁶	Alpha-methyl-ethenylbenzene ⁶	Naphthalene ^{6, 8}
Benzene ^{2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 17}	Beta-methyl-ethenylbenzene ⁶	Methyl-naphthalene ²
Dimethyl-benzene ^{1, 2}	Beta-propenylbenzene ⁶	
Nitrogenous rings		
Dimethyl-aziridine ²	Pyridine ^{2, 4, 7, 8, 14, 15, 16}	Pyrimidine ^{4, 7}
Azetidine ²	Methyl-pyridine ^{2, 4}	Methyl-pyrimidine ^{2, 4}
1H-Pyrrole ^{2, 4, 6, 7, 8}	2-Amino-pyridine ²	2-Methyl-pyrimidine ⁷
Imidazole ²	2-Cyano-pyridine ²	4-Methyl-pyrimidine ⁷
Methyl-1H-pyrrole ^{2, 4, 8(2 isomers)}	2-ethyl-pyridine ^{2, 4}	2-Amino-pyrimidine ²
Dimethyl-1H-pyrrole ^{2, 8(6 isomers)}	Dimethyl-pyridine ²	Dimethylpyrimidine ²
Ethyl-1H-pyrrole ^{2, 4}	Amino-methyl-pyridine ²	Aminomethyl-pyrimidine ²
Ethyl-methyl-1H-pyrrole ^{8(4 isomers)}	Trimethyl-pyridine ²	Triazine ²
Trimethyl-1H-pyrrole ^{2, 8(3 isomers)}	Dimethyl-amino-pyridine ²	Indole ¹
Ethyl-dimethyl-1H-pyrrole ^{8(3 isomers)}	Pyridazine ²	Benzimidazole ²

(continued on next page)

Table 2 (continued)

Tetramethyl-1H-pyrrole ⁸	Pyrazine ^{2, 4}	Methyl-benzimidazole ²
Ethyl-trimethyl-1H-pyrrole ^{8(2 isomers)}	2-Methyl-pyrazine ^{2, 4}	Indazole ²
Diethyl-methyl-1H-pyrrole ⁸	Dimethyl-pyrazine ²	Ethyl-indole ²
3-Methyl-pyrrolidine ²	2,5-Dimethyl-3-ethyl-pyrazine ²	Adenine ²
Isomers		
C ₄ H ₈ ^{15 (3 isomers), 17}	C ₄ H ₇ N ¹⁷	C ₆ H ₁₀ ¹³
C ₄ H ₆ ^{12, 15, 17}	C ₅ H ₁₀ ¹³	C ₇ H ₁₂ ¹³
C ₄ H ₅ N ^{14, 15, 17}	C ₅ H ₈ ^{13, 14, 17}	C ₈ H ₁₀ ⁹
O-compounds		
Carbon monoxide ^{5, 12, 17}	Acetic acid ^{1, 4}	Butanone ⁷
Carbon dioxide ^{1, 4, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17}	Acetamide ^{4, 7}	Fulminic acid ¹⁰
Water ^{7, 12, 13, 14, 15, 16, 17}	Isocyanic acid ^{4, 11, 12}	Nitric oxide ^{11, 17}
Formamide ^{7, 10}		

2. Experimental

2.1. Samples synthesis with the PAMPRE laboratory experiment

PAMPRE (French acronym for Production d'Aérosols en Microgravité par Plasmas REactifs) is a laboratory radio-frequency cold plasma experiment developed to produce and analyze Titan's aerosol analogues. A detailed description of the PAMPRE set-up is found in (Szopa et al., 2006).

Three different tholin samples are produced at room temperature for this study. The syntheses are done under a 55 sccm continuous flow of a N₂:CH₄ gas mixture including 2%, 5% and 10% of methane. The reaction chamber is supplied by two high purity gas bottles, one of pure N₂ (H₂O < 3 ppm, O₂ < 2 ppmv, C_xH_y < 0.5 ppmv) and one containing a N₂-CH₄ mixture with 10% ± 0.2%v CH₄ (H₂O < 3 ppmv, O₂ < 2 ppmv).

The three samples are named 2%-tholins, 5%-tholins and 10%-tholins respectively. The pressure in the reactor chamber is set to 0.86 mbar, corresponding to a quasi-static state of the gas. The injected RF power supplied by the generator is 30 W.

We use a CH₄ concentration range as wide as possible, since the methane ratio in Titan's atmosphere varies with altitude, but also with geological time scale (Tobie et al., 2009).

Tholins are trapped in a glass vessel, which is extracted at ambient air after opening the reactor. Samples are transferred from the glass vessel to tightly sealed vials, which are stored at room temperature (from one to a few dozen days) before analysis. A few hundred milligrams of 2%-tholins and 5%-tholins and a few dozen milligrams of 10%-tholins are produced for this study.

2.2. Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry

2.2.1. Apparatus

Pyr-GCMS experiments are carried out with a commercial gas chromatograph (GC) Trace GC Ultra and a commercial ion trap mass spectrometer (MS) ITQ 900, both from Thermo Scientific.

The GC is first equipped with a capillary MXT – Q PLOT column (30-m long, 0.25-mm inner diameter, 10 μm film thickness) from Restek. Its non-polar stationary phase of divinylbenzene is adapted for the analyses of molecules with one to three carbon atoms (C₁ to C₃) and for alkanes up to C₁₂. Then the GC is equipped with a capillary Agilent DB-5MS column (30-m long, 0.25-mm inner diameter, 0.25 μm film thickness) with a non-polar stationary phase of (dimethyl-phenyl) siloxane polymer, particularly suited to polycyclic aromatic compounds and hydrocarbons analysis. These two different columns are chosen to allow the detection of compounds of a wide range of masses. The first one (Q-PLOT) targets the lightest organic and inorganic molecules, whereas the second one (DB-

5MS) is rather dedicated to organic species of higher molecular weights.

A Pyrojector II pyrolysis oven (SGE Analytical Science, Trajan Scientific, Australia) is coupled to the GC Split-Splitless (SSL) injector. The pyrolyzer is chosen so that the oven can be heated to any temperature between room temperature and 900°C. The oven is flowed with helium at a constant rate with an adjustable pressure. With this set-up, a quasi-instantaneous pyrolysis is obtained when the sample is introduced into the oven. Pyrolytic products are transferred toward the head of the chromatographic column when an overpressure is maintained into the pyrolyzer compared to the chromatograph.

2.2.2. Analysis protocol

The sample is introduced into a 40-mm long, 0.5-mm outer diameter quartz liner. The liner is filled up with 1.0 ± 0.3 mg of tholins. Samples (2%, 5% and 10%-tholins) are pyrolyzed at each temperature between 200°C and 600°C with a 100°C step, in order to determine if the pyr-GCMS technique allows to discriminate between the 2%, 5% and 10%-tholins samples through their thermal decomposition products. A new un-pyrolyzed sample is used for each pyrolysis temperature. In order to ensure the cleanliness of the signal, a blank is recorded before each analysis using the same analytical conditions as for the samples.

The liner is introduced into the oven settled on a given pyrolysis temperature. The helium pressure is set to 23.8 psi into the pyrolyzer (5 psi overpressure with regard to the GC). The helium flow in the chromatographic column is 1.5 ml min⁻¹ (129 kPa, 18.8 psi at 60°C). The split ratio is 1:10. The acquisition starts simultaneously with the injection.

The Q-PLOT column temperature program is: 60°C starting temperature, then a heating at a 10°C min⁻¹ rate, and a final temperature of 190°C held for 17 min. The total GC run duration is 30 min. When the DB-5MS column is used, the analytical program is a 40°C isotherm for the 30 min of acquisition. Mass spectra are recorded in the 12–300 *m/z* range. The MS ion source temperature is 200°C. Identification of the pyrolysates is made by comparing their mass spectra with the NIST data base spectra and, for some of them, confirmed by injecting analytical standards.

Numerous chromatograms are run in order to determine the optimal analytical parameters, allowing the best chromatographic separation with a maximum number of detectable compounds. The systematic study of the effect of the pyrolysis temperature is carried out with the Q-PLOT column. Considering that the largest number of molecules analyzed with the Q-PLOT column is obtained at 600°C pyrolysis temperature, we focus the analysis done with the DB-5MS column on this specific temperature. The choice of the chromatographic column and the pyrolysis temperature is discussed in the next paragraphs.

Table 3

Compounds identified after pyrolyses of 10%-tholins. Temperature range where the molecule has been detected are given in the third column. Molecules in red were detected with the DB-5MS column only. Molecules marked with an asterisk were confirmed by injecting analytical standards.

10% Q-PLOT et DB-5MS: 91 compounds		
Alkanes (4)		
Empirical formula	Compound	T (°C)
C ₂ H ₆	Ethane	400–600
C ₃ H ₈	Propane (co-elution ethylene)	500–600
C ₄ H ₁₀	Isobutane	400–600
C ₅ H ₁₂	2-Methylbutane*	500–600
Alkenes (6)		
C ₃ H ₆	Propylene	300–600
C ₂ H ₄	Ethylene	200–600
C ₄ H ₈	2-Methyl-propene	300–600
C ₄ H ₈	2-Butene	400–600
C ₄ H ₈	1-Butene	400–600
C ₅ H ₈	Cyclopentene*	500–600
Aliphatic nitriles (16)		
HCN	Hydrogen cyanide	200–600
C ₂ H ₃ N	Acetonitrile*	200–600
C ₃ H ₃ N	Acrylonitrile	200–600
C ₃ H ₅ N	Propionitrile	200–600
C ₄ H ₅ N	Methacrylonitrile	300–600
C ₄ H ₇ N	Isobutyronitrile*	200–600
C ₄ H ₅ N	2-Butenenitrile* (2 isomers)	200–600
C ₄ H ₅ N	3-Butenenitrile	400–600
C ₄ H ₇ N	Butyronitrile*	200–600
C ₅ H ₇ N	2-Pentenenitrile	300–600
C ₅ H ₉ N	Pentanenitrile*	300–600
C ₆ H ₁₁ N	Hexanenitrile	400–600
C ₅ H ₅ N	2,4-Pentadienenitrile	600
C ₅ H ₇ N	3-Pentenenitrile*	600
C ₅ H ₇ N	Methyl-butenenitrile	600
Isomers (25)		
	C ₄ H ₈	500–600
	C ₄ H ₆	500–600
	C ₅ H ₁₀ (2 isomers)	500–600
	C ₅ H ₈ (2 isomers)	500–600
	C ₆ H ₁₀ (3 isomers)	500–600
	C ₆ H ₁₂ (2 isomers)	400–600
	C ₅ H ₇ N (7 +1 isomers)	300–600
	C ₅ H ₇ N	200–600
	C ₇ H ₁₀	600
	C ₈ H ₁₂ (3 isomers)	600
	C ₆ H ₇ N	600
Nitrogenous rings (24)		
C ₄ H ₅ N	Pyrrrole	300–600
C ₄ H ₄ N ₂	Pyrimidine*	400–600
C ₅ H ₅ N	Pyridine	300–600
C ₅ H ₆ N ₂	2-Methylpyrimidine	400–600
C ₆ H ₇ N	2-Methylpyridine* (2-picoline)	300–600
C ₆ H ₇ N	3-Methylpyridine* (3-picoline)	300–600
C ₅ H ₆ N ₂	Amino-pyridine	300–600
C ₃ H ₅ N ₃	Methyl-1,2,4-triazole	600
C ₅ H ₇ N	Methyl-pyrrrole (2 isomers)	600
C ₇ H ₉ N	Dimethyl-pyridine (2 isomers)	600
C ₆ H ₈ N ₂	Dimethyl-pyrimidine	600
C ₆ H ₉ N	Dimethyl-pyrrrole (4 isomers)	600
C ₆ H ₉ N	3-Ethyl-pyrrrole	600
C ₇ H ₁₁ N	Ethyl-methyl-pyrrrole (4 isomers)	600
C ₇ H ₁₀ N ₂	Trimethyl-pyrazine	600
C ₇ H ₁₁ N	Trimethyl-pyrrrole	600
Cycles/aromatics (8)		
C ₆ H ₆	Benzene	400–600
C ₈ H ₁₀	1,2-Dimethyl-benzene* (<i>o</i> -xylene)	400–600
C ₈ H ₁₀	1,4-Dimethyl-benzene* (<i>p</i> -xylène)	400–600
C ₇ H ₈	Toluene	600
C ₈ H ₁₀	Ethyl-benzene	600
C ₈ H ₁₀	Dimethyl-benzene (xylene)	600
C ₇ H ₅ N	Benzonitrile	600
C ₉ H ₁₂	Ethyl-methyl-benzene	600

Table 3 (continued)

To be confirmed (8)		
NH ₃	Ammonia (co-elution H ₂ O)	300–400
C ₄ H ₆	Methylene-cyclopropane	500–600
C ₃ H ₆	Cyclopropane (co-elution acetonitrile)	300–600
C ₄ H ₉ N	Amino-cyclobutane	200–600
C ₇ H ₁₃ N	2-Propyn-1-amine	300–600
C ₆ H ₉ N	3-Methyl-2-methylene-butanenitrile	600
C ₇ H ₉ N	Benzylamine	600
C ₉ H ₁₂	Trimethyl-benzene	600
Others		
	Air	200–600
N ₂	Nitrogen	400–600
CO ₂	Carbon dioxide	200–600
H ₂ O	Water	200–600

3. Results and discussion

3.1. Species identified by pyr-GCMS

All the compounds identified after pyrolysis of 10%-tholins are listed in Table 3. For the other samples, the compounds are reported in Tables 5 and 6 as supplementary data. The pyrolysis temperature range where each molecule is detected is specified in the third sub-column. Molecules marked with an asterisk have been confirmed by injecting analytical standards.

No organic oxygen-bearing molecule was detected in a large amount in our analyses. Such molecules are expected to be present in small amount in Titan's aerosols. In spite of their low abundance, they are actually of strong interest in the frame of astrobiology. They are also known to be present in PAMPRE tholins as oxygen represents 2% of the atoms in the tholins (elemental analysis by Fleury et al. (2014)). Oxygen-bearing molecules were also previously identified through GCMS techniques using an additional specific sample preparation described in Horst et al (2012) that involve liquid solvent extraction and derivatization. These oxygen bearing molecules are necessarily present in the chromatograms, but their detection can be difficult compared to the other molecules for different reasons: their signal can be under the detection limits allowed by this analysis; a few of them can be oxidized or decarboxylated (the abundant CO₂ detected being a marker of these processes).

In order to analyze these specific minor oxygenated molecules in the context of Titan, the response of pyr-GCMS analysis towards these species can be enhanced by the addition of sample treatments (solvent extraction followed by chemical derivatization, as done in Hörst et al. (2012) for instance). Other analytical techniques, which are more sensitive to oxygen bearing species, can also be considered such as High Resolution Mass Spectrometry (Pernot et al., 2010).

Fig. 1 shows typical chromatograms obtained after a 600°C pyrolysis of 10%-tholins with the two columns. As expected, the lighter species are actually better separated with the Q-PLOT column. Nevertheless, nearly a third of the identified molecules are detected with the DB-5MS column only, and are highlighted in red in Table 3. They are mainly N-heterocycles, including numerous pyrrole derivatives. The two complementary columns are thus essential to a comprehensive characterization of the pyrolysates.

Five main families of molecules are detected and identified in Table 3: alkanes, alkenes/cycles, aliphatic nitriles, aromatic and nitrogenous cycles. Alkanes, alkenes and nitriles have been generally detected in all the studies.

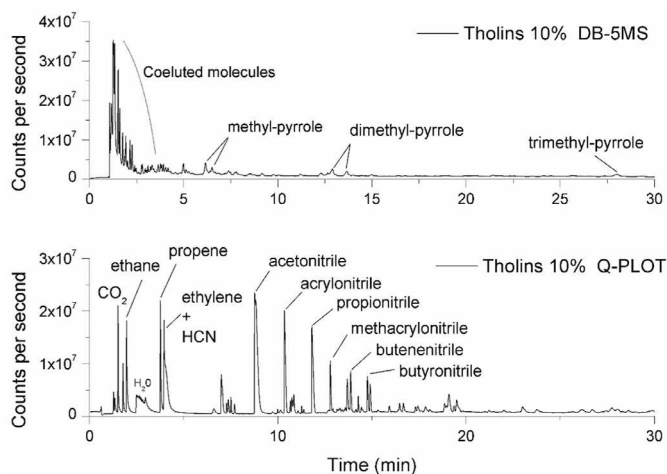


Fig. 1. Chromatograms obtained after a 600°C pyrolysis of 10%-tholins, with the DB-5MS column (top) and Q-PLOT column (bottom).

We notice the absence of alkynes compared to the work by Coll et al. (1998) where dozen of alkynes molecules are detected. This difference is difficult to explain as tholins are produced in cold plasmas in both cases. A solid NMR study of Derenne et al. (2012) is performed on tholins produced with the same experience as in our work. It shows no evidence of alkyne chemical functions in the bulk sample either, confirming the absence (or at least the low amount) of alkyne groups in our case.

Among the aromatic hydrocarbons, benzene and its derivatives are the most represented ones. But the pyr-GCMS studies also show that tholins' main structure is far from a polycyclic aromatic hydrocarbon structure, in agreement with Derenne et al. (2012).

Studies disagree regarding the number and the nature of N-heterocycles. For instance, McGuigan et al. (2006) report no less than 23 pyrroles and alkyl-pyrroles, whereas other studies do not detect any of them. Several structures are only detected in Khare et al. (1984): N-heterocycles with a bicyclic structure (indole, indazole), unstable cycles (aziridine, azetidine) and a few other molecules (adenine, imidazole, pyrrolidine). A possible pyrolysis temperature effect, which is further discussed, could be responsible for this presence of numerous N-heterocycles.

Linear amines are expected to be present in Titan aerosols (Raulin et al., 2012). However neither previous pyr-GCMS studies nor ours detect any of them in Titan's aerosol analogues. Actually, the GCMS technique has limitations for the detection of certain functional groups, including amines and other very polar molecules or molecules with a high molecular weight. Amines are known to adsorb on stainless steel present in the GCMS transfer lines. This is why chemical derivatization methods are under development in order to assist the pyr-GCMS detection (Buch et al., 2009; Freissinet et al., 2010; Geffroy-Rodier et al., 2009; Hörst et al., 2012). Other specific analyses involving different techniques (Infra-Red spectroscopy (Mahjoub et al., 2012), capillary electrophoresis (Cable et al., 2014), NMR (He et al., 2012), derivatization (Hörst et al., 2012)) are also carried out to detect amine molecules. These complementary techniques have actually confirmed the presence of primary and secondary amines in cold plasma tholins.

From these results, Pyr-GCMS is expected to enable the identification of numerous chemical signatures in Titan's aerosols. Two limitations are however highlighted that would require complementary analysis: the aromatic content could be overestimated when on the contrary amine molecules would possibly be underestimated.

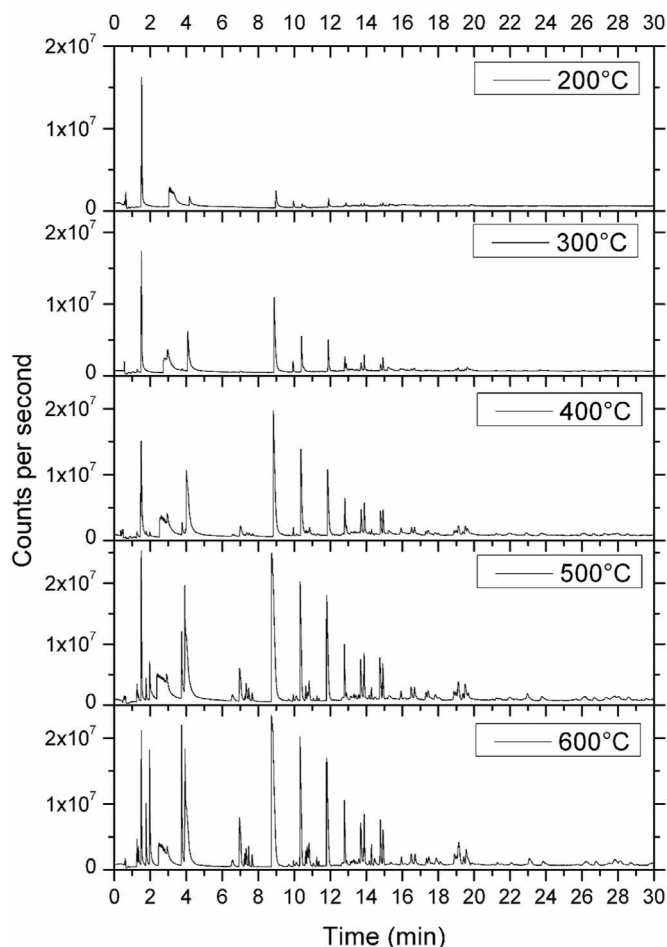


Fig. 2. Evolution of the 10%-tholins pyrogram with the pyrolysis temperature (Q-PLOT column).

3.2. Pyrolysis temperature

Tests have been done at 100°C and 150°C with the 5%-tholins. CO₂ and H₂O are the major species detected with GCMS analysis in this temperature range, with no elution of organics. These molecules are not present in the reactive medium but come from the adsorption on the tholins' surface and are released for this range of pyrolysis temperatures. Previous studies of tholins' thermal degradation by thermogravimetric analysis (TGA) show indeed that between 80 and 200°C, the mass loss is mainly due to moisture vaporization (He et al., 2014; Nna-Mvondo et al., 2013).

For the three tholins samples, thermal degradation starts above 150°C. At 150°C, acetonitrile becomes detectable. And above 200°C, light molecules – bearing up to four carbon atoms – are efficiently released.

The three samples follow the same evolution, with a higher total number of released species for the 10%-tholins sample. The evolution as a function of the pyrolysis temperature of the 10%-tholins pyrogram is given in Fig. 2. It illustrates the increase of the number and of the intensity of the chromatographic peaks when the pyrolysis temperature increases. This increase is observed up to 600°C where a maximum number of species are detected. The above-mentioned TGA studies highlight an important decomposition process in the 200–550°C temperature range. Above 600°C, carbonization becomes a major process, leading to the production of a more and more amorphous graphitic carbon nitride structure (Bonnet et al., 2015).

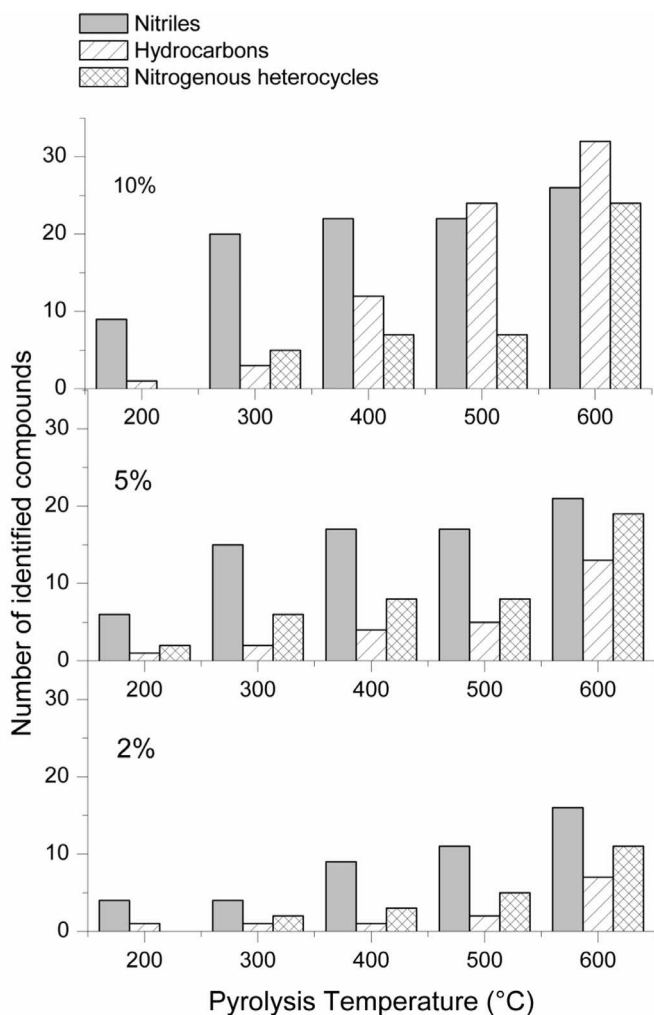


Fig. 3. Evolution of the number of types of molecules grouped by chemical families: nitriles (aliphatic and aromatic together), hydrocarbon (aliphatic, aromatic and cyclic together) and N-heterocycles as a function of the pyrolysis temperature for the three tholins samples: 10% (top), 5% (middle), 2% (bottom), (detected with Q-PLOT and DB-MS columns).

A 700°C pyrolysis test is done with a 10%-tholins sample: no additional identification of compounds is provided compared to the 600°C pyrolysis. These results differ from [Khare et al. \(1984\)](#) who carried out sequential (a unique sample treated successively at different temperatures) and non-sequential pyrolyses up to 700°C. They reported a maximal pyrolysates richness at 300°C. The discrepancy could be explained by their use of a sequential process. Indeed we have observed that in case of sequential pyrolyses, the successive thermal treatments can lead to a faster degradation of the organic samples.

[Fig. 3](#) shows the evolution of the nature of the pyrolysates analyzed by both columns (Q-PLOT and DB-5MS) for the three tholins samples as a function of the pyrolysis temperature. Three major chemical families are taken into account: nitriles (linear and branched aliphatic nitriles and one aromatic nitrile, benzonitrile), hydrocarbons (linear and branched aliphatic hydrocarbons, cyclic and aromatic hydrocarbons together) and N-heterocycles.

The general trend is an increase of the number of the detected molecules when the temperature increases. The distribution among the three families is stable with the temperature for the 2%-tholins and 5%-tholins, but changes drastically for the 10%-tholins. This evolution is detailed below for each chemical family.

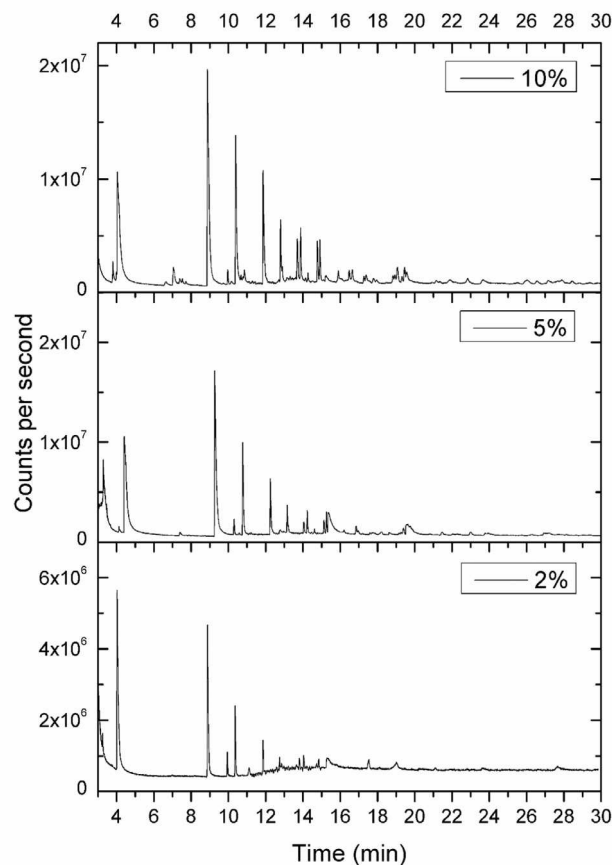


Fig. 4. Chromatograms obtained after a 400°C pyrolysis of 2%-tholins (bottom), 5%-tholins (middle) and 10%-tholins (top) with the Q-PLOT column.

The number of hydrocarbons increases almost linearly with the temperature, but exceeds the number of nitriles only for the 10%-tholins in the 500–600°C temperature range.

Except for acetonitrile, the release of nitriles starts at 200°C. Nitriles are by far the most numerous compounds detected at lower temperatures (200–400°C) and are still the main released compounds at higher temperatures (400–600°C) for the 2% and 5% tholins. The number of nitriles and N-heterocycles, detected when using the Q-PLOT column, is stable between 400°C and 500°C. Some heavier nitriles are detected at 600°C with the DB-5MS column.

Almost all the detected compounds are gaseous or liquid at room temperature. They result most likely from thermal degradation of heavier molecules in the solid grains. This applies for both nitriles (liquid at room temperature), and small hydrocarbons such as ethane or propane, which are observed only at 400°C and above.

Compounds detected at lower temperatures (200°C and 300°C) are the less thermally evolved molecules released from the samples and then certainly the most representative of the original material. They are mainly nitriles and ethylene, along with small-unsaturated hydrocarbons (up to four carbon atoms) for tholins synthesized from a 10% CH₄ mixture.

Some of the compounds that have been identified in the tholins pyrolysates are also detected by GC-MS in the gas phase during the tholins synthesis ([Gautier et al., 2011](#)), especially (i) hydrocarbons: ethane, ethylene, propane, propylene, isobutene and (ii) nitriles: HCN, acetonitrile, propionitrile, acrylonitrile, butyronitrile, isobutyronitrile, pentanenitrile. Only three aromatics are detected both in tholins and in the gas phase: pyrrole, benzene and triazine.

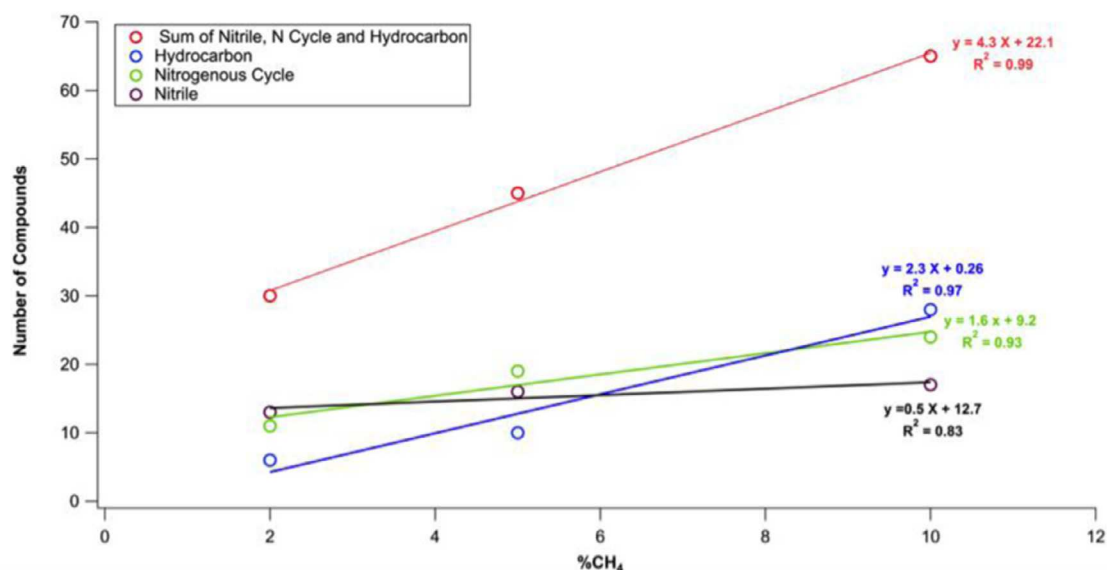


Fig. 5. Evolution of the number of compounds released in each chemical family versus %CH₄.

All these species are moreover potential precursors of numerous other detected molecules found as their alkyl derivatives.

N-heterocycles are mainly detected at higher temperatures in all the samples. The numerous N-heterocycles and aromatic hydrocarbons detected between 400°C and 600°C are mostly formed through cyclization and aromatization reactions at high temperatures (Bergman, 1973; John and Tour, 1994; Lockhart et al., 1981), including cyclization of nitrile groups (Devasia et al., 2003). A large proportion of N-heterocycles are pyrrole and its methyl- and ethyl-derivatives. This result is consistent with the study of (McGuigan et al., 2006), who find that alkyl-pyrroles are among the most dominant peaks. As these species are here more likely detected at high temperatures, they may mainly be due to the pyrolysis. The contribution of pyrrolic cycles in the tholins structure has therefore to be carefully considered in the study of McGuigan et al. (2006). Nevertheless pyrrole and triazine have previously been identified in the gas phase and in tholins after derivatization (Hörst et al., 2012). A few N-heterocycles are therefore also present as molecular components in the samples and can contribute as a moderate direct release source during the pyrolysis process.

This study confirms that the pyrolysis temperature of 600°C used by ACP is actually an optimum for the detection of products from Titan's aerosols, but that secondary productions of aromatics and N-aromatics are also expected at this temperature. If detected, aromatic molecules can therefore not be firmly considered as representative structures in Titan's aerosols by this technique.

3.3. Influence of CH₄ concentration in the initial gas mixture on the tholins molecular structuration

Fig. 4 shows the chromatograms obtained after pyrolysis of the three samples at 400°C with the Q-Plot column. All the three chromatograms have the same major pattern between 8 min and 15 min. This pattern contains the most intense peaks and is resulting from mainly nitriles (see Fig. 1). Another major peak is ethylene, eluted at about 4 min.

The main difference between the three samples is the number of molecules generated by the pyrolysis and detected by both columns. 40, 62 and 91 different compounds are identified in the pyrograms of the 2%, 5% and 10%-tholins respectively. The number

of pyrolysates increases when the CH₄ ratio increases for whatever chemical family (Fig. 5).

Table 4 provides the number of compounds of each family found in the three samples at 600°C. The 2% and 5%-tholins are rather similar, with however a nitriles/hydrocarbons ratio slightly greater for the 2%-tholins. The 10%-tholins sample differs with a hydrocarbon percentage nearly twice as large as in the two other samples. This higher number of hydrocarbons is at the expense of nitriles. This is consistent with a higher content of hydrocarbon chains in the molecular structure of tholins. Other studies confirm this structure. An increase of the C/N ratio according to the initial methane concentration is consistently reported in (Sciamma-O'Brien et al., 2010). A multiplication of the methylene (-CH₂-) pattern in the 10%-tholins is found in Pernet et al. (2010). Infrared absorption analyses show an increase of aliphatic C-H groups when the methane ratio increases (Gautier et al., 2012). The important aliphaticity of the 10%-tholins may make the material more thermolabile. This fragility would explain the increase in the number of pyrolysates and the higher signal obtained for each compound released by this sample in comparison to the other tholins samples.

All the compounds identified among the 2% and 5%-tholins pyrolysates are also detected in the 10%-tholins pyrolysates, except two of them. The 1,3,5-triazine (C₃H₃N₃) is only detected in the 2%-tholins after a 300–600°C pyrolysis. And the aminopyrazine (C₄H₅N₃) is detected in 2% and 5%-tholins pyrolysed between 400°C and 600°C. Only one compound bearing three nitrogen atoms is released by the 10% (and 5%) tholins, at 600°C: methyl-1,2,4-triazole. The formation of poly-nitrogen molecules seems therefore facilitated by low initial CH₄ concentrations.

Besides these results, a temperature program was also applied to the DB-5MS column (ramp up to 190°C) in order to allow the elution of potentially heavy compounds. The 10%-tholins mass spectra show a pattern consistent with oligomers (Fig. 6). This pattern is less distinct in the 5%-tholins and nearly absent in the 2%-tholins. We suspect that the quantity of alkyl chains increases with the methane ratio, and consequently, the probability of copolymerization. With this program, we also detect additional alkyl-pyrroles and three triazine derivatives: 2,4,6-triamino-1,3,5-triazine (melamine), 2,4-diamino-6-methyl-1,3,5-triazine and 2,4-diamino-1,3,5-triazine. The first two molecules are also detected by

Table 4

Absolute number and percentage of compounds for the three major chemical families regarding to the total number of compounds in the three families (last column) at 600°C.

Sample	Nitriles		Hydrocarbons		Nitrogenous heterocycles		Total number
	Number	Relative	Number	Relative	Number	Relative	
2%	13	43 %	6	20 %	11	37 %	30
5%	16	35 %	10	22 %	19	42 %	45
10%	17	26 %	24	37 %	24	37 %	65

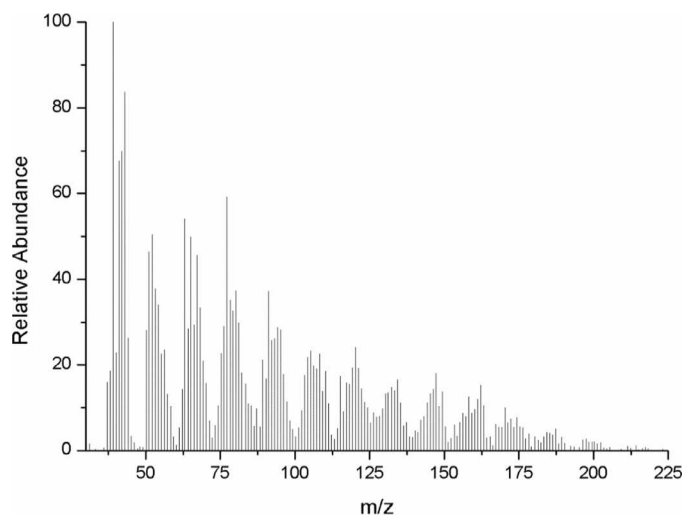


Fig. 6. Mass-pattern obtained after a 600°C pyrolysis of the 10%-tholins with the DB-5MS column.

multidimensional NMR (He and Smith, 2014; Derenne et al., 2012). Moreover, a UV-Raman study by Quirico et al. (2008) on tholins produced with the PAMPRE experiment suggests that triazine and its derivatives are major compounds in the tholins molecular structure.

The evolution of tholins composition with methane percentage in the initial gas mixture is also consistent with previous analyses performed with Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry on tholins produced with PAMPRE (Gautier et al., 2014). They similarly detect a large amount of nitrogen bearing molecules and show that the number of molecules with high C/N ratios depends on the amount of methane. The hetero-polymer pattern found in tholins by Orbitrap analysis is also much more pronounced in the 10%-tholins, just as with our pyr-GC-MS analysis (Fig. 6).

Pyr-GCMS signatures are different from a sample to another according to their chemical composition. Pyr-GCMS technique provides a chemical fingerprint of the analyzed organic material. The aerosols undergo physical and chemical evolution during their atmospheric descent in Titan's atmosphere. Our study shows that the Pyr-GCMS technique is sensitive to chemical evolution and would be a valuable diagnosis to probe such an evolution in Titan's atmosphere.

3.4. Semi-quantitative study

We perform a semi-quantitative study of nitriles, the main chemical families represented in the chromatograms. The chromatograms are reproducible – especially for the 10%-tholins – and the analyses are carried out within a short duration (2 days), so that there is no loss of sensitivity with the instruments. We can therefore compare the quantities of the different nitriles (in arbitrary units). Seven nitriles containing 2–4 carbon atoms with well-resolved chromatographic peaks are chosen: acetonitrile

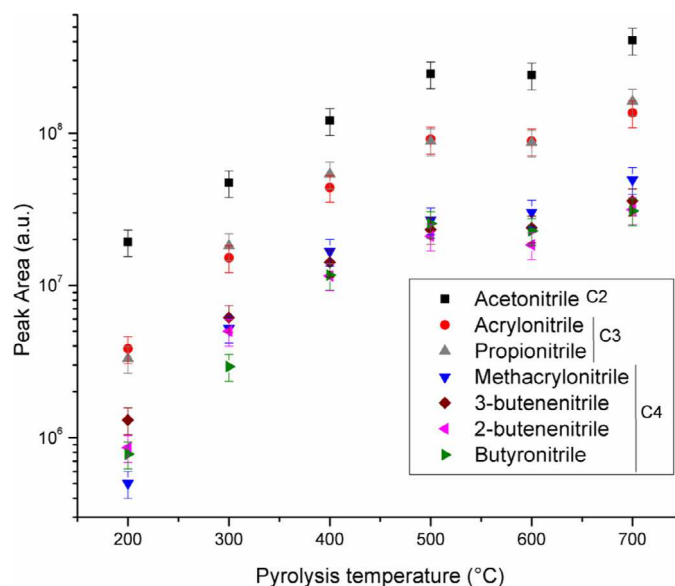


Fig. 7. Evolution of the peaks area with pyrolysis temperature for major nitriles identified in 10%-tholins pyrolysates.

(C_2H_3N), acrylonitrile (C_3H_3N), propionitrile (C_3H_5N), methacrylonitrile (C_4H_5N), 2-and-3-butenitrile (C_4H_5N) and butyronitrile (C_4H_7N). Fig. 7 shows the evolution of each nitrile's peak area as a function of the pyrolysis temperature. The main uncertainty on the intensities comes from the sampling in the pyrolysis liners. The introduced mass varies by about 20% from sample to sample. The chromatographic peak intensities are directly affected by this variation of the sample mass, as confirmed when reproducing the experiment.

The overall trend is an increase of the quantity of detected molecules with the temperature. This is probably because the tholins core is more deeply degraded with a higher pyrolysis temperature. This is consistent with the TGA study performed by (He et al., 2014). Between 200°C and 700°C, TGA shows a continuous and nearly linear mass loss. Two main phases are observed. The release of nitriles increases up to 500°C, then it is stable, before increasing again beyond 650°C. These two steps correspond to the degradation processes described in He et al. (2014), with a main thermal degradation phase followed by a graphitization process.

All the selected nitriles show a behavior similar to propionitrile between 300°C and 700°C. The ratios are quite constant regardless of the temperature, showing that the material is homogenous in terms of nitriles distribution.

Among the chromatographic peaks areas, three groups can be distinguished: (i) the C2-nitrile, acetonitrile, is largely dominant; (ii) the C3-nitriles, acrylonitrile and propionitrile, are in intermediate quantities; (iii) and all the C4-nitriles are in lower proportions. As the ionization cross-section increases with the number of atoms in the molecules, this distribution is even emphasized when it is converted into quantity of released pyrolysates. This highlights

a relation between the mass and the quantity of each nitrile extracted from tholins: the quantity increases with the length of the carbon chain. This behavior is, at least partially, explained by the thermal fragmentation of the longest chains, increasing the quantity of small nitriles. The important quantity of small nitriles observed in our tholins may also be explained by a greater quantity of precursors available in the gas phase. Indeed a relative quantification of nitriles as a function of their carbon numbers has been performed in the PAMPRE gas phase (Gautier et al., 2011). It shows an exponential decrease of the nitriles concentration when the number of carbon atoms increases.

The detection of HCN by the ACP instrument is in agreement with a significant contribution of nitriles in Titan's aerosols. The pyr-GCMS analysis performed here on Titan's aerosols analogues shows that in a future mission to Titan, the implementation of Pyr-GCMS would provide quantitative data on the nitrile content in Titan's aerosols.

4. Conclusion

The Pyr-GCMS technique was already successfully implemented for chemical analysis in several space missions: Viking 1 and 2 (Biemann et al., 1977), MSL on Mars (Mahaffy et al., 2012), Rosetta on comets (Rosenbauer et al., 2012). A first attempt was made to also analyze in situ the organic aerosols in Titan's atmosphere with the Aerosol Collector and Pyrolyzer (ACP) instrument onboard the Cassini-Huygens mission (Israel et al., 2005). Some technical issues during the descent in Titan's atmosphere prevented any extensive analysis, but the identification of the main pyrolysis fingerprint of the aerosols was made possible. It revealed a refractory nucleus releasing hydrogen cyanide, ammonia and C2 hydrocarbons during pyrolysis. As the aerosol chemical composition remains largely unknown, their in situ analysis remains an important issue for a future mission to Titan. In this frame, the pyr-GCMS technique could be used again as it is robust and already space qualified, but it is still to be improved and optimized in the case of Titan.

This is the aim of the present work. We proposed a comprehensive Pyr-GCMS study of interest for Titan using laboratory analogues of Titan's aerosols. The analogues are chosen as the most representative of the ACP signature (Coll et al., 2013). We explore two main parameters for the analysis: the pyrolysis temperature and the chemical composition of the analogues, controlled by the initial methane content during their synthesis. Three samples are synthesized with different methane ratios – namely 2%, 5% and 10% of CH₄ in N₂ – in order to compare their molecular structures. Moreover, we aim at detecting exhaustively the molecules released during the pyrolysis process by using two complementary chromatographic columns. It is also a first attempt to quantify the pyr-GC-MS results after an optimization of the analytical conditions.

Firstly, considering the effect of the pyrolysis temperature, the highest signal and the largest number of identified molecules are obtained after a 600°C pyrolysis with the Q-Plot column. The semi-quantitative study performed on nitriles shows that the quantity of released molecules (from the chromatographic peaks area) increases linearly with the temperature up to 500°C. Moreover, the ratios between nitrile quantities are constant at every pyrolysis temperatures, confirming a homogeneous distribution of nitriles in the material. However, the material becomes graphitized above 500°C. Additional cracking molecules and aromatization of the released species become more and more problematic for the interpretation of the results as the temperature increased. Our study points out the 500°C pyrolysis temperature as the best compromise for the detection of the maximum of species (number and quantities) with a minimum of pyrolysis artefacts.

Secondly, we highlight some variability both in the nature and in the quantity of the molecules released from the different chemical samples. The formation of poly-nitrogen compounds is facilitated by low CH₄ mixing ratios. The samples mainly differ by the number of released compounds, which increases according to the increase of the initial CH₄ concentration. This could be explained by the higher thermolability of the sample with increasing aliphaticity. The 10%-tholins sample is actually found to contain larger amounts of hydrocarbon chains.

Pyrolyses of the three samples lead to the same major pattern formed of nitriles and ethylene. Saturated small hydrocarbons (ethane and propane) massively appear at temperatures above 600°C suggesting that they correspond to cracking molecules. The nitrile fingerprint of our samples, in agreement with the HCN detection done with ACP in Titan's aerosols, suggests that if the ACP instrument had worked perfectly, it would have probably identified a similar pattern in the aerosols of Titan. The detection of NH₃ by ACP can however not be reproduced in our analysis due to amine losses in the MS transfer lines. The design of the ACP-GCMS coupling part was actually optimized to prevent this effect to be significant (Israel et al., 2002).

Finally, the use of two complementary columns enables to detect a hundred of molecules in the pyrolysates, including aliphatic and aromatic hydrocarbons, nitriles and nitrogenous heterocycles. The Q-Plot column is sufficient to highlight the major molecules, up to seven heavy atoms (carbon and nitrogen). The DB-5 ms column allows detecting larger molecules, up to nine heavy atoms (numerous N-heterocycles), but also a polymeric mass-pattern showing the interest of pyrolysis to extract large structures representative of the material. Unfortunately, the analysis of this polymeric mass-pattern has been made difficult due to overlapping signatures from the co-elution of numerous fragments. Nevertheless, we are able to identify three triazine derivatives (melamine, 2,4-diamino-6-methyl-1,3,5-triazine and 2,4-diamino-1,3,5-triazine), which are known to be of major importance in the tholins bulk composition (Quirico et al., 2008). These two columns are therefore essential for a comprehensive characterization of the solid samples.

Moreover, numerous species detected here in PAMPRE tholins are qualitatively and quantitatively consistent with compounds identified previously in the PAMPRE gas phase and with NMR studies of the bulk tholins. This shows that pyr-GC-MS is a suitable analysis tool for the solid phase, since it does not lead to a complete alteration of the tholin's chemical composition. As previously suggested by (Gautier et al., 2011), this also implies that nitriles found in abundance in the gas phase are precursors for tholins, rather than being left out because they are not used during the tholins synthesis.

From these results, several conclusions can be drawn on the potential of Pyr-GCMS for a future mission to Titan. A pyrolysis temperature of 600°C used by ACP is an optimum for the detection of products composing Titan's aerosols, but aromatics and N-aromatics are expected to be overestimated at this temperature. As Pyr-GCMS is sensitive to chemical evolution, it would be a valuable diagnosis to probe a chemical evolution of Titan's aerosols in the atmosphere. And Pyr-GCMS would also provide a tool for quantitative analysis of the nitriles content in Titan's aerosols.

Considering the efficiency of the Pyr-GCMS technique in the context of space exploration, there is no doubt that it will be implemented in future space probes, as already planned for the MOMA-GCMS experiment on the ExoMars-2018 Martian rover (Goetz et al., 2011). As this technique is simple and robust it could also be proposed for a future mission to Titan to analyze the solid materials present in the atmosphere and on the surface. In the present work, we optimized the Pyr-GCMS technique focusing on a future mission to Titan, enabling to highlight the main nitrile

pattern, extrapolating the promising results by the ACP instrument on Huygens. These results will also be of significant help for interpreting future Pyr-GCMS data of solid organic materials, not just in the case of Titan, but throughout the entire Solar System, from cometary materials, to planetary surfaces, through interplanetary dust particles and asteroids.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge the Programme National de Planétologie (PNP, INSU/CNES, France) for support of this research. NC acknowledges the European Research Council for their financial support (ERC Starting Grant PRIMCHEM, grant agreement n°636829). We thank David Dubois for his help in the English improvement of the article.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.icarus.2016.05.038](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2016.05.038).

References

- Bergman, R.G., 1973. Reactive 1,4-dehydroaromatics. *Acc. Chem. Res.* 6, 25–31. doi:[10.1021/ar50061a004](https://doi.org/10.1021/ar50061a004).
- Biemann, K., Oro, J., Toulmin, P., et al., 1977. The search for organic substances and inorganic volatile compounds in the surface of Mars. *J. Geophys. Res.* 82, 4641–4658. doi:[10.1029/J082i028p04641](https://doi.org/10.1029/J082i028p04641).
- Bonnet, J.-Y., Quirico, E., Buch, A., et al., 2015. Formation of analogs of cometary nitrogen-rich refractory organics from thermal degradation of tholin and HCN polymer. *Icarus* 250, 53–63. doi:[10.1016/j.icarus.2014.11.006](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.11.006).
- Brassé, C., 2014. Les aérosols organiques de Titan: propriétés physico-chimiques et possibilités d'évolution à la surface. Université Paris Est.
- Buch, A., Glavin, D.P., Sternberg, R., et al., 2006. A new extraction technique for in situ analyses of amino and carboxylic acids on Mars by gas chromatography mass spectrometry. *Planet. Space Sci.* 54, 1592–1599. doi:[10.1016/j.pss.2006.05.041](https://doi.org/10.1016/j.pss.2006.05.041).
- Buch, A., Sternberg, R., Szopa, C., et al., 2009. Development of a gas chromatography compatible Sample Processing System (SPS) for the in-situ analysis of refractory organic matter in martian soil: Preliminary results. *Adv. Sp. Res.* 43, 143–151. doi:[10.1016/j.asr.2008.05.001](https://doi.org/10.1016/j.asr.2008.05.001).
- Cable, M.L., Hörst, S.M., He, C., et al., 2014. Identification of primary amines in Titan tholins using microchip nonaqueous capillary electrophoresis. *Earth Planet. Sci. Lett.* 403, 99–107. doi:[10.1016/j.epsl.2014.06.028](https://doi.org/10.1016/j.epsl.2014.06.028).
- Cable, M.L., Hörst, S.M., Hodyss, R., et al., 2012. Titan tholins: Simulating Titan organic chemistry in the Cassini-Huygens era. *Chem. Rev.* 112, 1882–1909. doi:[10.1021/cr200221x](https://doi.org/10.1021/cr200221x).
- Clarke, D.W., Ferris, J.P., 1997. Titan haze: Structure and properties of cyanoacetylene and cyanoacetylene-acetylene photopolymers. *Icarus* 127, 158–172.
- Coll, P., Coscia, D., Gazeau, M.-C., et al., 1998. Review and latest results of laboratory investigations of Titan's aerosols. *Orig. Life Evol. Biosph.* 28, 195–213. doi:[10.1023/A_1006521601133](https://doi.org/10.1023/A_1006521601133).
- Coll, P., Navarro-González, R., Szopa, C., et al., 2013. Can laboratory tholins mimic the chemistry producing Titan's aerosols? A review in light of ACP experimental results. *Planet. Space Sci.* 77, 91–103. doi:[10.1016/j.pss.2012.07.006](https://doi.org/10.1016/j.pss.2012.07.006).
- DelaFuente, J.L., Ruiz-Bermejo, M., Menor-Salván, C., et al., 2011. Thermal characterization of HCN polymers by TG–MS, TG, DTA and DSC methods. *Polym. Degrad. Stab.* 96, 943–948. doi:[10.1016/j.polymdegradstab.2011.01.033](https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.01.033).
- Derenne, S., Coelho, C., Anquetil, C., et al., 2012. New insights into the structure and chemistry of Titan's tholins via 13C and 15N solid state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Icarus* 221, 844–853. doi:[10.1016/j.icarus.2012.03.003](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.03.003).
- Devasia, R., Nair, C.P.R., Sivasadan, P., et al., 2003. Cyclization reaction in poly(acrylonitrile/itaconic acid) copolymer: An isothermal differential scanning calorimetry kinetic study. *J. Appl. Polym. Sci.* 88, 915–920. doi:[10.1002/app.11706](https://doi.org/10.1002/app.11706).
- Ehrenfreund, P., Boon, J.J., Commandeur, J., et al., 1995. Analytical pyrolysis experiments of Titan aerosol analogues in preparation for the Cassini Huygens mission. *Adv. Space Res.* 15, 335–342.
- Flasar, F.M., Achterberg, R.K., Conrath, B.J., et al., 2005. Titan's atmospheric temperatures, winds, and composition. *Science* 308, 975–978. doi:[10.1126/science.1111150](https://doi.org/10.1126/science.1111150).
- Flury, B., Carrasco, N., Gautier, T., et al., 2014. Influence of CO on Titan atmospheric reactivity. *Icarus* 238, 221–229. doi:[10.1016/j.icarus.2014.05.027](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.05.027).
- Freissinet, C., Buch, A., Sternberg, R., et al., 2010. Search for evidence of life in space: Analysis of enantiomeric organic molecules by N,N-dimethylformamide dimethylacetal derivative dependant Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 731–740. doi:[10.1016/j.chroma.2009.11.009](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.009).
- Gautier, T., Carrasco, N., Buch, A., et al., 2011. Nitrile gas chemistry in Titan's atmosphere. *Icarus* 213, 625–635. doi:[10.1016/j.icarus.2011.04.005](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2011.04.005).
- Gautier, T., Carrasco, N., Mahjoub, A., et al., 2012. Mid- and far-infrared absorption spectroscopy of Titan's aerosols analogues. *Icarus* 221, 320–327. doi:[10.1016/j.icarus.2012.07.025](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.07.025).
- Gautier, T., Carrasco, N., Schmitz-Afonso, I., et al., 2014. Nitrogen incorporation in Titan's tholins inferred by high resolution orbitrap mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Earth Planet. Sci. Lett.* 404, 33–42. doi:[10.1016/j.epsl.2014.07.011](https://doi.org/10.1016/j.epsl.2014.07.011).
- Geffroy-Rodier, C., Grasset, L., Sternberg, R., et al., 2009. Thermochemistry in search for organics in extraterrestrial environments. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 85, 454–459. doi:[10.1016/j.jaap.2008.10.005](https://doi.org/10.1016/j.jaap.2008.10.005).
- Goetz, W., Steining, H., Goesmann, F., 2011. Searching for Martian Organics with the Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA) aboard ExoMars-2018. *EPSC-DPS Jt. Meet.* 2011, p. 1281.
- He, C., Lin, G., Upton, K.T., et al., 2012. Structural investigation of Titan tholins by solution-state 1H, 13C, and 15N NMR: One-dimensional and decoupling experiments. *J. Phys. Chem. A* 116, 4760–4767. doi:[10.1021/jp3016062](https://doi.org/10.1021/jp3016062).
- He, C., Smith, M.A., 2014. A comprehensive NMR structural study of Titan aerosol analogs: Implications for Titan's atmospheric chemistry. *Icarus* 243, 31–38. doi:[10.1016/j.icarus.2014.09.021](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.09.021).
- He, J., Buch, A., Carrasco, N., et al., 2014. Thermal degradation of organics for pyrolysis in space: Titan's atmospheric aerosol case study. *Icarus*. doi:[10.1016/j.icarus.2014.10.010](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2014.10.010).
- Hirtzig, M., Bézard, B., Lellouch, E., et al., 2013. Titan's surface and atmosphere from Cassini/VIMS data with updated methane opacity. *Icarus* 226, 470–486. doi:[10.1016/j.icarus.2013.05.033](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2013.05.033).
- Hörst, S.M., Yelle, R.V., Buch, A., et al., 2012. Formation of amino acids and nucleotide bases in a Titan atmosphere simulation experiment. *Astrobiology* 12, 809–817. doi:[10.1089/ast.2011.0623](https://doi.org/10.1089/ast.2011.0623).
- Imanaka, H., Khare, B.N., Elsilá, J.E., et al., 2004. Laboratory experiments of Titan tholin formed in cold plasma at various pressures: Implications for nitrogen-containing polycyclic aromatic compounds in Titan haze. *Icarus* 168, 344–366. doi:[10.1016/j.icarus.2003.12.014](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2003.12.014).
- Israel, G., Cabane, M., Niemann, H., et al., 2002. Huygens probe aerosol collector pyrolyser. *Space Sci. Rev.* 104, 433–468.
- Israel, G., Szopa, C., Raulin, F., et al., 2005. Complex organic matter in Titan's atmospheric aerosols from in situ pyrolysis and analysis. *Nature* 438, 796–799. doi:[10.1038/nature04349](https://doi.org/10.1038/nature04349).
- John, J.A., Tour, J.M., 1994. Synthesis of polyphenylenes and polynaphthalenes by thermolysis of enediyne and dialkynylbenzenes. *J. Am. Chem. Soc.* 116, 5011–5012. doi:[10.1021/ja00090a066](https://doi.org/10.1021/ja00090a066).
- Khare, B.N., Sagan, C., Thompson, W.R., et al., 1984. The organic aerosols of Titan. *Adv. Space Res.* 4, 59–68.
- Khare, B.N., Sagan, C., Zumberge, J.E., et al., 1981. Organic solids produced by electrical discharge in reducing atmospheres: Tholin molecular analysis. *Icarus* 48, 290–297. doi:[10.1016/0019-1035_8190110-X](https://doi.org/10.1016/0019-1035_8190110-X).
- la Fuente, J.L., Ruiz-Bermejo, M., Menor-Salván, C., et al., 2012. Pyrolysis study of hydrophobic tholins by TG–MS, TG, DTA and DSC methods. *J. Therm. Anal. Calorim.* 111, 1699–1706. doi:[10.1007/s10973-011-2141-1](https://doi.org/10.1007/s10973-011-2141-1).
- Lebonnois, S., 2002. Transition from gaseous compounds to aerosols in Titan's atmosphere. *Icarus* 159, 505–517. doi:[10.1006/icar.2002.6943](https://doi.org/10.1006/icar.2002.6943).
- Lockhart, T.P., Comita, P.B., Bergman, R.G., 1981. Kinetic evidence for the formation of discrete 1,4-dehydrobenzene intermediates. Trapping by inter- and intramolecular hydrogen atom transfer and observation of high-temperature CIDNP. *J. Am. Chem. Soc.* 103, 4082–4090. doi:[10.1021/ja00404a018](https://doi.org/10.1021/ja00404a018).
- Mahaffy, P.R., Webster, C.R., Cabane, M., et al., 2012. The sample analysis at mars investigation and instrument suite. *Space Sci. Rev.* 170, 401–478. doi:[10.1007/s11214-012-9879-z](https://doi.org/10.1007/s11214-012-9879-z).
- Mahjoub, A., Carrasco, N., Dahoo, P.-R., et al., 2012. Influence of methane concentration on the optical indices of Titan's aerosols analogues. *Icarus* 221, 670–677. doi:[10.1016/j.icarus.2012.08.015](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.08.015).
- Mayo, L., Samuelson, R., 2005. Condensate clouds in Titan's north polar stratosphere. *Icarus* 176, 316–330. doi:[10.1016/j.icarus.2005.01.020](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2005.01.020).
- McGuigan, M., Waite, J.H., Imanaka, H., et al., 2006. Analysis of Titan tholin pyrolysis products by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1132, 280–288. doi:[10.1016/j.chroma.2006.07.069](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.07.069).
- McKay, C.P., Pollack, J.B., Courtin, R., 1991. The greenhouse and antigreenhouse effects on Titan. *Science* 253, 1118–1121.
- Moldoveanu, S.C., 1998. Analytical Pyrolysis of Natural Organic Polymers. Elsevier.
- Nna-Mvondo, D., de la Fuente, J.L., Ruiz-Bermejo, M., et al., 2013. Thermal characterization of Titan's tholins by simultaneous TG–MS, DTA, DSC analysis. *Planet. Space Sci.* 85, 279–288. doi:[10.1016/j.pss.2013.06.025](https://doi.org/10.1016/j.pss.2013.06.025).
- Pernot, P., Carrasco, N., Thissen, R., et al., 2010. Tholomics-chemical analysis of nitrogen-rich polymers. *Anal. Chem.* 82, 1371–1380. doi:[10.1021/ac902458q](https://doi.org/10.1021/ac902458q).
- Pietrograd, M.C., Coll, P., Sternberg, R., et al., 2001. Analysis of complex mixtures recovered from space missions statistical approach to the study of Titan atmosphere analogues (tholins). *J. Chromatogr. A* 939, 69–77.
- Quirico, E., Montagnac, G., Lees, V., et al., 2008. New experimental constraints on the composition and structure of tholins. *Icarus* 198, 218–231. doi:[10.1016/j.icarus.2008.07.012](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2008.07.012).
- Raulin, F., 2007. Titan: A new astrobiological vision from the Cassini–Huygens data. In: Pudritz, R., Higgs, P., Stone, J. (Eds.), *Planetary Systems and the Origins of Life*. Cambridge University Press, pp. 263–278.
- Raulin, F., Brassé, C., Poch, O., et al., 2012. Prebiotic-like chemistry on Titan. *Chem. Soc. Rev.* 41, 5380–5393. doi:[10.1039/c2cs35014a](https://doi.org/10.1039/c2cs35014a).

- Rosenbauer, H., Fuselier, S.A., Ghielmetti, A., et al., 2012. The COSAC experiment on the lander of the ROSETTA mission. *Adv. Space Res.* 23, 333–340.
- Scattergood, T.W., 1987. Laboratory experiments in the study of the chemistry of the outer planets. *Adv. Space Res.* 7, 99–108.
- Sciama-O'Brien, E., Carrasco, N., Szopa, C., et al., 2010. Titan's atmosphere: An optimal gas mixture for aerosol production? *Icarus* 209, 704–714. doi:[10.1016/j.icarus.2010.04.009](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2010.04.009).
- Szopa, C., Cernogora, G., Boufendi, L., et al., 2006. PAMPRE: A dusty plasma experiment for Titan's tholins production and study. *Planet. Space Sci.* 54, 394–404. doi:[10.1016/j.pss.2005.12.012](https://doi.org/10.1016/j.pss.2005.12.012).
- Tobie, G., Choukroun, M., Grasset, O., et al., 2009. Evolution of Titan and implications for its hydrocarbon cycle. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* 367, 617–631. doi:[10.1098/rsta.2008.0246](https://doi.org/10.1098/rsta.2008.0246).
- Tomasko, M.G., Archinal, B., Becker, T., et al., 2005. Rain, winds and haze during the Huygens probe's descent to Titan's surface. *Nature* 438, 765–778. doi:[10.1038/nature04126](https://doi.org/10.1038/nature04126).
- Vinatier, S., Rannou, P., Anderson, C.M., et al., 2012. Optical constants of Titan's stratospheric aerosols in the 70–1500 cm^{-1} spectral range constrained by Cassini/CIRS observations. *Icarus* 219, 5–12. doi:[10.1016/j.icarus.2012.02.009](https://doi.org/10.1016/j.icarus.2012.02.009).

Chapitre 3

Optimisation des paramètres de thermochimioolyse en présence de TMAH sur un analogue de sol martien

Des expériences de thermochimioolyse en présence de TMAH sont embarqués dans l'instrument SAM-CPG-SM actuellement en activité sur Mars, et seront aussi présentes dans le futur instrument martien MOMA-CPG-SM. Afin de mener à bien les analyses *in situ* avec ces instruments, les conditions analytiques de la thermochimioolyse doivent d'abord être optimisées en laboratoire. Ce chapitre est consacré à l'optimisation de deux paramètres : le temps de contact entre l'échantillon et le TMAH et la température de thermochimioolyse. Ces paramètres seront étudiés avec un analogue de sol martien nommé JSC-Mars-1. La stabilité thermique du TMAH sera également étudiée afin de limiter sa dégradation qui entraînerait une baisse de l'efficacité de l'analyse, mais aussi pour identifier ses produits de décomposition et les discriminer des espèces provenant de JSC-Mars-1.

3.1. Caractérisation de l'analogue choisi : JSC-Mars-1

Afin d'optimiser les paramètres physico-chimiques de la thermochimioolyse telle qu'elle sera utilisée sur Mars (SAM, MOMA), un analogue terrestre a dû être choisi. Cet analogue devait répondre à ces différents critères :

- Etre disponible en quantité suffisante
- Contenir un large spectre de molécules organiques à des concentrations du même ordre de grandeur que celles détectées dans les météorites martiennes
- Avoir une minéralogie la plus proche possible de la minéralogie martienne

Nous avons alors choisi un analogue de régolithe martien nommé JSC-Mars-1. JSC-Mars-1 est la fraction submillimétrique d'un téphra palagonitique collecté dans le cône volcanique de Pu'u Nene sur l'île d'Hawaï (Allen et al., 1998). Il a été montré que ce matériau présente une très grande similitude spectrale (dans le visible et le proche IR) avec des régions martiennes (Bell and Crisp, 1993; Clark et al., 1982; Morris et al., 1997; Singer, 1982).

3.1.1. Composition chimique et minéralogie

La composition chimique et la minéralogie des échantillons collectés ont été publiées respectivement par (Allen et al., 1998) et (Morris et al., 1993). JSC-Mars-1 est essentiellement constitué de palagonite amorphe issue de l'altération de matériau basaltique en milieu aqueux. L'analyse par diffraction des rayons X a permis d'identifier seulement du feldspath plagioclase ($\text{Si}_3\text{AlO}_8\text{Na}$ ou Ca) et – en quantité moindre – de la magnétite (Fe_3O_4). L'abondance des phyllosilicates a été estimée à moins de 1% en masse. La magnétite ainsi que des traces d'hématite, d'olivine, de pyroxène et/ou de verre volcanique ont été détectées par spectroscopie Mössbauer. Le fer est présent sous forme d'oxyde ferrique à hauteur de 64% (Morris et al., 1993). Les différents oxydes détectés dans JSC-Mars-1 par spectroscopie de fluorescence des rayons X (XRF) sont listés dans la première

colonne de la Table 3-1 (Allen et al., 1998). La deuxième colonne indique le pourcentage en masse de chaque oxyde, la troisième colonne donne leurs pourcentages en masse normalisés (sans la perte de masse après un chauffage à 900°C pendant 2h) enfin la quatrième colonne présente la composition de la surface martienne mesurée par l’XRF de l’atterrisseur Viking-1 (Clark et al., 1982).

Oxide	JSC Mars-1		Martian Surface Fines C-1
	Wt.%*	Wt.%**	Wt.%***
SiO ₂	34.5	43.7	43
Al ₂ O ₃	18.5	23.4	7.5
TiO ₂	3.0	3.8	0.65
FeO	2.8	3.5	n.d.
Fe ₂ O ₃	9.3	11.8	17.6
MnO	0.2	0.3	n.a.
CaO	4.9	6.2	6
MgO	2.7	3.4	6
K ₂ O	0.5	0.6	0
Na ₂ O	1.9	2.4	n.a.
P ₂ O ₅	0.7	0.9	n.a.
SO ₃	n.a.	n.a.	7
Cl	n.a.	n.a.	0.7

Table 3-1 Liste des oxydes composant JSC-Mars-1, d’après (Allen et al., 1998). n.a. = non analysé ; n.d. = non détecté ; * XRF ; ** XRF normalisé sans LOI**** ; *** Composition de la surface martienne analysée par la sonde Viking 1, d’après (Clark et al., 1982) ; **** Perte de masse après chauffage pendant 2h à 900°C (inclut H₂O, SO₃, Cl).

3.1.2. Contenu organique

Comme présenté ci-dessus, la composition minéralogique de l’analogue JSC-1 est relativement bien connue. Toutefois, sa composition en matière organique n’est pas correctement répertoriée. Nous avons donc réalisé une extraction par solvant suivie par une dérivation avec le MTBSTFA et une analyse par CPG-SM. Cela nous a permis de caractériser le contenu en matière organique de JSC Mars-1 et d’estimer l’efficacité des expériences ultérieures de thermochimie en conditions spatiales. L’étape d’extraction solide-liquide, en amont de la dérivation chimique et de l’analyse CPG-SM, permet d’extraire dans le solvant les composés organiques contenus dans la matrice minérale solide, et de procéder après dérivation à une injection classique en chromatographie sans recours à un chauffage à haute température de l’échantillon solide.

Dans un second temps, l’analyse du contenu organique de JSC-Mars-1 a été réalisée par pyrolyse, à savoir un chauffage instantané de l’échantillon à haute température (flash-pyrolyse) pour volatiliser un maximum de molécules. Après le chauffage, les pyrolysats seront analysés par CPG-SM. Cette expérience permet d’estimer d’un point de vue qualitatif la matière organique de JSC-Mars-1 en complément de l’analyse par extraction et dérivation au MTBSTFA. Elle servira également à évaluer l’apport d’information qu’aura éventuellement la thermochimie – où le chauffage se fait en présence de TMAH – par rapport à la seule pyrolyse.

3.1.2.1. *Extraction solide-liquide assistée par ultrasons, dérivatisation et analyse CPGSM*

a) Protocole expérimental

Le solvant utilisé pour l'extraction est un mélange 1:1 (en volume) d'eau et d'isopropanol. Une ampoule en verre est remplie avec 2mL de solvant et 0,5g de JSC-Mars-1, puis fermée au chalumeau. L'ampoule est ensuite placée dans un bain à ultrasons à 37 kHz, à 60°C pendant 45 minutes. Après centrifugation, le surnageant est prélevé et séché sous flux d'azote à température ambiante.

Sur le résidu organique extrait et séché sont ajoutés 25µl d'un mélange 4:1 (en volume) de MTBSTFA (pureté > 97%, Aldrich) et DMF (anhydre, pureté 99,8%, Alfa Aesar). Le mélange est placé au bain de sable à 75°C pendant 15 minutes.

Le méthyl laurate a été choisi comme étalon interne car il ne réagit pas avec le MTBSTFA. Après test de trois solvants pour le diluer – le DMF, le pyrène et l'acétate d'éthyle (inertes vis à vis du MTBSTFA) – une solution de méthyl laurate à 3.10^{-2} M dans de l'acétate d'éthyle est préparée pour servir d'étalon interne. 0,33µl de la solution étalon sont ajoutés à l'extrait de JSC-1 dérivatisé, de sorte que la concentration en méthyl laurate dans la solution finale soit de 4.10^{-4} M.

Les analyses sont réalisées avec un chromatographe en phase gazeuse (CPG) Trace GC Ultra, Thermo Scientific couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (SM) ISQ LT, Thermo Scientific. Le chromatographe est équipé d'une colonne Restek Rxi-5Sil SM 30m x 0,25mm x 0,25µm avec 5m de colonne de garde intégrée (5m X 0.25 mm). La garde intégrée prolonge la durée de vie de la colonne chromatographique mais ne nécessite pas de connexion car elle est le prolongement direct de la colonne analytique. La programmation en température de la colonne est de 90°C pendant 5 min, $6^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ jusqu'à 270°C maintenus 5 min, puis $6^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ jusqu'à 300°C maintenus 3 min. Le gaz vecteur est l'hélium (pureté 99,9999%), régulé en débit à $1,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Le débit de split est de $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. L'injecteur PTV (Programmed Temperature Vaporization) est chauffé à 300°C. Le volume d'injection est 0,5µl. Les masses sont scannées entre m/z 40 et m/z 500. L'acquisition SM commence 8 minutes après l'injection, soit après l'élution du MTBSTFA (RT = 6,37 min) et du DMF (RT = 3.34 min), afin d'éviter de griller précocement le filament.

Les identifications sont faites par comparaison des spectres de masses obtenus expérimentalement avec les spectres de référence de la base de données NIST (développée par le National Institute of Standards and Technology).

b) Résultats

Trois injections de 0,5µl du mélange dérivatisé ont été réalisées après trois extractions indépendantes. La Figure 3-1 montre à titre d'exemple le chromatogramme obtenu lors de la deuxième injection.

L'ensemble des composés détectés sont listés dans la Table 3-2. La première colonne donne le temps de rétention de chaque molécule. Le rapport de l'aire du pic de chaque molécule sur l'aire du pic de méthyl laurate est donné dans les colonnes Expérience 1, Expérience 2 et Expérience 3 pour ces trois injections. Les trois dernières colonnes donnent, dans l'ordre, la moyenne du rapport des aires sur les trois répliquas, l'écart type absolu et relatif. Les valeurs non indiquées correspondent soit à des composés coélus, soit à des composés dont la concentration est inférieure à la limite de détection de la méthode.

Comme attendu, les échantillons sont riches en matière organique avec au moins 49 molécules détectées. Quatre grandes familles de composés organiques ont été identifiées dans l'échantillon de JSC Mars-1 : des hydrocarbures (en jaune dans le tableau, au nombre de deux), les alcools (en bleu, au

nombre de trois), les acides aminés (en vert, au nombre de sept) et les acides carboxyliques (en rouge, au nombre de 29). Dans ces trois dernières familles de composés, tous les hydrogènes labiles ont subi la dérivation par le MTBSTFA et ont été substitués par des groupements t-BDSM (tert-butyl-diméthylsilyle).

Bien que les expériences soient bien reproductibles qualitativement, les données semi-quantitatives restent très variables d'une expérience à l'autre, allant jusqu'à 98% de variabilité pour les molécules organiques, ce qui au vu de leurs très faibles concentrations n'est pas surprenant. Des expériences ultérieures ont montré que le méthyl-laurate était naturellement présent dans les échantillons et ne pouvait pas être utilisé comme étalon interne. Nous aurions pu utiliser tout de même nos données avec le méthyl-laurate comme étalon interne si nous savions la quantité de méthyl-laurate ajoutée très supérieure à la quantité présente naturellement. Dans la mesure où il n'est pas possible de déterminer la quantité de méthyl-laurate « naturel » que nous aurions extrait de JSC-Mars-1 (à moins de refaire les expériences sans ajout de méthyl-laurate), une interprétation des données semi-quantitatives n'a ici pas de sens.

La Figure 3-2 donne la part que représente chaque famille chimique parmi l'ensemble des composés identifiés. Une large majorité (60%) est constituée d'acides monocarboxyliques. Les composants minoritaires étant les acides aminés (15%), alcools (6%) et hydrocarbures aliphatiques (4%). Les 15% de composés restant n'entrent dans aucune de ces catégories (diesters, molécules non organiques). On notera (i) la bonne détection des acides aminés qui, sans silylation par le MTBSTFA, sont très difficiles à analyser par CPGSM, du fait de leur forte polarité et de leur faible volatilité qui engendre par exemple leur adsorption sur les lignes de transfert de l'instrument et (ii) l'absence d'espèces aromatiques qui, si présentes dans l'échantillon, n'ont pas été extraites malgré la température de l'injecteur de 300°C, suffisante pour volatiliser le benzène (température d'ébullition $T_b = 80^\circ\text{C}$), le naphthalène ($T_b = 218^\circ\text{C}$) ou leurs dérivés méthylés ou éthylés. Le solvant utilisé est en effet trop polaire pour solubiliser des composés apolaires tel que les composés aromatiques.

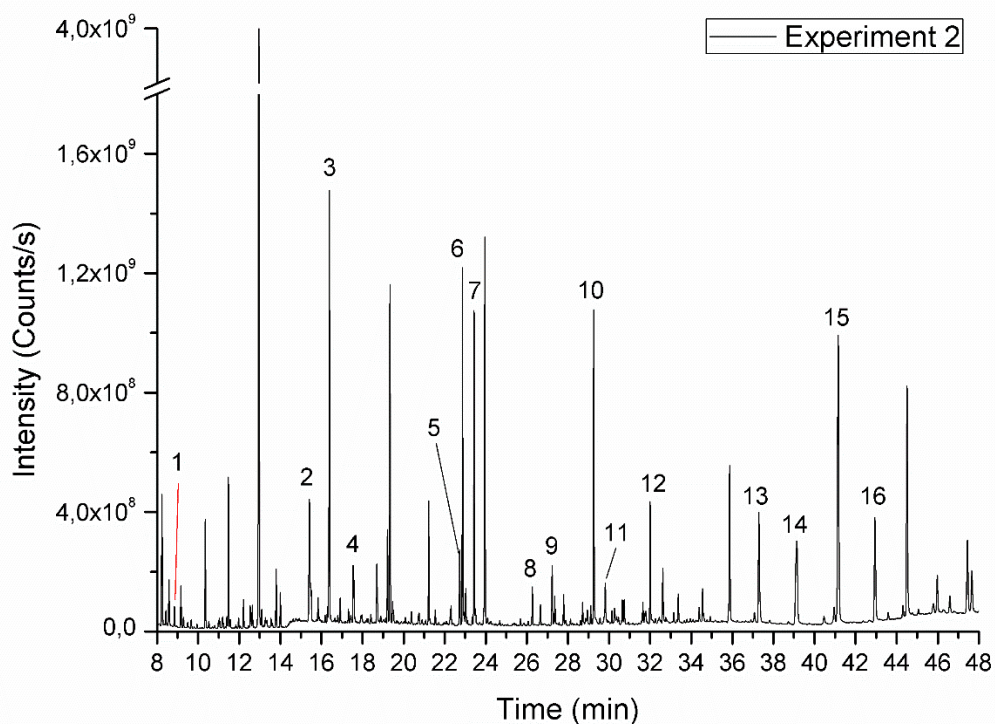


Figure 3-1 Chromatogramme obtenu lors de l'expérience 2 d'extraction de JSC-1 assistée par ultrasons et dérivatisation au MTBSTFA/DMF. 1 : dodécane ; 2 : acide lactique ; 3 : méthyl-laurate ; 4 : acide nonanoïque ; 5 : glycérol ; 6 : Methacrylic acid, diester with triethylene glycol ; 7 : methacrylic acid, diester with tetraethylene glycol ; 8 : acide tétradecanoïque ; 9 : acide pentadecanoïque ; 10 : acide hexadecanoïque ; 11 : acide heptadecanoïque ; 12 : acide octadecanoïque ; 13 : acide docosanoïque ; 14 : acide tricosanoïque ; 15 : acide tétracosanoïque ; 16 : acide 2-hydroxy-hexacosanoïque.

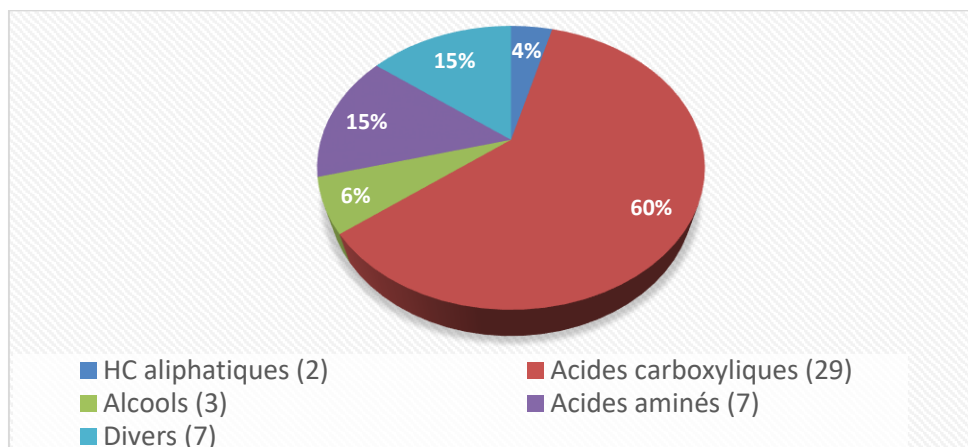


Figure 3-2 Part de chaque famille chimique dans les composés identifiés dans JSC-1 par extraction solide/liquide puis dérivatisation (MTBSTFA).

RT (min)	Composé	Aire/Aire du methyl-laurate			Moyenne	Ecart type	Ecart type relatif
		Experience 1	Experience 2	Experience 3			
8,81	dodecane	0,0384	0,0470	0,0257	0,0370	0,0107	29%
9,91	pent-2-enoic acid	0,0166	0,0088	0,0041	0,0098	0,0063	64%
11,00	4-methyl-pentanoic acid	0,0267	0,0227	0,0392	0,0295	0,0086	29%
11,36	tridecane	0,0273	0,0260	0,0136	0,0223	0,0076	34%
11,44	boric acid	2,5278	0,3375	0,2106	1,0253	1,3028	127%
11,52	2-ethylhexanol	0,0427	0,0214	0,0093	0,0244	0,0169	69%
11,80	H ₂ O	0,1540	0,0084	0,0153	0,0592	0,0821	139%
12,51	4-oxo-pentanoic acid	0,0819	0,0435	0,0268	0,0507	0,0282	56%
12,54	2-furancarboxylic acid	NM	0,0106	0,0104	0,0105	0,0002	2%
12,98	propanedioic acid	13,0768	3,4351	1,9258	6,1459	6,0495	98%
15,38	lactic acid	0,4641	0,3905	0,2485	0,3677	0,1096	30%
15,47	octanoic acid	ND	0,0606	0,0998	0,0802	0,0277	35%
15,80	glycolic acid	0,1077	0,0508	0,0247	0,0611	0,0425	70%
16,15	benzoic acid	0,0266	0,0182	0,0101	0,0183	0,0082	45%
16,36	methyl ester of lauric acid	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0000	0%
16,62	oxalic acid	0,0549	NM	NM	0,0549	NA	NA
17,29	3-hydroxypropionic acid	0,0613	0,0327	0,0203	0,0381	0,0210	55%
17,52	nonanoic acid	0,1319	0,1208	0,1174	0,1234	0,0076	6%
17,56	3-hydroxybutyric acid	0,1101	0,0883	0,0492	0,0825	0,0309	37%
18,71	valine	0,0375	0,0275	0,0151	0,0267	0,0112	42%
19,10	4-hydroxybutyric acid	0,0194	0,0131	0,0089	0,0138	0,0053	38%
19,19	5-nonanol	0,1045	0,2043	0,1516	0,1535	0,0499	33%
19,44	decanoic acid	0,0582	0,0477	0,0310	0,0456	0,0137	30%
19,48	leucine	0,0322	0,0190	0,0108	0,0207	0,0108	52%
20,06	isoleucine	0,0195	0,0141	0,0057	0,0131	0,0070	53%
20,70	butanedioic acid	0,0516	NM	NM	0,0516	NA	NA
20,72	proline	ND	NM	NM	NA	NA	NA
22,70	glycerol	0,4425	0,1717	0,0699	0,2281	0,1926	84%
22,84	methacrylic acid, diester with triethylene glycol	0,4911	0,7026	0,4615	0,5517	0,1315	24%
23,00	dodecanoic acid	0,0967	0,0814	0,0476	0,0752	0,0251	33%
23,32	phosphoric acid	0,0224	0,0201	0,0134	0,0187	0,0047	25%
23,40	methacrylic acid, diester with tetraethylene glycol	0,3291	0,6885	0,4519	0,4898	0,1827	37%
23,87	5-oxo-proline	0,0498	NM	NM	0,0498	NA	NA
24,66	tridecanoic acid	0,0251	0,0103	0,0067	0,0140	0,0098	70%
26,04	phenylalanine	0,0232	0,0146	0,0074	0,0151	0,0079	53%
26,25	tetradecanoic acid	0,1302	0,0872	0,0561	0,0912	0,0372	41%
26,64	4-hydroxy benzoic acid	0,0749	0,0567	0,0298	0,0538	0,0227	42%
27,20	pentadecanoic acid	0,1031	0,1497	0,0774	0,1101	0,0367	33%
27,46	N-acetyl- glycine ?	0,0485	ND	ND	0,0485	NA	NA
29,23	hexadecanoic acid	0,8898	0,7539	0,3592	0,6677	0,2756	41%

29,80	heptadecanoic acid	0,1226	0,0869	0,0422	0,0839	0,0403	48%
31,98	octadecanoic acid	0,3018	0,2979	0,1196	0,2398	0,1041	43%
32,59	diisooctyl-phtalate	0,1419	0,1380	0,0632	0,1144	0,0443	39%
34,53	phytanic acid	0,0889	0,0810	0,0387	0,0695	0,0270	39%
35,85	methyl ester of 2-hydroxy docosanoic acid	0,4501	0,4676	0,2291	0,3823	0,1330	35%
37,27	docosanoic acid	0,5067	0,4683	0,2235	0,3995	0,1536	38%
39,10	tricosanoic acid	0,5264	0,5729	0,2470	0,4488	0,1763	39%
41,12	tetracosanoic acid	1,2590	1,3219	0,5162	1,0324	0,4481	43%
42,92	2-hydroxy hexacosanoic acid	0,4075	0,4984	0,1391	0,3483	0,1868	54%

Table 3-2 Ensemble des composés détectés lors des trois expériences d'extraction assistée par ultrasons de la matière organique de JSC-Mars-1. En jaune : hydrocarbures. En bleu : alcools. En vert : acides aminés. En rouge : acides carboxyliques. ND = Non détecté ; NM = Non mesurable (coélution trop importante ou quantité trop faible) ; NA = Non applicable.

3.1.2.2. Analyse du contenu organique de JSC-Mars-1 par Pyr-CPG-SM

Afin de caractériser la fraction des composés insolubles et réfractaires de l'échantillon JSC-Mars-1, nous avons utilisé la technique de pyrolyse qui permet de décomposer thermiquement les espèces lourdes non volatiles en espèces plus légères et volatiles.

a) Protocole expérimental

Les pyrolyses sont réalisées à l'aide d'un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab (Fukushima, Japon) installé sur l'injecteur Split/SplitLess (SSL) du CPG commercial Trace GC Ultra, Thermo Scientific, couplé à un spectromètre de masse quadripolaire commercial ISQ LT, Thermo Scientific.

Le CPG est équipé d'une colonne capillaire Restek Rxi-5Sil SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), avec 5m de colonne de garde intégrée (5m x 0,25mm). Le pyrolyseur permet de chauffer de manière quasi-instantanée l'échantillon et cela à toutes les températures comprises entre l'ambiante et 1000°C.

20mg de sol sont déposés dans une nacelle d'échantillonnage puis placés en tête du pyrolyseur. Le four du pyrolyseur est chauffé à la température de pyrolyse souhaitée et l'injection se fait de manière synchrone avec le début de l'acquisition. Le pyrolyseur est balayé en continu avec de l'hélium (1,5 mL.min⁻¹) ce qui permet aux pyrolysats d'être transférés vers la tête de colonne. L'interface pyrolyseur-CPG est chauffé à 300°C de façon à éviter la condensation des pyrolysats.

La programmation en température de la colonne démarre à 50°C pendant 2min, puis la température augmente avec une rampe de 3°C.min⁻¹ jusqu'à 170°C, puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C (3 min). L'injecteur est chauffé à 270°C. Le débit d'hélium est maintenu constant à 1,5ml.min⁻¹. Le débit de split est de 15ml.min⁻¹. Les masses sont scannées entre m/z 40 et m/z 500.

Le sol a été pyrolysé à 400°C, 500°C et 600°C, avec un échantillon renouvelé à chaque analyse.

b) Résultats

La Figure 3-3 montre les chromatogrammes obtenus après pyrolyse à 400°C, 500°C et 600°C d'échantillons de 20mg de JSC-Mars-1.

A 400°C, la température est insuffisante pour volatiliser la matière organique liée à la matrice minéralogique. Les composés détectables sont alors essentiellement des molécules adsorbées lorsque l'échantillon était exposé à l'air libre, telles que l'eau, le dioxyde de carbone atmosphérique, et ici le furfural qui ne semble pas lié aux minéraux et provient certainement d'une contamination extérieure.

A partir de 500°C, de très nombreux pics sont observés. La grande majorité d'entre eux correspondent à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et à leur dérivés alkylés, alcénylés ou alcynylés. On identifie également un grand nombre d'hétérocycles oxygénés ou azotés. A 600°C, ces produits de pyrolyse sont encore plus nombreux et plus abondants quantitativement (aires des pics plus importantes), montrant que toute la matière organique n'est pas extraite de l'échantillon à 500°C.

La liste des composés détectés après pyrolyse de 20mg de JSC-1 seul à 600°C est donnée en Table 3-3. Cette liste contient la totalité des espèces détectées à 500°C et inclut : des hydrocarbures linéaires saturés et insaturés (C10 à C22), du benzène avec ses dérivés alkylés, alcénylés ou alcynylés (jusqu'au tétradécyl-benzène), d'autres dérivés du benzène avec des groupements aldéhyde, cétone, hydroxyle et amine, des HAPs et leur dérivés alkylés, alcénylés ou alcynylés, des hétérocycles azotés et oxygénés et des nitriles.

Une partie des HAPs et hétérocycles ne correspond vraisemblablement pas à des molécules présentes dans l'échantillon, mais provient de la dégradation thermique de ces dernières, notamment par cyclisation et aromatisation de la matière organique à haute température (Bergman, 1973; John and Tour, 1994; Lockhart et al., 1981).

Ces expériences mettent en évidence les deux principales limites de la technique de Pyr-CPG-SM :

- Des températures inférieures à 600°C ne permettent pas d'extraire et de volatiliser toute la matière organique présente dans JSC-Mars-1.
- A partir de 500°C, et *a fortiori* à des températures supérieures, les molécules organiques subissent une évolution thermique qui se traduit par leur cyclisation et leur aromatisation. Il est extrêmement difficile de remonter aux molécules mères à partir de matière aussi thermiquement évoluée. De plus, il n'est pas possible de différencier ces purs produits de pyrolyse des molécules cycliques et aromatiques qui pourraient être initialement présentes dans l'échantillon et qui ne seraient extraites qu'aux hautes températures.

La technique de Pyr-CPG-SM permet donc d'extraire efficacement la matière organique de l'échantillon à haute température uniquement, et ne permet donc pas facilement l'identification des espèces originellement présentes du fait de leur dégradation thermique. L'utilisation de la Pyr-CPG-SM peut néanmoins être pertinente pour l'analyse de macromolécules très réfractaires telles que les polymères. Afin d'éviter la décomposition thermique des espèces les plus fragiles, la Pyr-CPG-SM peut être associée à la dérivatisation chimique. C'est le principe de la thermochimiolysse avec le TMAH, qui permet de réaliser une pyrolyse tout en stabilisant par méthylation les composés susceptibles de se dégrader et de se réarranger sous l'effet du chauffage, notamment les molécules polaires.

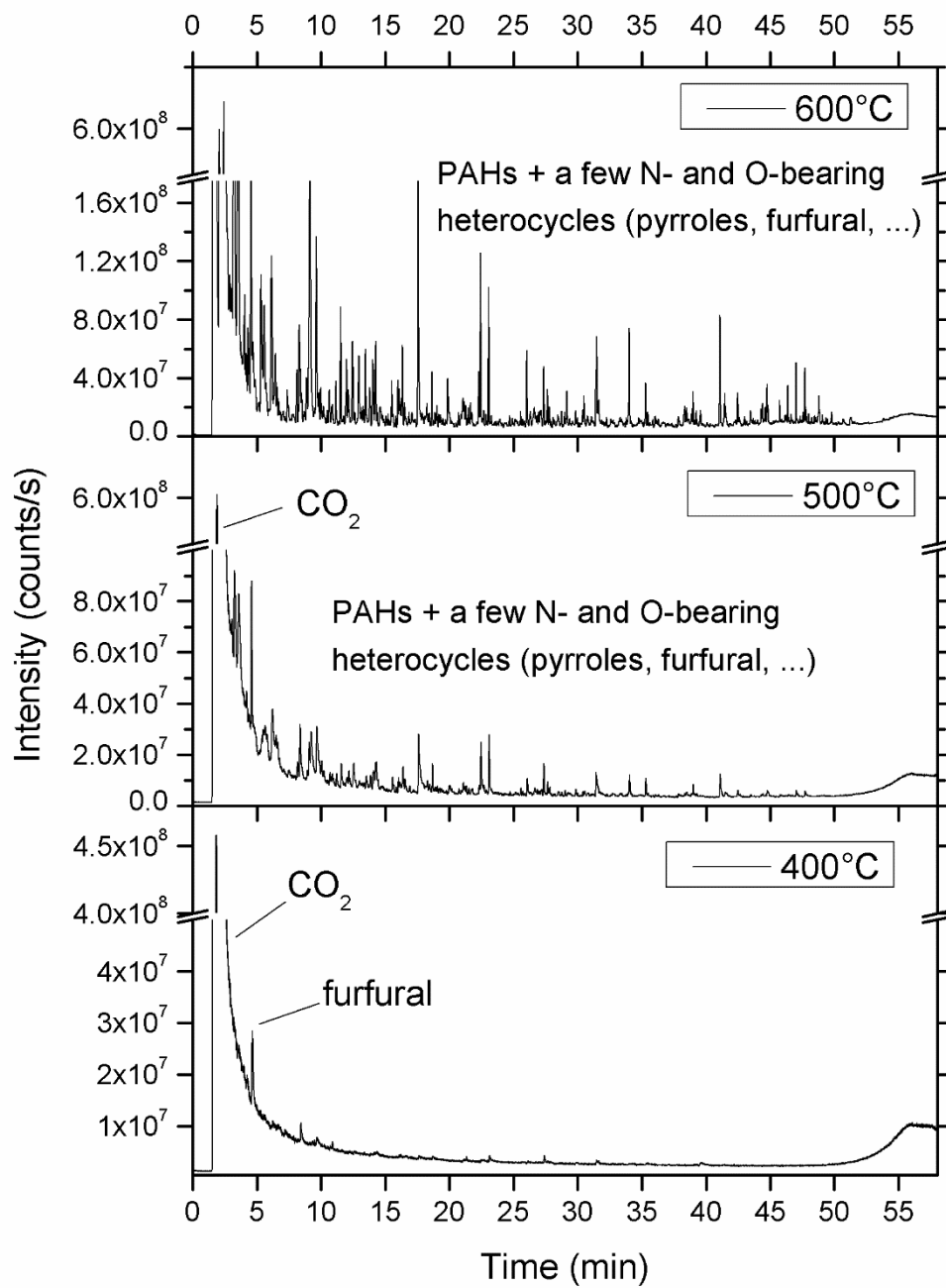


Figure 3-3 Chromatogrammes obtenus par pyrolyse de 20mg de JSC-1 à (de bas en haut) 400°C, 500°C et 600°C.

Alkanes, alkenes		(Alkyl-, Alcenyl-, Alcynyl-) benzenes		Other benzene derivatives
decane	pentadecane	benzene	diethyl-methyl-benzene	benzaldehyde
decene	hexadecane	toluene	pentyl-benzene	benzeneamine (aniline)
undecene x 2	heptadecane	dimethyl-benzene x 2	(1-methylbutyl)-benzene	phenol
undecane	octadecane	ethenyl-benzene (styrene)	hexyl-benzene	methyl-phenol x2
dodecene	nonadecane	propyl-benzene	heptyl-benzene	acetophenone
dodecane	eicosane	ethyl-methyl-(or trimethyl)-benzene x 6	octyl-benzene	methyl-benzenamine
tridecene x 2	heneicosane	ethyl-dimethyl-benzene	decyl-benzene	2-methyl-benzoxazole
tetradecane	docosane	methylphenylacetylene	tridecyl-benzene	biphenyl
N-heterocycles		diethyl-benzene x 3	tetradecyl-benzene	methyl-biphenyl x 2
pyridine	4-azafluorene	butyl-benzene	methylphenylacetylene	acenaphthenone
pyrrole	carbazole	tetramethyl-benzene		benzophenone
methyl-pyridine x 2	benzofuran	PAHs		fluoren-9-one
methyl-pyrrole x 2	pyrrole-2-carboxaldehyde	indane	methyl-fluorene x 3	dibenzothiophene
2-ethenyl-pyridine	methyl-benzofuran x 3	naphthalene	phenanthrene/anthracene	1-indanone
indole	4,7-dimethyl-benzofuran	1,2-dihydro-4-methyl-naphthalene	9-methylene-fluorene	
indolizine	O-heterocycles	1-ethylidene-1-indene	methyl-phenanthrene/anthracene x 5	Nitriles
quinoline ou isoquinoline	furfural	azulene	2-phenyl-naphthalene	3-methyl-butanenitrile
methyl-indole	5-methyl-furfural	benzocycloheptatriene	dimethyl-phenanthrene/anthracene	2-hydroxy-propanenitrile
2-phenyl-pyridine	benzonaphthofuran x 2	ethyl-naphthalene	fluoranthene	benzonitrile
Others		dimethyl-naphthalene x 5	pyrene	pyridinecarbonitrile
CO ₂	C ₁₁ H ₁₀	2-ethenyl-naphthalene	benzo[b]fluorene	methyl-benzonitrile x 3
acetic acid	C ₁₆ H ₁₂	acenaphthylene	methyl-pyrene	benzyl-nitrile
dimethylformamide	C ₁₇ H ₁₂	phenalene	methyl-pyrene	naphthalenecarbonitrile x 2
C ₉ H ₁₀	C ₁₈ H ₁₂	fluorene	benzofluoranthene	
C ₁₀ H ₁₂ x 4	C ₉ H ₁₀ O			
C ₁₀ H ₁₀ x 4	C ₁₃ H ₁₀ O x 3			

Table 3-3 Liste des composés détectés après pyrolyse de 20mg de JSC-1 seul à 600°C.

3.2. Optimisation de la thermochimie pour l'analyse *in situ*

3.2.1. Dégradation thermique du TMAH

L'objet de cette partie est d'étudier la résistance thermique du TMAH et d'identifier les produits de dégradation de ce dernier en fonction de la température. Ces données seront par exemple importantes lors de l'utilisation de la thermochimie par SAM ou MOMA à la surface martienne.

Des blancs avec du TMAH chauffé seul ont été réalisés à différentes températures afin de discriminer les molécules issues de la dégradation du TMAH de celles provenant de l'échantillon lors de la thermochimie de JSC-Mars-1.

Il a été montré que les sels de tétraméthylammonium – dont le TMAH (formule moléculaire $N(CH_3)_4^+ OH^-$) – se décomposent lorsqu'ils sont chauffés à haute température, formant toujours de la triméthylamine ($N(CH_3)_3$) (Ikeda et al., 2003; Lawson and Collie, 1888). La température de décomposition dépend de la nature du sel de tétraméthylammonium. Pour le TMAH, qui est un hydroxyde (de même que pour le carbonate, acétate ou benzoate), la température de début de décomposition se trouve autour de 200°C. (Lawson and Collie, 1888) montrent en effet qu'à partir de 200°C, le TMAH se décompose en triméthylamine et méthanol ; il faut donc s'attendre à trouver ces deux molécules en grandes quantités dans nos analyses. Des tests de contrôle ont aussi été réalisés afin de vérifier si des différences existent entre la dégradation thermique observée lors de l'injection du TMAH seul et la dégradation thermique du TMAH mis en contact avec la matrice minérale de JSC-1, dans le cas où le chauffage du TMAH au contact de la silice catalyserait sa décomposition.

3.2.1.1. Protocole

Les pyrolyses sont réalisées avec un CPG commercial Trace GC Ultra, Thermo Scientific, couplé à un spectromètre de masse quadripolaire commercial ISQ LT, Thermo Scientific. Le CPG est équipé avec une colonne capillaire Restek Rxi-5Sil SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), avec 5m de colonne de garde intégrée. Un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab (Koriyama, Japon) est installé sur l'injecteur Split/Splitless (SSL) du CPG.

De 2,5µL à 25µL de TMAH (25% en masse dans du méthanol, Sigma-Aldrich) est déposé dans une nacelle d'échantillonnage puis placé en tête du pyrolyseur. Le four du pyrolyseur est chauffé à la température de pyrolyse souhaitée et l'injection se fait de manière synchrone avec le début de l'acquisition. La programmation en température de la colonne démarre à 50°C pendant 2min, puis la température augmente avec une rampe de 3°C.min⁻¹ jusqu'à 170°C, puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C (3 min). L'injecteur est chauffé à 280°C. Le débit d'hélium est maintenu constant à 1,5mL.min⁻¹. Le débit de split est de 15mL.min⁻¹. Les masses sont scannées entre m/z 40 et m/z 500.

La dégradation prématurée de la colonne chromatographique, décrite plus loin dans le paragraphe 3.2.1.4, liée au TMAH a nécessité de réduire les quantités analysées. C'est pourquoi le volume de TMAH injecté a été ajusté au fur et à mesure des analyses avec une première injection de 25µL à 600°C, puis 10µL à 700°C et 800°C et 2,5µL à 400°C, 500°C et 950°C. Il est important de noter ici que ces variations de volume n'impacteront pas les résultats obtenus puisque nous n'effectuons que des analyses qualitatives.

3.2.1.2. Résultats

Les chromatogrammes « blancs » obtenus par pyrolyse de TMAH seul à 600°C, 700°C, 800°C et 950°C sont donnés en Figure 3-4, tandis que les chromatogrammes à 400°C et 500°C peuvent être consultés en Annexe 3-1 et Annexe 3-2 respectivement.

La triméthylamine est le seul produit de décomposition thermique du TMAH observé après le chauffage à 400°C.

A 500°C et 600°C, les produits de dégradation thermique du TMAH sont la triméthylamine, la N,N-diméthyléthylamine et la N,N,N',N'-tétraméthyl-éthylènediamine.

A partir de 700°C, des produits de recombinaison plus complexes peuvent être observés et deviennent de plus en plus nombreux lorsque la température de pyrolyse augmente, jusqu'à 950°C. On voit notamment la formation de cycles avec la hexahydro-1,3,5-triméthyl-1,3,5-triazine (de 700°C à 950°C) et l'hexaméthylènetétramine (HMT, à 800°C et 950°C), ainsi que la formation de nitriles avec le 1,5-dicyano-2,4-diméthyl-2,4-diazapentane (de 700°C à 950°C). Ces composés, qui constituent donc les principaux produits de décomposition/recombinaison thermique du TMAH sont représentés sur la Figure 3-5. Toutes ces molécules ont en commun au sein de leur structure le même motif « triméthylamine » et sont donc très probablement issues de la recombinaison de la triméthylamine, premier produit de dégradation du TMAH.

A 950°C, on notera, en plus des molécules citées ci-dessus, un grand nombre de pics auxquels on peut difficilement assigner un composé avec certitude (essentiellement à cause des très nombreuses coélutions, parfois à cause de l'absence du composé dans la base de données NIST) mais parmi lesquels plusieurs HAPs ont été identifiés (naphtalène, acénaphthylène, fluoranthène, pyrène, benzo-fluoranthène), et dont un grand nombre semble correspondre à une variété de molécules nitrilées. Ces molécules sont issues de la dégradation thermique du TMAH et à la recombinaison de ses produits de dégradation en molécules plus stables thermiquement : les HAPs.

3.2.1.3. Dégradation du TMAH en présence de la matrice minéralogique de JSC-Mars-1

Des échantillons de JSC-Mars-1 ont été chauffés au four à 950°C à l'air ambiant afin d'éliminer toute trace de matière organique, la matrice minérale seule étant préservée. Afin de vérifier l'absence de contenu organique, 20 mg de ces échantillons de sol pyrolysé ont été analysés par Pyr-CPG-SM à des températures allant jusqu'à 800°C. Aucun composé organique n'a été détecté.

La pyrolyse de ces échantillons « propres » a ensuite été faite en présence de TMAH à 600°C, 700°C et 800°C. Aucun produit de décomposition/recombinaison du TMAH n'a été identifié en plus de ceux détectés lors des injections de TMAH seul. Pour des quantités de TMAH identiques, la seule différence notable due à la présence de la matrice minérale est observée à 800°C où les intensités des pics des produits de dégradation du TMAH (hexahydro-1,3,5-triméthyl-1,3,5-triazine et 1,5-dicyano-2,4-diméthyl-2,4-diazapentane) dépassent le seuil de saturation de la colonne chromatographique tandis que la quantité de triméthylamine détectée diminue. On peut donc conclure qu'à partir de 800°C seulement la matrice minérale catalyse les recombinaisons des produits de décomposition du TMAH.

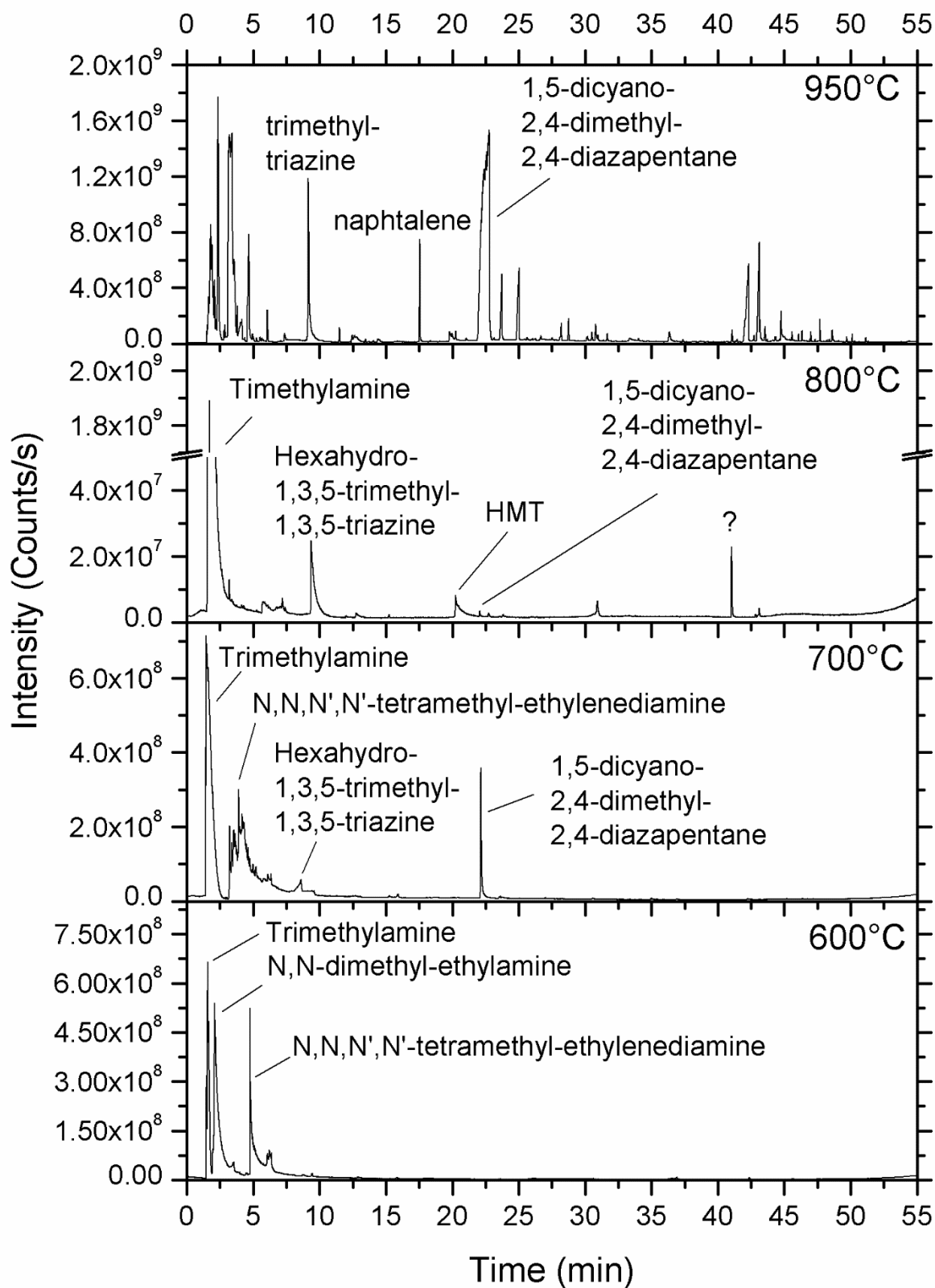


Figure 3-4 Chromatogrammes « blancs » obtenus par pyrolyse de TMAH seul à (de bas en haut) 600°C, 700°C, 800°C et 950°C.

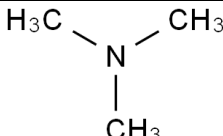
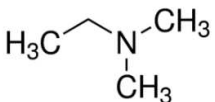
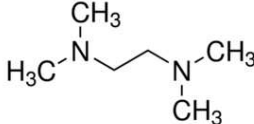
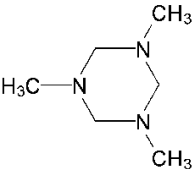
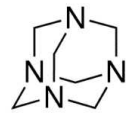
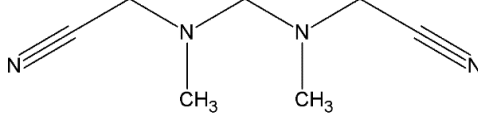
 <p>Triméthylamine</p>	 <p>N,N-diméthyléthylamine</p>
 <p>N,N,N',N'-tétraméthyl-éthylènediamine</p>	 <p>Hexahydro-1,3,5-triméthyl-1,3,5-triazine</p>
 <p>Hexaméthylènetétramine (HMT)</p>	 <p>1,5-dicyano-2,4-diméthyl-2,4-diazapentane</p>

Figure 3-5 Principaux produits de dégradation thermique du TMAH.

3.2.1.4. Dégradation de la colonne chromatographique par le TMAH

Une importante dégradation de la colonne chromatographique est survenue rapidement après les premières analyses en présence de TMAH. La dégradation se traduit par deux phénomènes :

- Apparition de nombreux pics de siloxanes liés à la détérioration et l'éluion de la phase stationnaire.
- Déformation de la ligne de base avec un signal en dents de scie sur certains intervalles ou sur la totalité de l'acquisition.

Avec la colonne Restek Rxi-5Sil SM utilisée pour les analyses décrites ci-dessus, la première déformation de la ligne de base du chromatogramme a été observée après un volume cumulé de solution de TMAH injecté de 112µL sur 5 injections, avec un ratio de split de 10, ce qui équivaut à un volume total réel injecté dans la colonne de 11,2 µL.

Pour étudier la résistance des phases stationnaires au TMAH, les mêmes analyses (cf. paragraphe 3.2.2) ont été faites avec une colonne Zebron Inferno ZB-5HT (30m x 0,25mm x 0,25µm), avec 5m de colonne de garde intégrée, Phenomenex. Les premiers signes de dégradation de la colonne chromatographique sont survenus après 230µL de TMAH injecté sur 50 injections avec un ratio de split de 33, soit un volume total réel injecté de 7 µL.

Une troisième sorte de colonne sera testée dans la dernière partie de ce chapitre (partie 3.2.3) : une colonne Supelco SLB-5SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), Sigma-Aldrich avec une phase à base de polymère de silphénylène. Cette colonne a montré la plus grande résistance des trois colonnes étudiées face à la dégradation par le TMAH.

La dégradation de la phase stationnaire est illustrée sur le chromatogramme de la Figure 3-6 pour la colonne Zebron. On peut y voir à la fois la déformation de la ligne de base sur toute la durée de l'acquisition (une heure) et la présence de nombreux pics correspondant à des siloxanes cycliques qui sont des fragments issus de la dégradation de la phase stationnaire dérivée du diméthyl-polysiloxane.

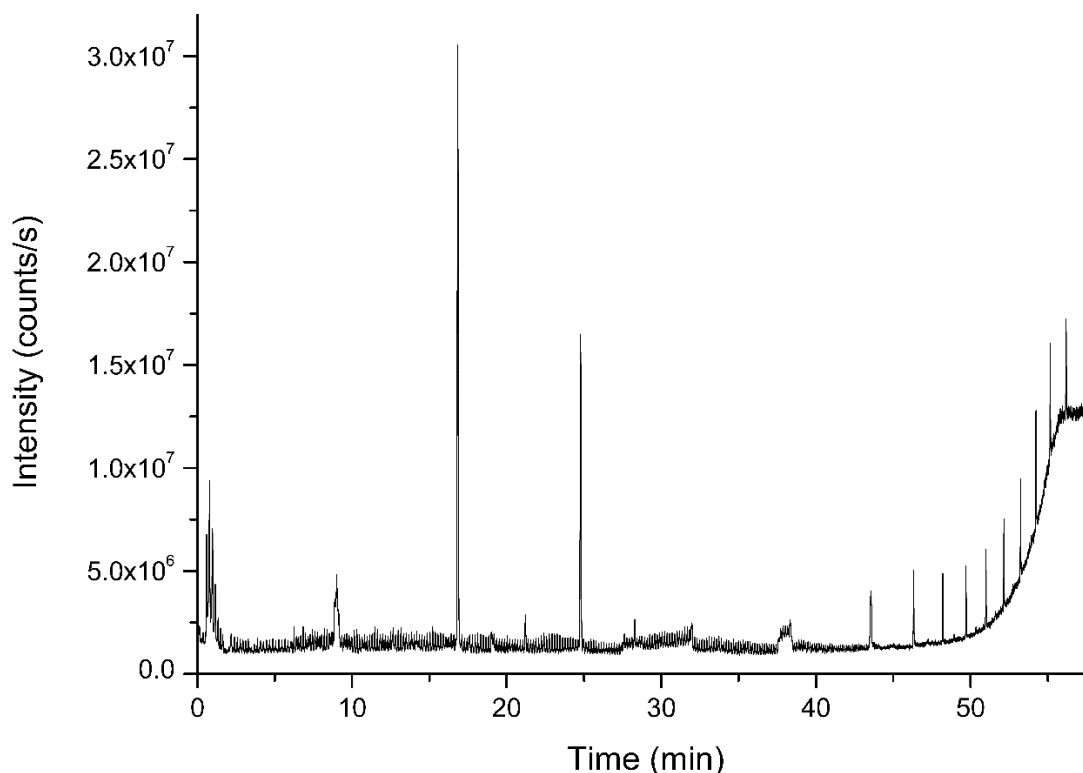


Figure 3-6 Chromatogramme "blanc" illustrant la dégradation de la colonne chromatographique Zebron Inferno ZB-5HT, Phenomenex. Tous les pics correspondent à des siloxanes cycliques.

3.2.1.5. Conclusions

L'étude de la dégradation thermique du TMAH montre que la thermochimiolyse de JSC-Mars-1 doit préférentiellement être faite à une température maximale de 600°C, pour éviter la pollution des chromatogrammes par les produits de décomposition/recombinaison du TMAH d'une part, et pour préserver suffisamment de TMAH actif pour permettre la réaction de thermochimiolyse d'autre part. Le chauffage du TMAH en présence de la matrice minéralogique de JSC-Mars-1 a montré que la formation de produits secondaires de recombinaison n'était catalysée qu'à partir de 800°C et ne devrait donc pas être une contrainte pour les futures analyses.

Les analyses ont mis en évidence une importante dégradation de la phase stationnaire sur les deux colonnes chromatographiques testées (Restek et Phenomenex, à base de diméthyl-polysiloxane) liée aux injections répétées de TMAH. La thermochimiolyse de JSC-Mars-1 nécessitant une bonne imprégnation du sol, il n'est pas envisageable de réduire la quantité de TMAH injectée, sous peine de voir l'efficacité de l'extraction et de la méthylation diminuer. La colonne chromatographique sera donc à adapter. Comme indiqué plus haut, nous utiliserons, dans la partie 3.2.3, une phase à base de polymère de silphénylène avec une colonne Supelco SLB-5SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), Sigma-Aldrich. Contrairement aux deux autres colonnes, la colonne Supelco n'a montré que très peu de signes de dégradation (siloxanes) après les analyses réalisées pour l'optimisation de la température de thermochimiolyse.

3.2.2. Influence du temps de contact entre le TMAH et JSC-Mars-1

Plusieurs paramètres peuvent influencer le rendement de la thermochimiolyse. Parmi ces paramètres on trouve la quantité de TMAH (fixée en ce qui concerne l'expérience MOMA), la quantité de méthanol (75% en masse) mais également la température de réaction et le temps de contact entre le sol et le TMAH. Ces deux dernières variables seront étudiées.

L'étude de l'influence du temps de contact entre le TMAH et JSC-Mars-1 sur l'efficacité de la thermochimiolyse a été réalisée dans deux conditions de température :

- A température ambiante pour l'optimisation de la thermochimiolyse *in situ* embarquée avec l'expérience SAM-CPG-SM, où l'échantillon de sol est inséré à froid dans la nacelle contenant le TMAH. Le TMAH étant libéré par perforage lors de la fermeture du four. La nacelle est ensuite placée dans le four de SAM pour le chauffage (Mahaffy et al., 2012).
- A 300°C pour l'optimisation de la future thermochimiolyse *in situ* avec MOMA-CPG-SM, où le TMAH ne peut être libéré qu'après la fonte d'un eutectique. Le contact ne peut donc se faire qu'à la température égale ou supérieure à la température de fusion de l'eutectique (Goesmann et al., 2017) à savoir environ 300°C.

3.2.2.1. Protocole

Les pyrolyses sont réalisées avec un CPG commercial Trace GC Ultra, Thermo Scientific, couplé à un spectromètre de masse quadripolaire commercial ISQ LT, Thermo Scientific. Un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab (Koriyama, Japon) est installé sur l'injecteur Split/SplitLess (SSL) du CPG. Le CPG est équipé d'une colonne capillaire Zebron Inferno ZB-5HT (30m x 0,25mm x 0,25µm), avec 5m de colonne de garde intégrée, Phenomenex.

La programmation en température de la colonne démarre à 50°C pendant 2min, puis la température augmente avec une rampe de 3°C.min⁻¹ jusqu'à 170°C, puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C (3 min). L'injecteur est chauffé à 280°C. Le débit d'hélium est maintenu constant à 1,5mL.min⁻¹. Le débit de split est de 50mL.min⁻¹. Les masses sont scannées entre m/z 40 et m/z 500.

10mg de sol sont insérés dans une nacelle d'échantillonnage et 10µl de TMAH (25% en masse dans du méthanol, Sigma-Aldrich) sont injectés directement sur le sol à l'aide d'une seringue.

- Pour l'étude du temps de contact à température ambiante, la nacelle est placée dans le pyrolyseur à froid. Le sol est laissé au contact du TMAH pour des durées de 2min, 5min, 10min, 20min et 24h.
- Pour l'étude du temps de contact à 300°C, la nacelle est injectée dans le pyrolyseur, préalablement chauffé à 300°C. Le sol est laissé au contact du TMAH pour des durées de 5min, 10min et 20min.

Pour ces deux expériences, il est important de noter que lors du contact, le pyrolyseur n'est pas balayé par le gaz vecteur. Cela permet de mimer les expériences SAM et MOMA et ainsi de ne pas perdre les produits de thermochimiolyse.

Le four du pyrolyseur est ensuite chauffé à 400°C et l'acquisition débute dès que la température est atteinte.

3.2.2.2. Contact à 300°C (MOMA « like »)

Sept composés cibles contenus dans le sol JSC-1 ont été sélectionnés pour mener à bien cette étude : les acides hexanoïque, octanoïque et hexadécanoïque, le 2,2,4-triméthyl-1,3-pentanediol, le 1-docosanol, le n-tridécanoïque et le n-hexadécanoïque. Les deux alcanes n'étant pas dérivatisables, leur quantité doit rester constante et ils ont donc été choisis pour servir de « référence ». Ces espèces ont été sélectionnées car elles ne sont pas coéluées avec d'autres composés ce qui permet de relever avec précision les aires des pics chromatographiques. De plus, ces composés ne sont *a priori* pas des produits thermiquement évolués lors de la pyrolyse.

Les aires des pics de ces sept molécules relevées après des temps de contact entre JSC-Mars-1 et le TMAH de 5min, 10min et 20min sont données sur la Figure 3-7. Malgré l'absence de répliquas et donc de barres d'erreur, le temps de contact à 300°C ne semble pas avoir d'influence sur la quantité de matière détectée et aucun gain n'est observé au-delà de 5 minutes, voire même de légères pertes pour l'acide hexanoïque. Il serait néanmoins utile de vérifier l'efficacité de l'analyse pour des temps de contact inférieurs à 5 minutes.

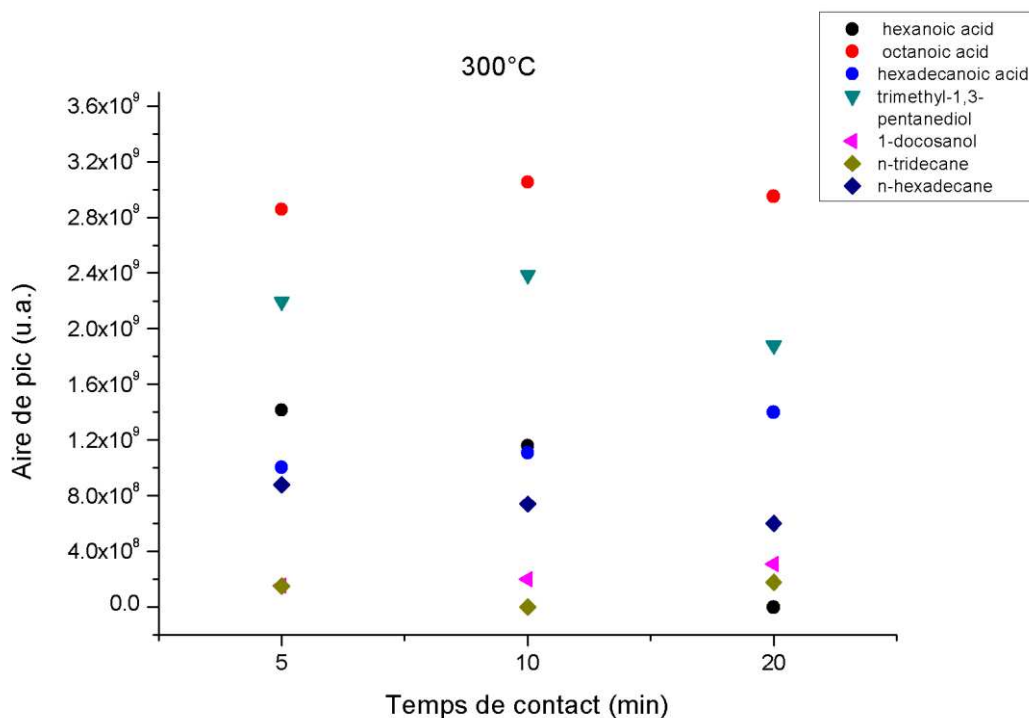


Figure 3-7 Relevés des aires de pics en fonction du temps de contact JSC-Mars-1-TMAH à 300°C.

3.2.2.3. Contact à température ambiante (SAM « like »)

Les aires des pics des mêmes sept molécules que précédemment, relevées après des temps de contact entre JSC-Mars-1 et le TMAH de 2min, 5min, 10min, 20min et 24h, sont données sur la Figure 3-8. Une augmentation de la quantité de matière détectée est observable sur les premières minutes de contact. L'aire des pics semble atteindre un plateau après 5 minutes environ, bien que le temps

exact soit difficile à déterminer avec précision, toujours du fait de l'absence de répliquas. Cinq minutes est donc le temps de contact minimal nécessaire pour extraire le maximum de matière de l'échantillon.

La comparaison des deux expériences montre aussi qu'après une imprégnation du sol à 300°C, de plus grandes quantités de molécules (car proportionnelles à l'air des pics) sont extraites qu'après une imprégnation à température ambiante, et ce quelques soient les durées d'imprégnation. Pour un temps de contact de 5 minutes, des quantités de 2 à 3 fois supérieures sont extraites à 300°C pour tous les composés, hormis pour le 2,2,4-triméthyl-1,3-pentanediol dont la quantité est environ 1,3 fois supérieure et pour l'acide hexanoïque, seule molécule détectée en quantité plus faible à 300°C qu'à température ambiante (environ deux fois moins).

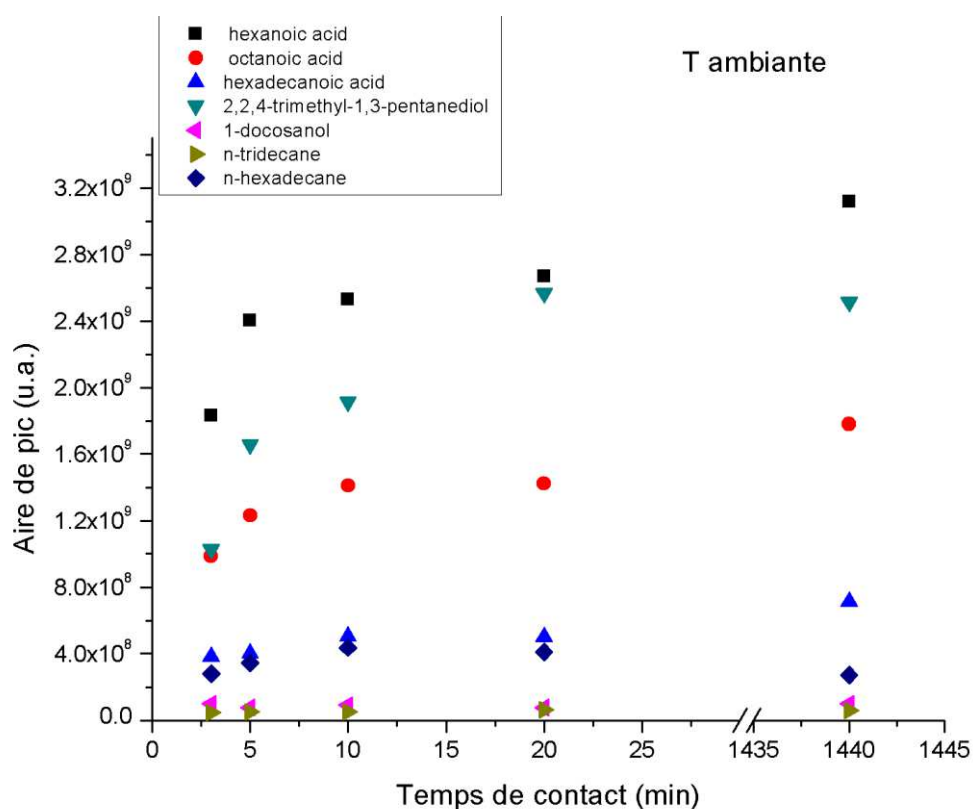


Figure 3-8 Relevés des aires de pics en fonction du temps de contact JSC-Mars-1/TMAH à température ambiante.

3.2.3. Optimisation de la température de thermochimioolyse

L'étude de la température nécessite que l'on puisse comparer les résultats entre eux. Pour ce faire, il est courant d'utiliser un étalon interne. Or le choix d'un tel composé est délicat lorsque les températures de travail sont des températures de pyrolyse.

3.2.3.1. Choix et tests de l'étalon interne

Le choix d'un étalon interne est particulièrement délicat dans le cas des expériences de thermochimioolyse car celui-ci doit d'une part ne pas réagir avec le TMAH mais il doit surtout, d'autre

part, être thermiquement stable, y compris à des températures très élevées (jusqu'à 650°C dans notre cas).

La première molécule envisagée était bien évidemment le méthyl-laurate, puisque c'est l'étalon qui a été utilisé lors des analyses du contenu organique de JSC-Mars-1 par extraction solide-liquide et dérivatisation au MTBSTFA (partie 3.1.2.1), ce qui aurait permis de comparer quantitativement les efficacités des deux techniques. Des analyses préliminaires de thermochimiolysse de JSC-Mars-1 ont toutefois montré que le méthyl-laurate – ou du moins l'acide laurique, avant méthylation par le TMAH – était naturellement présent dans l'échantillon et ne pouvait donc pas être utilisé comme étalon interne.

Le deuxième choix s'est porté sur le propyl-décanoate. Ce dernier n'est pas détecté dans JSC-Mars-1 et ne réagit pas avec le TMAH. Afin de vérifier sa stabilité, des tests de dégradation thermique ont été réalisés sur le propyl-décanoate à 400°C et 650°C.

a) Tests de stabilité thermique du propyl-décanoate

Les analyses sont réalisées avec les instruments décrits ci-dessus. Le programme de température de la colonne démarre à 50°C (1 min), puis 11°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C (3 min). Le débit d'He est de 1,5 mL.min⁻¹. La température de l'injecteur est de 280°C. Le débit de split est de 50 mL.min⁻¹. Une solution de propyl-décanoate est préparée à 1,6.10⁻³ mol.L⁻¹ dans du cyclohexane. Des volumes de 0,1 µL sont injectés directement dans le pyrolyseur à 400°C (4 injections) et à 650°C (4 injections).

Les aires des pics du propyl-décanoate sont données sur l'histogramme de la Figure 3-9 pour les injections aux deux températures. Les barres d'erreur ont été calculées par la méthode RSMD (root-mean-square deviation, équivalente ici à un écart type, ou à la racine carrée de la moyenne des carrés des écarts à la moyenne). Entre 400°C et 650°C, on observe en moyenne une diminution de 85 % de la quantité de propyl-décanoate détectée, soit une baisse d'un facteur sept environ. Le propyl-décanoate subit donc une importante dégradation durant la pyrolyse et ne peut donc pas être utilisé comme étalon interne. De plus, en se dégradant le propyl-décanoate engendrera des produits de dégradation qui risquent de venir perturber les chromatogrammes et leur interprétation.

Par ailleurs, ces analyses vont dans le sens des résultats obtenus lors de la pyrolyse simple de JSC-Mars-1 (partie 3.1.2.2) en montrant que les molécules organiques sont en grande partie dégradés thermiquement à haute température. Ces données appuient également les conclusions de l'étude de la dégradation thermique du TMAH (partie 3.2.1), à savoir que la thermochimiolysse des échantillons ne doit pas être réalisée à des températures supérieures à 600°C pour ne pas dégrader les esters formés par méthylation des acides gras.

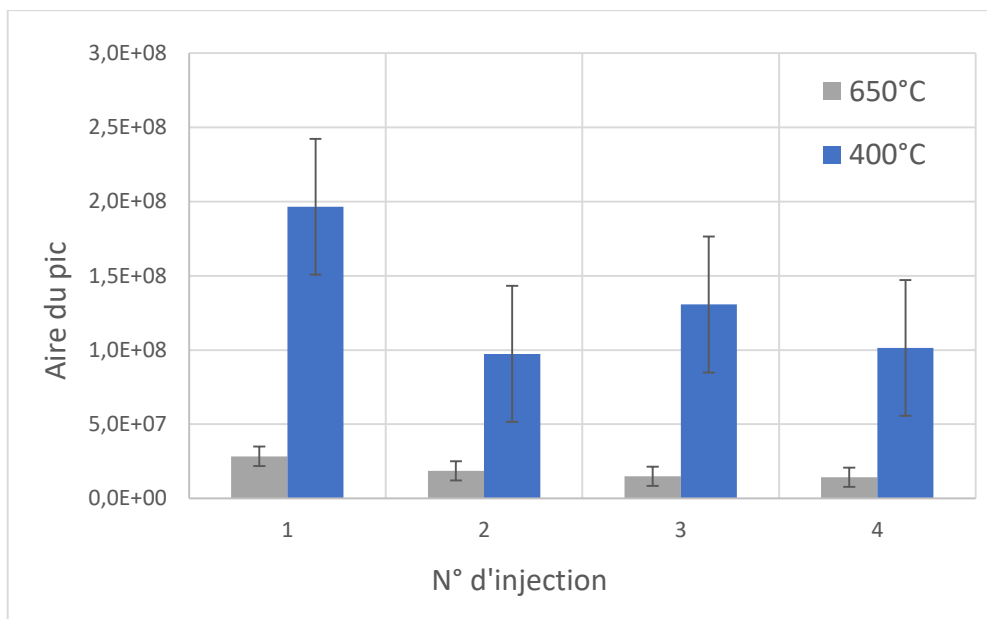


Figure 3-9 Relevés des aires de pics du propyl-décanoate après injections à 400°C et 650°C.

b) Tests de stabilité thermique du naphthalène

Pour pallier le problème posé par la dégradation thermique de l'étalon interne, nous avons choisi le naphthalène, qui en tant que HAP sans fonction chimique fragile est moins susceptible de se décomposer à haute température. Comme il s'agit d'une molécule détectée dans JSC-Mars-1 (naturellement présente et/ou produite par pyrolyse d'autres composés) et particulièrement à haute température, il sera nécessaire d'utiliser un isotope afin de distinguer l'étalon interne du naphthalène issu de l'échantillon. L'isotope choisi est le naphthalène deutéré 8 fois (naphthalène-d8, Sigma-Aldrich, pureté $\geq 98\%$).

Les analyses sont réalisées dans des conditions analytiques identiques à celles utilisées pour le propyl-décanoate. Une solution de naphthalène est préparée à $1,33 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans du cyclohexane. Le volume d'injection est de 0,1 μL .

Dans un premier temps, huit injections de naphthalène non deutéré sont faites à 400°C et huit injections à 650°C. Les relevés des aires du pic du naphthalène sont donnés en Figure 3-10. Les résultats ne montrent pas de dégradation du naphthalène. De manière inattendue, les quantités de naphthalène détectées sont au contraire systématiquement plus élevées à 650°C qu'à 400°C. Pour vérifier si cette tendance se poursuit lorsque la température de pyrolyse augmente, 3 injections supplémentaires ont été faites à 800°C. Les aires des pics relevées à 800°C sont encore nettement supérieures à celles relevées à 650°C. Or, ce type de comportement a déjà été observé par Maëva Millan lors de l'étude de la pyrolyse du naphthalène (pyrolyseur identique), sans pour autant que l'auteur y apporte une explication (Millan, 2016). Une hypothèse pouvant expliquer cette observation serait la présence d'un point froid au niveau du pyrolyseur. Néanmoins, si le naphthalène condensait dans une partie de l'appareil, on observerait des pics de naphthalène sur les chromatogrammes de blancs réalisées après chaque analyse, lorsque le pyrolyseur est chauffé à une température supérieure à la température de l'analyse, ce qui n'est pas le cas. L'augmentation de la quantité de naphthalène détectée avec l'augmentation de la température du pyrolyseur reste donc difficile à expliquer, mais serait *a priori* liée à la géométrie du pyrolyseur et donc à l'inhomogénéité du chauffage.

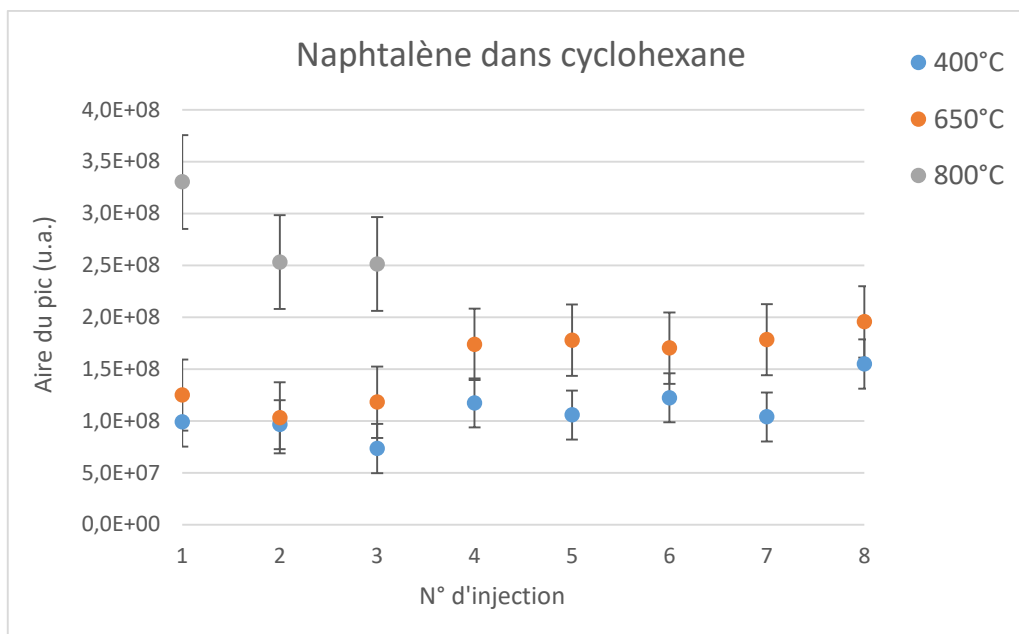


Figure 3-10 Relevés des aires de pics du naphtalène dilué dans le cyclohexane après 8 injections à 400°C, 650°C et 800°C.

Dans la mesure où il ne subit pas de dégradation thermique, le naphtalène peut être utilisé comme étalon interne à condition de connaître le biais induit par l'augmentation de la quantité détectée à haute température et de corriger ce biais. Pour cela, le comportement du naphtalène doit être étudié précisément en conditions analytiques réelles, à savoir celles utilisées pour la future optimisation de la thermochimie de JSC-Mars-1 : le naphtalène doit être deutéré, il est soluble dans le méthanol/TMAH et peut donc être dilué dans ce dernier, il doit être déposé sur JSC-Mars-1 et il doit être pyrolysé aux températures qui seront étudiées pour l'optimisation de la thermochimie (400°C, 500°C et 600°C).

- c) Etude du comportement du naphtalène-d8 en conditions analytiques identiques à celles de JSC-Mars-1

Les pyrolyses sont réalisées avec un CPG commercial Trace GC Ultra, Thermo Scientific, couplé à un spectromètre de masse quadripolaire commercial ISQ LT, Thermo Scientific. Un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab (Fukushima, Japon) est installé sur l'injecteur Split/SplitLess (SSL) du CPG. Le CPG est équipé d'une colonne capillaire Supelco SLB-5SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), Sigma-Aldrich. Le programme de température de la colonne démarre à 60°C avec un chauffage à 11°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C maintenus 2 min. Le débit d'He est de 1,5 mL.min⁻¹. La température de l'injecteur est de 280°C. Le débit de split est de 50 mL.min⁻¹.

Les quantités réelles prévues pour les thermochimies sont de 10 mg de JSC-Mars-1 et 10µL de solution de TMAH mélangé au naphtalène-d8. Afin de limiter la dégradation de la colonne chromatographique par le TMAH, seul 0,3µL de solution est utilisé ici au lieu des 10µL, avec une solution plus concentrée en naphtalène.

Une solution de naphtalène-d8 est préparée à 7,3.10⁻⁴ mol.L⁻¹ dans du TMAH. 0,3 µL de cette solution, soit un total de 0,2 nmol de naphtalène-d8, est déposé sur 10mg de la matrice minéralogique de JSC-Mars-1 (i.e. après élimination de la matière organique par chauffage à 950°C), directement dans

la nacelle d'échantillonnage. Pour obtenir la meilleure répétabilité possible, le dépôt est fait au moyen d'une micropipette électronique (eVol, SGE). La nacelle est ensuite injectée dans le four du pyrolyseur préalablement chauffé à la température souhaitée. Les analyses sont faites à 400°C, 500°C et 600°C avec 5 répliques pour chaque température. Les relevés des aires de pics (en unité arbitraire) du naphthalène-d8 sont donnés sur la Figure 3-11.

Les différences d'aires calculées en moyenne sur les 5 répliques sont de 42% entre 400°C et 600°C et de 11% entre 500°C et 600°C. En choisissant de se rapporter à la valeur obtenue à 600°C, les corrections qui devront être apportées pour tenir compte du biais sont donc de +42% sur les aires des pics relevées à 400°C et de +11% sur les aires relevées à 500°C.

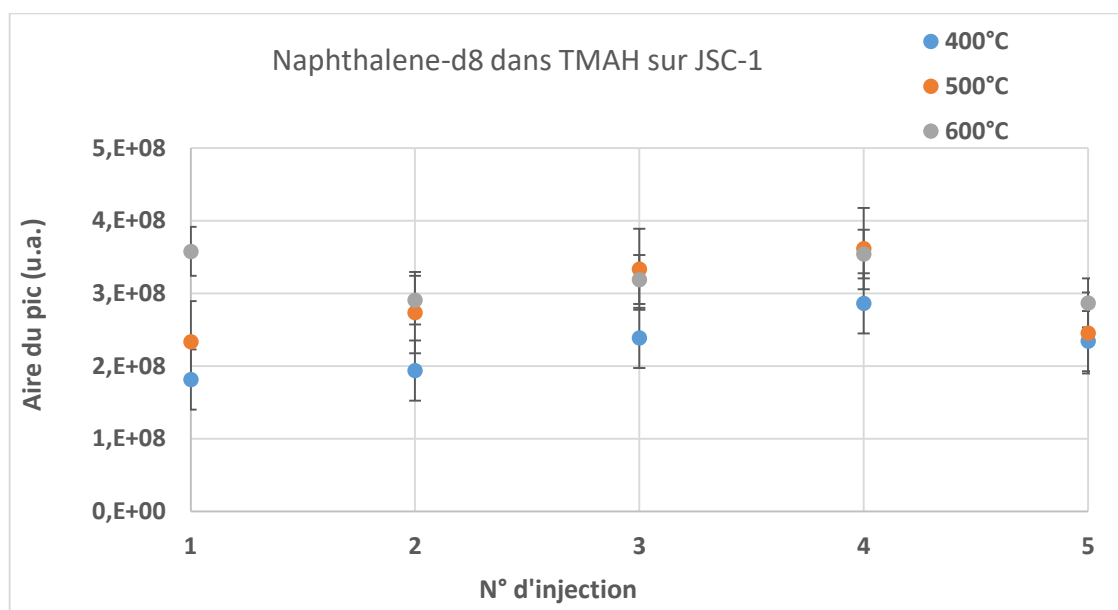


Figure 3-11 Relevés des aires (unité arbitraire) de pics du naphthalène-d8 dilué dans le TMAH après 5 injections à 400°C, 500°C et 600°C.

3.2.3.2. Protocole

Les pyrolyses sont réalisées avec un GC commercial Trace GC Ultra, Thermo Scientific, couplé à un spectromètre de masse quadripolaire commercial ISQ LT, Thermo Scientific. Un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab (Koriyama, Japon) est installé sur l'injecteur Split/SplitLess (SSL) du CPG. Le CPG est équipé d'une colonne capillaire Supelco SLB-5SM (30m x 0,25mm x 0,25µm), Sigma-Aldrich.

Les premières analyses ont montré un important effet du solvant (TMAH) sur l'élution du naphthalène-d8, entraînant l'élargissement, le dédoublement et une traînée du pic chromatographique causés par la saturation de la phase stationnaire par le TMAH. Comme mentionné précédemment, une diminution de la quantité de TMAH n'est pas envisageable, l'analyse nécessitant une bonne imprégnation du sol. L'augmentation du débit de split de 50 mL.min⁻¹ à 100 mL.min⁻¹ corrige le problème de la déformation du pic de naphthalène, mais elle réduit aussi sensiblement la détection de certaines molécules organiques, dont les méthyl esters d'acides gras, qui sont des composés particulièrement ciblés par la thermochimie. Une augmentation de la température de départ de la colonne chromatographique permet d'éluer plus rapidement le TMAH et remédie ainsi au problème,

mais elle augmente le nombre de composés volatils qui sortent coélués en début d'acquisition. Cette deuxième solution a été choisie car les molécules volatiles légères ne sont pas les principales cibles des expériences de thermochimioolyse, et peuvent être détectées après dérivation au MTBSTFA par exemple.

Le programme de température de la colonne démarre donc à 90°C pendant 2 min, le chauffage est ensuite de 3°C.min⁻¹ jusqu'à 200°C puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C maintenus 3 min. Le débit d'He est de 1,5 mL.min⁻¹. La température de l'injecteur est de 280°C. Le débit de split est de 50 mL.min⁻¹.

Une solution de naphthalène-d8 est préparée à 10⁻⁴ mol.L⁻¹ dans du TMAH. 10 µL de cette solution, soit un total de 1 nmol de naphthalène-d8, sont déposés sur 10mg de JSC-Mars-1 directement dans la nacelle d'échantillonnage. Pour obtenir la meilleure répétabilité possible, le dépôt est fait au moyen d'une micropipette électronique (eVol, SGE). La nacelle est ensuite injectée dans le four du pyrolyseur préalablement chauffé à la température souhaitée. Les analyses sont faites à 400°C, 500°C et 600°C avec 5 réplicas pour chaque température.

3.2.3.3. Résultats

- a) Influence de la température de thermochimioolyse sur le nombre et la nature des composés détectés

Les chromatogrammes obtenus après pyrolyses à 400°C, 500°C et 600°C de 10mg de JSC-Mars-1 imprégnés de 10µL de solution de TMAH contenant 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de naphthalène-d8 sont donnés en Figure 3-12.

On constate une importante complexification des chromatogrammes lorsque la température de thermochimioolyse augmente. A partir de 500°C, le chromatogramme devient saturé en pics, ce qui se traduit par de nombreux composés qui sont coélués. Cela entraîne de grandes difficultés d'identification pour une partie des molécules. Cette tendance s'accroît à 600°C. Une injection complémentaire à 700°C a montré que l'identification de nombreux composés n'est possible que grâce à la comparaison des temps de rétention et des spectres de masses des pics obtenus à 700°C avec ceux des chromatogrammes obtenus à plus basse température, où les coélutions sont moins importantes.

Un total de 47, 169 et 229 composés ont été identifiés après les pyrolyses à 400°C, 500°C et 600°C respectivement. Le nombre total de pyrolysats détectés est cependant bien supérieur à ces chiffres, en particulier à 500°C et 600°C, puisque de nombreux composés sortent coélués de la colonne ce qui rend leur identification difficile, certains ne sont pas présents dans la base de données de spectres de masse de référence (NIST), et d'autres n'ont pas un signal suffisamment important par rapport au bruit de fond pour être identifiables.

L'ensemble des molécules identifiées ont été classées en cinq grandes familles chimiques : les hydrocarbures aliphatiques, les méthyl-esters d'acides gras, les alkyl-benzènes, les hétérocycles azotés et oxygénés et les HAPs avec leurs dérivés alkylés. Les nombres de composés détectés dans chacune des familles chimiques pour les trois températures d'analyse sont résumés par l'histogramme de la Figure 3-13, où la colonne « isomères » donne les espèces dont seule la formule brute a pu être déterminée, et la colonne « divers » donne les molécules n'entrant dans aucune des familles définies précédemment. Les chromatogrammes étant qualitativement reproductibles, l'histogramme n'a pas de barres d'erreur. Toutes les molécules identifiées aux trois températures sont détaillées dans les

Table 3-4 à Table 3-10. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

Pour toutes les familles chimiques, le nombre maximal de composés a été identifié à 600°C, hormis pour les hydrocarbures aliphatiques (13 à 600°C contre 15 à 500°C) et pour les alkyl-benzènes détectés en nombre égal (11) à 500°C et 600°C. La tendance générale est donc une augmentation du nombre de composés identifiés avec la température de pyrolyse. Cette augmentation est particulièrement importante pour les composés aromatiques et les hétérocycles et est très marquée lors de la transition de 400°C à 500°C, où s'initie l'évolution thermique de la matière organique. La dégradation thermique des composés organiques se traduit par la perte de leurs groupements fonctionnels (décarboxylation, désamination, déshydroxylation, etc.) puis par la déshydrogénation, la cyclisation et l'aromatisation des molécules. L'augmentation du nombre d'espèces aromatiques et cycliques se poursuit, dans une moindre mesure, lors de la transition entre 500°C et 600°C où la dégradation thermique de la matière organique s'intensifierait, ce qui se traduit par une augmentation de l'intensité des pics liés aux composés aromatiques et hétérocycliques. L'augmentation du nombre des hydrocarbures aromatiques résulte en grande partie de la multiplication des isomères. Il est possible que la température plus élevée permette une meilleure extraction de ce type de composés, mais, comme souligné plus haut, ils peuvent également être le produit de l'évolution thermique d'autres molécules.

Les méthyl-esters d'acides gras – issus de l'estérification du groupement acide carboxylique des acides gras par le TMAH – sont parmi les composés les plus intéressants extraits de l'échantillon. Les acides gras détectés ont un grand nombre de carbones (de l'acide tétradécanoïque (C14) à l'acide octacosanoïque (C28)) et donc des points d'ébullition élevés qui rendent leur détection impossible sans dérivatisation chimique. Cette détection est néanmoins primordiale compte tenu de leur importance biologique, particulièrement au niveau structural. Un maximum de 22 acides gras a été identifié à 600°C, contre 15 à 400°C et 12 à 500°C. La diminution du nombre de détections à 500°C peut s'expliquer par le fait que les coélutions dues à un plus grand nombre de composés extraits rendent l'identification des acides gras plus difficile à 500°C qu'à 400°C. Cette difficulté serait alors compensée à 600°C par une augmentation de l'intensité des pics des acides gras, les rendant plus faciles à identifier malgré les coélutions. A 600°C, on observe également une hausse du nombre des acides gras insaturés, probablement formés par déshydrogénation thermique, et la détection de deux acides dicarboxyliques : l'acide butanedioïque et l'acide docosanedioïque.

Avec les acides carboxyliques, les seuls autres groupements présents dans les molécules détectées susceptibles de subir une méthylation par le TMAH sont les hydroxyles, détectés alors sous forme d'éthers de méthyle. Ont été identifiés sous leurs formes méthylées : le 3,4-diméthoxy méthyl-ester d'acide benzoïque, le méthoxy-docosane, le méthyl-éther de benzyle, et sous leurs formes hydroxylées n'ayant pas subi de dérivatisation : l'éthyl-hexanol et des alkyl-phénols.

10mg JSC-Mars-1 + 10 μ l TMAH + naphthalene-d8

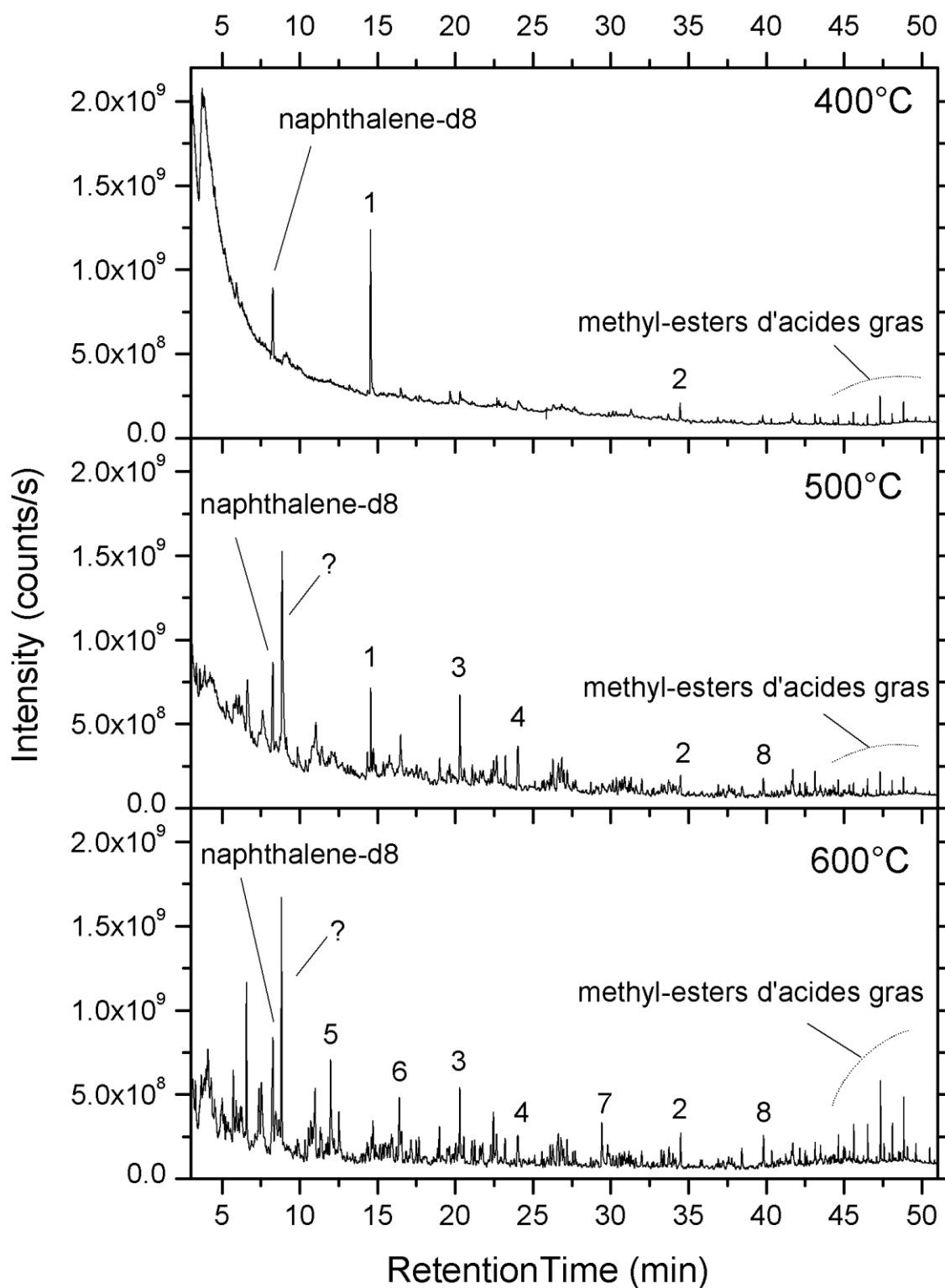


Figure 3-12 Chromatogrammes obtenus après pyrolyses à (de haut en bas) 400°C, 500°C et 600°C de 10mg de JSC-Mars-1 imprégnés de 10 μ l de solution de TMAH contenant 10⁻⁴ mol.L⁻¹ de naphthalène-d8 en tant qu'étalon interne. 1 : 1,3,5-triméthyl-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione ; 2 : méthyl-hexadécanoate ; 3 : triméthyl-indole ; 4 : tétraméthyl-indole ; 5 méthyl-naphthalène ; 6 : diméthyl-naphthalène ; 7 : phénanthrène ; 8 : fluoranthène.

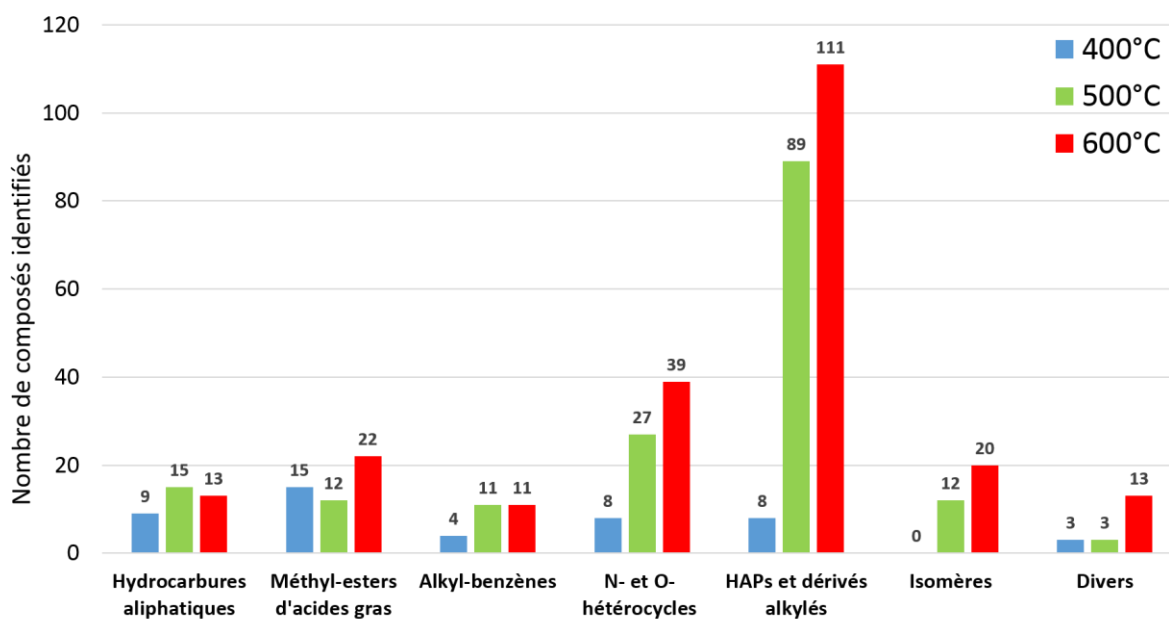


Figure 3-13 Nombre de composés identifiés dans les pyrolysats de JSC-Mars-1 selon les familles chimiques pour les trois températures de thermochimioolyse.

Hydrocarbures aliphatiques		
400°C (9)	500°C (15)	600°C (13)
Saturés	Saturés	Saturés
heptadecane	tetradecane	tetradecane
octadecane	pentadecane	pentadecane
nonadecane	hexadecane	hexadecane
eicosane	heptadecane	heptadecane
heneicosane	octadecane	octadecane
docosane	nonadecane	nonadecane
tricosane	eicosane	eicosane
pentacosane	heneicosane	docosane
heptacosane	docosane	tricosane
	tricosane	tetracosane
	tetracosane	pentacosane
	pentacosane	heptacosane
	heptacosane	Monoinsaturés
	Monoinsaturés	tridecene
	heptadecene	
	octadecene	

Table 3-4 Liste des hydrocarbures aliphatiques identifiés après la thermochimioolyse de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante.

Méthyl-esters d'acides gras		
400°C (15)	500°C (12)	600°C (22)
<p>Saturés</p> <p>methyl-pentadecanoate methyl-methyl-tetradecanoate methyl-hexadecanoate methyl-octadecanoate methyl-eicosanoate methyl-docosanoate methyl-tricosanoate methyl-tetracosanoate methyl-pentacosanoate methyl-hexacosanoate methyl-heptacosanoate methyl-octacosanoate</p> <p>Monoinsaturés</p> <p>methyl-13-docosenoate methyl-15-tetracosenoate methyl-17-hexacosenoate</p>	<p>Saturés</p> <p>methyl-pentadecanoate methyl-hexadecanoate methyl-octadecanoate methyl-docosanoate methyl-tricosanoate methyl-tetracosanoate methyl-pentacosanoate methyl-hexacosanoate methyl-heptacosanoate methyl-octacosanoate</p> <p>Monoinsaturés</p> <p>methyl-13-docosenoate methyl-15-tetracosenoate</p>	<p>Saturés</p> <p>methyl-tetradecanoate methyl-pentadecanoate methyl-methyl-tetradecanoate methyl-hexadecanoate methyl-heptadecanoate methyl-methyl-hexadecanoate methyl-octadecanoate methyl eicosanoate methyl-docosanoate methyl-tricosanoate methyl-tetracosanoate methyl-pentacosanoate methyl-hexacosanoate methyl-heptacosanoate methyl-octacosanoate</p> <p>Monoinsaturés</p> <p>methyl-hexadecenoate methyl-eicosenoate methyl-13-docosenoate methyl-15-tetracosenoate methyl-17-hexacosenoate</p> <p>Diesters</p> <p>dimethyl-butanedioate dimethyl-docosanedioate</p>

Table 3-5 Liste des méthyl-esters d'acides gras identifiés après la thermochimolyse de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante.

Alkyl-benzènes		
400°C (4)	500°C (11)	600°C (11)
<p>dodecyl-benzene tridecyl-benzene tetradecyl-benzene pentadecyl-benzene</p>	<p>pentamethyl-benzene hexamethyl-benzene octyl-benzene methyl-heptylbenzene decyl-benzene undecyl-benzene dodecyl-benzene tridecyl-benzene tetradecyl-benzene pentadecyl-benzene octadecyl-benzene</p>	<p>ethyl-methyl-benzene trimethyl-benzene x 2 ethynyl-methyl-benzene tetramethyl-benzene (1,2-dimethylpropyl)-benzene pentamethyl-benzene hexamethyl-benzene octyl-benzene nonyl-benzene dodecyl-benzene</p>

Table 3-6 Liste des alkyl-benzènes identifiés après la thermochimolyse de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

N- et O-hétérocycles et leurs dérivés		
400°C (8)	500°C (27)	600°C (39)
N-methyl-succinimide 1,3,5-trimethyl-1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione N-methyl-phthalimide 1,3,5-trimethyl-uracil trimethyl-indole 1,2,3,7-tetramethyl-indole dimethyl-carbazole trimethyl-carbazole	5-methyl-2-furaldehyde tetramethyl-pyrrole 1,3-dimethyl-uracil dimethyl-indole x 2 1,3,5-trimethyl-1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione 2,4,8-trimethyl-1,2,3,4- tetrahydroquinoline N-methyl-phthalimide trimethyl-indole x 3 tetramethyl-indole x 5 pentamethyl-indole x 4 dimethyl-carbazole x 2 trimethyl-carbazole x 3 3-ethyl-2-(2-pyridyl)-1H-indole pentamethyl-carbazole	trimethyl-pyrrole tetramethyl-pyrrole x 2 1-methyl-2,5-pyrrolidinedione methyl-quinoline 1,3,5-trimethyl-1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione methyl-indole N-methyl-phthalimide dimethyl-quinoline phenyl-pyridine x 2 dimethyl-indole x 2 dibenzofuran trimethyl-indole x 3 methyl-phenyl-pyridine tetramethyl-indole x 6 xanthene dimethyl-phenyl-pyridine pentamethyl-indole x 2 methyl-carbazole x 2 benzyl-dimethyl-pyridine azafluorene ethyl-carbazole dimethyl-carbazole benzonaphthofuran azapyrene benzonaphthofuran pentamethyl-carbazole x 2

Table 3-7 Liste des N- et O-hétérocycles identifiés après la thermochimioanalyse de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

HAPs et leurs dérivés alkylés		
400°C (8)	500°C (89)	600°C (111)
2 cycles tetramethyl-naphthalene 3 cycles methyl-fluorene ethyl-methyl-anthracene 4 cycles dimethyl-pyrene tetramethyl-phenanthrene	2 cycles trimethyl-indene x4 ethyl-naphthalene x 4 trimethyl-dihydronaphthalene x 7 dimethyl-naphthalene x 4 trimethyl-naphthalene x 4 tetramethyl-naphthalene x 5 tetramethyl-dihydronaphthalene isopropyl-dimethyl-naphthalene x 5 trimethyl-naphthalene x 3 3 cycles phenalene fluorene methyl-fluorene x 2 dimethyl-fluorene x 3	2 cycles dihydro-indene methyl-indene dihydronaphthalene naphthalene methyl-naphthalene x 3 dihydro-dimethyl-naphthalene trimethyl-indene x 6 biphenyl ethyl-naphthalene x 3 dimethyl-naphthalene x 5 trimethyl-dihydronaphthalene x 3 isopropenyl-naphthalene trimethyl-naphthalene x 9 tetramethyl-naphthalene x 5

	phenanthrene ethyl-fluorene methyl-dihydrophenanthrene x 2 methyl-anthracene x 6 tetramethyl-acenaphthylene x 2 dimethyl-phenanthrene x 7 trimethyl-phenanthrene x 5 ethyl-methyl-anthracene tetramethyl-anthracene 4 cycles pyrene fluoranthene methyl-fluoranthene benzofluorene x 2 benzoanthracene methyl-pyrene x 3 dimethyl-pyrene x 3 dihydro-benzoanthracene tetracene chrysene methyl-chrysene 5 cycles benzofluoranthene x 2 benzopyrene	isopropyl-dimethyl-naphthalene x 4 3 cycles phenalene fluorene methyl-fluorene x 4 dimethyl-fluorene x 5 anthracene phenanthrene 9-methylene-fluorene methyl-anthracene x 5 methyl-phenanthrene x 2 tetramethyl-acenaphthylene phenyl-naphthalene dimethyl-phenanthrene x 5 dimethyl-anthracene trimethyl-phenanthrene x 4 ethyl-methyl-anthracene tetramethyl-anthracene x 2 terphenyl tetramethyl-phenanthrene dihydro-benzoanthracene terphenyl x 2 benzoanthracene 4 cycles benzofluorene x 4 pyrene fluoranthene benzoanthracene methyl-pyrene x 5 dimethyl-pyrene x 3 tetracene methyl-chrysene x 2 5 cycles benzofluoranthene x 3 benzopyrene 6 cycles benzoperylene
--	---	---

Table 3-8 Liste des HAPs et leurs dérivés alkylés identifiés après la thermochimie de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

Divers		
400°C (3)	500°C (3)	600°C (13)
trimethylamine 3,4-dimethoxy- benzoic acid methyl-ester docosanol methyl ether	trimethylamine Benzyl methyl-ether docosanol methyl-ether	benzyl-methyl-ether benzonitrile ethyl-hexanol trimethyl-2-cyclopenten-1-one dimethyl-phenol trimethyl-phenol methylbenzyl cyanide

		tetramethyl-phenol x 2 naphthonitrile x 2 3,4-dimethoxy- benzoic acid methyl ester fluorenone
--	--	---

Table 3-9 Liste des composés identifiés après la thermochimie de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C n'entrant dans aucune famille chimique précédemment définie. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

Isomères	
500°C (12)	600°C (20)
C ₁₀ H ₁₆	C ₁₀ H ₁₆
C ₁₀ H ₁₀	C ₁₀ H ₁₀
C ₉ H ₁₃ NO	C ₉ H ₁₃ NO x 2
C ₁₁ H ₁₂ x 2	C ₁₁ H ₁₂ x 4
C ₁₁ H ₁₀ x 2	C ₁₁ H ₁₀ x 3
C ₁₂ H ₁₄	C ₁₂ H ₉ N
C ₁₀ H ₁₀ O	C ₁₃ H ₁₀ O x 2
C ₁₀ H ₁₅ N	C ₁₅ H ₁₆
C ₁₂ H ₁₄	C ₁₇ H ₁₄
C ₁₀ H ₁₁ N	C ₁₅ H ₉ N
	C ₁₈ H ₁₄ x 3

Table 3-10 Formules brutes des composés identifiés après la thermochimie de JSC-Mars-1 à 400°C, 500°C et 600°C dont l'isomérisation exacte n'a pas pu être déterminée. Les chiffres notés entre parenthèses à côté de la température donnent le nombre total de composés détectés à cette température pour la famille chimique correspondante. Les chiffres notés à côté du nom des molécules précisent le nombre d'isomères détectés s'il est supérieur à 1.

b) Etude semi-quantitative

L'étude semi-quantitative a été réalisée sur les méthyl-esters d'acides gras. Ces composés ont été choisis pour leur intérêt biologique, mais surtout parce qu'ils ne sont pas (ou peu) coélus avec d'autres composés et présentent un pic chromatographique d'une intensité suffisamment élevée pour que l'aire puisse être mesurée à toutes les températures de pyrolyse. Les esters manquants par rapport à ceux présents dans la Table 3-5 sont ceux dont les pics sont trop coélus avec d'autres espèces pour être relevés avec suffisamment de précision. L'étude semi-quantitative sur les alcools a semblé peu pertinente car, sauf pour le docosanol, l'intensité des aires de pics à 400°C est trop faible pour être relevée.

Pour chacune des trois températures d'analyse et pour chaque méthyl-ester d'acide gras, l'aire du pic chromatographique des cinq répliques a été relevée et divisée par l'aire du pic de l'étalon interne (naphthalène-d8) de l'injection correspondante. Pour les analyses à 400°C et 500°C, l'aire de l'étalon interne a été préalablement corrigée comme expliqué dans la partie 3.2.3.1, à savoir augmentée de 42% à 400°C et de 11% à 500°C. Les cinq valeurs ont ensuite été moyennées. Les résultats obtenus sont présentés sur l'histogramme de la Figure 3-14 pour les 11 esters sélectionnés et pour le méthoxydocosane. Les barres d'erreur ont été calculées par la méthode RSMD (Root-Mean-Square Deviation), soit l'écart type sur les cinq rapports des pics de l'ester sur le pic de l'étalon interne.

La tendance globale est une augmentation de la quantité de molécules détectées avec l'augmentation de la température de pyrolyse. Entre 400°C et 500°C, cette tendance est légère, avec des écarts qui sont inclus dans les barres d'erreur, et même des rapports inversés avec une plus grande quantité détectée à 400°C qu'à 500°C pour le méthyl-hexadécanoate et le méthyl-octacosanoate. La différence est particulièrement significative entre 500°C et 600°C. Comme indiqué dans la Table 3-11, les rapports de quantités détectées à 600°C sur celles détectées à 500°C s'évaluent entre 1,68 (méthyl-hexadécanoate) et 7,00 (méthyl-15-tétracosanoate), avec des quantités en moyenne 3,5 fois plus élevées à 600°C.

600°C est donc de loin la température de thermochimie qui permet d'extraire et de détecter les plus grandes quantités de molécules. D'un point de vue à la fois qualitatif et quantitatif, le meilleur choix est donc de réaliser les analyses avec une température de thermochimie de 600°C, et cela d'autant plus qu'au-delà de 600°C, le TMAH sera dégradé et les recombinaisons de ses produits de dégradation vont interférer avec les espèces libérées par l'échantillon.

	Rapports des quantités détectées à 600°C/500°C
methyl-hexadecanoate	1.68
methyl-octadecanoate	2.92
methyl-docosanoate	2.66
methyl-tricosanoate	2.36
methyl-tetracosanoate	3.82
methyl-13-docosenoate	4.60
methyl-pentacosanoate	2.98
methyl-hexacosanoate	3.84
methyl-15-tetracosenoate	7.00
methyl-heptacosanoate	2.94
methyl-octacosanoate	4.74
docosanol methyl ether	1.93

Table 3-11 Rapports des quantités détectées à 600°C sur les quantités détectées à 500°C.

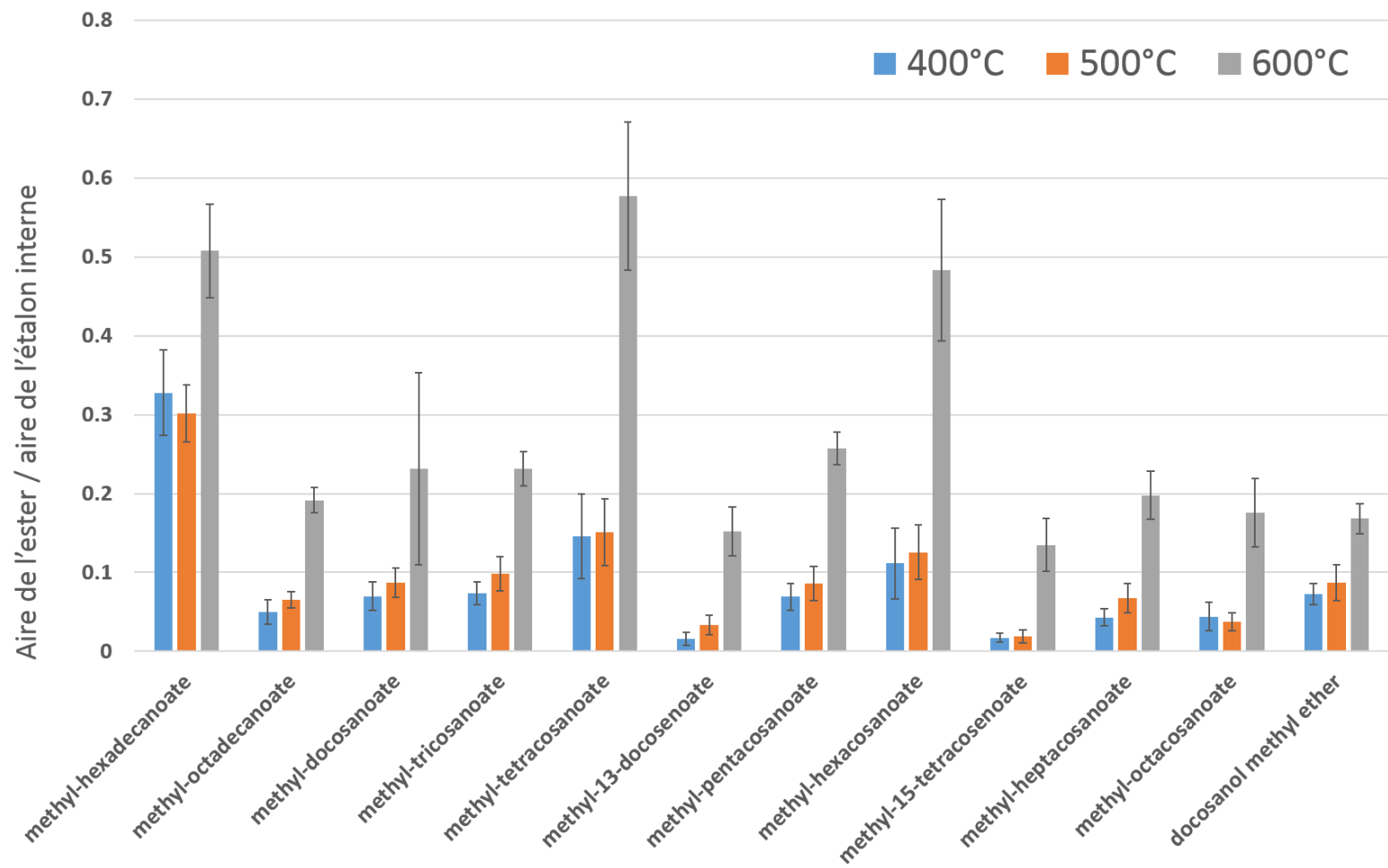


Figure 3-14 Rapports des aires des méthyl-esters d'acides gras sur les aires de l'étalon interne (naphtalène-d8) moyennés sur cinq répliques.

c) Comparaison avec les résultats obtenus par extraction solide-liquide et dérivatisation au MTBSTFA

Les résultats obtenus par les deux techniques d'extraction solide/liquide puis dérivatisation au MTBSTFA (XSL-MTBSTFA) et de thermochimioolyse au TMAH ne peuvent être comparés que d'un point de vue qualitatif. La comparaison quantitative n'est pas possible. D'une part, parce que le méthyl-laurate a été utilisé comme étalon interne pour l'analyse par extraction, avant qu'il ne soit détecté dans le contenu organique de JSC-Mars-1 et remplacé par le naphthalène-d8 pour l'analyse par thermochimioolyse. D'autre part, l'extraction de la matière organique a été faite à partir de 500mg de JSC-Mars-1, tandis que les expériences de thermochimioolyse ont été faites avec 10mg seulement. Or, comme des quantités plus importantes de molécules ont pu être extraites avec 500mg, la limite de détection de certaines espèces a pu être dépassée et on détecte ainsi certains composés alors que leurs quantités sont en dessous de la limite de détection avec 10mg d'échantillon.

Dans l'absolu, la thermochimioolyse est plus efficace pour l'extraction de la matière organique de l'échantillon, avec au total 229 molécules différentes détectées à 600°C grâce au TMAH contre 48 molécules détectées par extraction solide/liquide et dérivatisation au MTBSTFA. Ces chiffres doivent cependant être considérés avec précaution, car parmi les espèces détectées par thermochimioolyse, beaucoup sont liés à la dégradation de la matière organique, dégradation qui n'a pas lieu dans le cas l'analyse avec dérivatisation au MTBSTFA.

La part de chaque famille chimique dans les composés identifiés par les deux techniques est donnée en Figure 3-15. On observe d'abord que la nature de la matière organique extraite est sensiblement différente. Alors que la composante organique majeure détectée par XSL-MTBSTFA est représentée par les acides carboxyliques qui constituent 60% des molécules détectées (29 acides carboxyliques différents), ils ne représentent que 9% de la fraction extraite par thermochimioolyse (22 acides carboxyliques différents). L'extraction solide/liquide suivie de la dérivatisation au MTBSTFA a permis de plus la détection de 9 acides aminés (15% de la fraction organique extraite), tandis qu'aucun n'a pu être identifié par thermochimioolyse.

La thermochimioolyse a permis quant à elle de détecter un plus grand nombre d'alcools (7 contre 3) et d'hydrocarbures aliphatiques (13 contre 2) et surtout d'extraire un grand nombre de composés aromatiques dont aucun n'avait été identifié par XSL-MTBSTFA : les HAPs qui constituent la fraction majoritaire (48% avec 111 molécules identifiées), les hétérocycles azotés et oxygénés (17% avec 39 molécules identifiées) et les alkyl-benzènes (5% avec 11 molécules identifiées). On rappelle néanmoins que la thermochimioolyse à haute température peut entraîner la dégradation thermique de molécules fragiles et conduire à la formation de cycles aromatiques qui ne sont alors que de purs produits de pyrolyse.

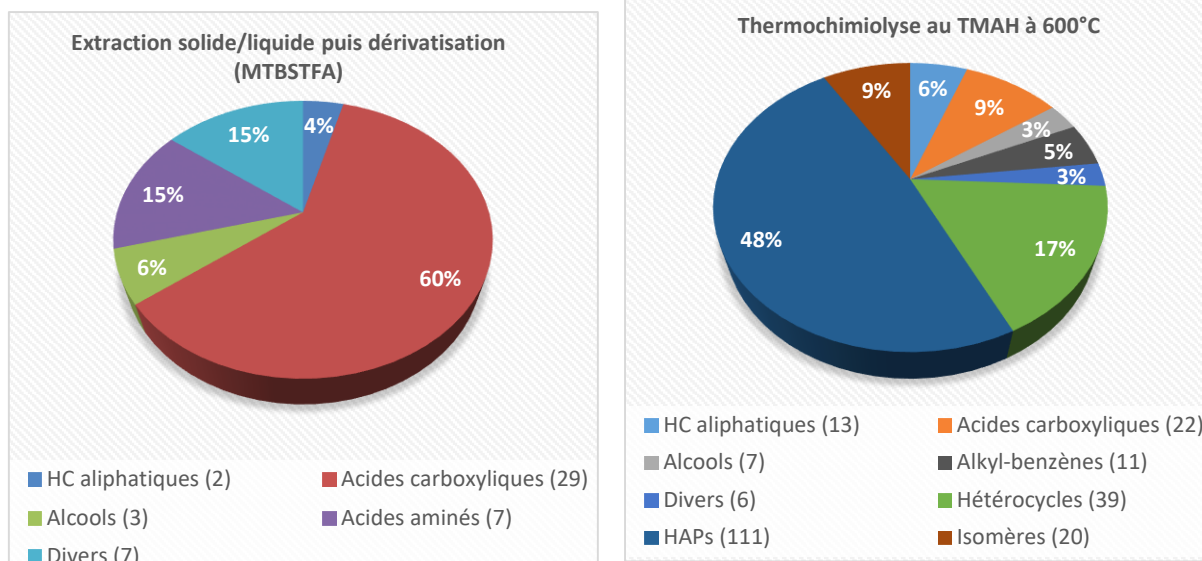


Figure 3-15 Part de chaque famille chimique dans les composés identifiés dans JSC-Mars-1 par extraction solide/liquide puis dérivatisation (MTBSTFA) (à gauche) et par thermochimololyse au TMAH à 600°C (à droite).

3.3. Conclusions du chapitre et perspectives

Dans ce chapitre, le contenu organique de l'analogue de régolithe martien JSC-Mars-1 a d'abord été caractérisé par une technique classique de laboratoire : l'extraction solide-liquide assistée par ultrasons et dérivatisation chimique au MTBSTFA (XSL-MTBSTFA) puis analyse CPG-SM. Nous avons ensuite montré que, parmi les techniques spatialisables, une analyse par seule Pyr-CPG-SM permettait d'extraire la matière organique uniquement à des températures où les molécules subissent une importante évolution thermique, empêchant leur identification. Le recours à des traitements de chimie humide est donc indispensable pour d'une part protéger les molécules polaires de la dégradation thermique et d'autre part les volatiliser quand elles sont réfractaires.

Le traitement de chimie humide étudié ici est la thermochimololyse en présence de TMAH, dont le principal paramètre à optimiser est la température. Le TMAH étant un produit qui se dégrade lui-même lorsqu'il est chauffé, nous avons d'abord identifié les principaux produits de dégradation thermique du TMAH à différentes températures pour les distinguer des composés issus de l'échantillon analysé. Les résultats montrent que pour éviter une dégradation trop importante du TMAH, la thermochimololyse doit être faite à une température maximale de 600°C. Nous avons également montré que la matrice minéralogique de l'échantillon ne catalysait pas la décomposition thermique du TMAH dans la gamme de températures étudiée (400°C – 600°C). JSC-Mars-1 n'est cependant pas parfaitement représentatif du sol martien qui possède une minéralogie variée. La stabilité thermique et chimique du TMAH devra donc être étudiée au contact d'autres matrices minéralogiques, et tout particulièrement en présence de perchlorates.

Le temps de contact entre l'échantillon et le TMAH à 300°C n'a pas d'influence sur l'efficacité de l'extraction pour les durées étudiées (5 à 20 min). Il serait toutefois nécessaire de compléter ces

résultats avec des temps de contact inférieurs à 5 minutes. A température ambiante, l'extraction maximale est atteinte après 5 minutes de contact. Ces analyses ont aussi montré qu'on détectait plus de matière par flash-pyrolyse à 400°C après un contact à 300°C qu'après un contact à température ambiante, quelle que soit la durée de contact. Cette étude devrait cependant être complétée par plusieurs répliques, avec de préférence des injections à 600°C au lieu de 400°C. Les analyses effectuées en vue de déterminer la température optimale de thermochimioolyse ont en effet montré que le chauffage à 600°C permettait d'extraire et d'identifier le plus grand nombre d'espèces et en quantités les plus élevées. Toutefois, la famille chimique la plus représentée à 600°C est celle des composés aromatiques, connus pour se former par aromatisation de la matière organique aux températures supérieures à 500°C. Une extraction solide-liquide avec un solvant polaire pourrait permettre de détecter les aromatiques et vérifier dans quelle mesure ils sont initialement présents dans l'échantillon et quelle part est éventuellement formé au cours de la pyrolyse.

La comparaison qualitative des résultats obtenus avec les deux techniques utilisées (thermochimioolyse et XSL-MTBSTFA) montre des différences importantes dans la nature des espèces identifiées. La thermochimioolyse a permis de détecter un nombre de molécules très supérieur à l'analyse par XSL-MTBSTFA. Le MTBSTFA reste cependant plus adapté pour la détection d'acides aminés et d'acides carboxyliques. Les deux techniques sont donc complémentaires.

Enfin, l'augmentation de la quantité de naphthalène-d8 détectée lorsque la température d'injection augmente reste à expliquer. L'hypothèse d'une géométrie de four ne permettant pas un chauffage uniforme peut être vérifiée en effectuant les injections dans un pyrolyseur avec une géométrie différente. Il serait également important de vérifier si d'autres composés, en particuliers d'autres HAPs, subissent le même biais.

Bibliographie

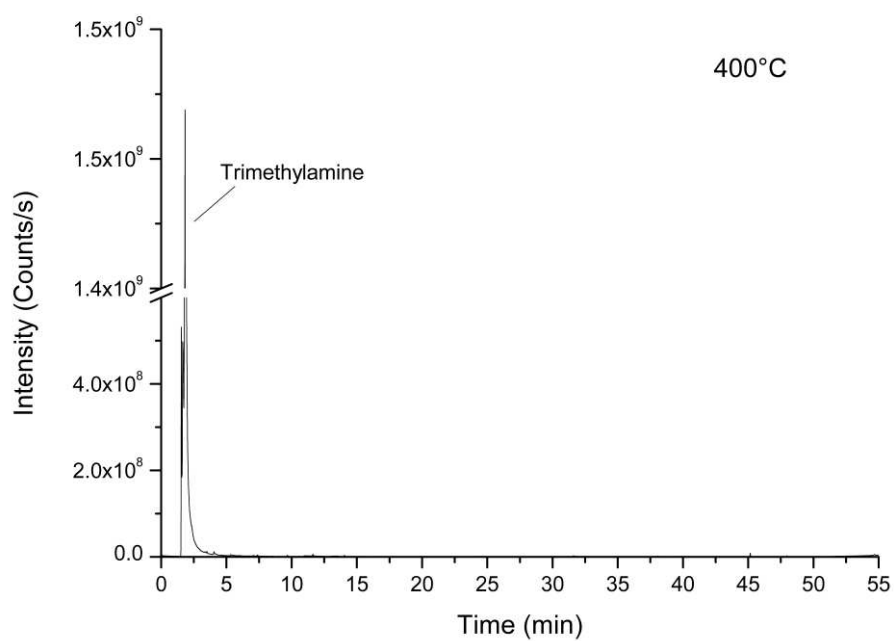
- Allen, C.C., Morris, R. V., Karen, M.J., Golden, D.C., Lindstrom, M.M., Lockwood, J.P., 1998. Martian Regolith Simulant Jsc Mars-1. Lunar Planet. Sci. Conf. XXIX 1690.
- Bell, J.F., Crisp, D., 1993. Groundbased Imaging Spectroscopy of Mars in the Near-Infrared: Preliminary Results. *Icarus* 104, 2–19. doi:10.1006/icar.1993.1078
- Bergman, R.G., 1973. Reactive 1,4-dehydroaromatics. *Acc. Chem. Res.* 6, 25–31. doi:10.1021/ar50061a004
- Clark, B.C., Baird, A.K., Weldon, R.J., Tsusaki, D.M., Schnabel, L., Candelaria, M.P., 1982. Chemical composition of Martian fines. *J. Geophys. Res.* 87, 10059. doi:10.1029/JB087iB12p10059
- Goesmann, F., Brinckerhoff, W.B., Raulin, F., Goetz, W., Danell, R., Getty, S., Siljeström, S., Steininger, H., Jr., R.A., Buch, A., Freissinet, C., Grubisi, A., Meierhenrich, U., Mißbach, H., Pinnick, V., Stalport, F., Szopa, C., Brucato, J.R., Glavin, D.P., Grand, N., Li, X., F. H. W. van Amerom, and the M.S.T., 2017. The Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA) Instrument: Characterization of Organic Material in Martian Sediments. *Astrobiology* In Press.
- Ikeda, Y., Huang, W., Oku, A., 2003. Recycling of monomers and fillers from high-temperature-vulcanized silicone rubber using tetramethylammonium hydroxide. *Green Chem.* 5, 508. doi:10.1039/b304483c
- John, J.A., Tour, J.M., 1994. Synthesis of Polyphenylenes and Polynaphthalenes by Thermolysis of Ene-dienes and Dialkynylbenzenes. *J. Am. Chem. Soc.* 116, 5011–5012. doi:10.1021/ja00090a066
- Lawson, A.T., Collie, N., 1888. XLVII.—The action of heat on the salts of tetramethylammonium. *J. Chem. Soc., Trans.* 53, 624–636. doi:10.1039/CT8885300624
- Lockhart, T.P., Comita, P.B., Bergman, R.G., 1981. Kinetic evidence for the formation of discrete 1,4-dehydrobenzene intermediates. Trapping by inter- and intramolecular hydrogen atom transfer and observation of high-temperature CIDNP. *J. Am. Chem. Soc.* 103, 4082–4090. doi:10.1021/ja00404a018
- Mahaffy, P.R., Webster, C.R., Cabane, M., Conrad, P.G., Coll, P., Atreya, S.K., Arvey, R., Barciniak, M., Benna, M., Bleacher, L., Brinckerhoff, W.B., Eigenbrode, J.L., Carignan, D., Cascia, M., Chalmers, R. a., Dworkin, J.P., Errigo, T., Everson, P., Franz, H., Farley, R., Feng, S., Frazier, G., Freissinet, C., Glavin, D.P., Harpold, D.N., Hawk, D., Holmes, V., Johnson, C.S., Jones, A., Jordan, P., Kellogg, J., Lewis, J., Lyness, E., Malespin, C. a., Martin, D.K., Maurer, J., McAdam, A.C., McLennan, D., Nolan, T.J., Noriega, M., Pavlov, A. a., Prats, B., Raaen, E., Sheinman, O., Sheppard, D., Smith, J., Stern, J.C., Tan, F., Trainer, M., Ming, D.W., Morris, R. V., Jones, J., Gundersen, C., Steele, A., Wray, J., Botta, O., Leshin, L. a., Owen, T., Battel, S., Jakosky, B.M., Manning, H., Squyres, S., Navarro-González, R., McKay, C.P., Raulin, F., Sternberg, R., Buch, A., Sorensen, P., Kline-Schoder, R., Coscia, D., Szopa, C., Teinturier, S., Baffes, C., Feldman, J., Flesch, G., Forouhar, S., Garcia, R., Keymeulen, D., Woodward, S., Block, B.P., Arnett, K., Miller, R., Edmonson, C., Gorevan, S., Mumm, E., 2012. The Sample Analysis at Mars Investigation and Instrument Suite. *Space Sci. Rev.* 170, 401–478. doi:10.1007/s11214-012-9879-z
- Millan, M., 2016. Etude de la composition de la surface de Mars : recherche de molécules organiques par analyse physico-chimique in situ avec l'instrument SAM de la mission Mars Science Laboratory. LATMOS. Universté Paris Saclay.
- Morris, R. V., Golden, D.C., Bell, J.F., Lauer, H. V., Adams, J.B., 1993. Pigmenting agents in martian soils: Inferences from spectral, Mössbauer, and magnetic properties of nanophase and other iron oxides in Hawaiian palagonitic soil PN-9. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 4597–4609.

doi:10.1016/0016-7037(93)90185-Y

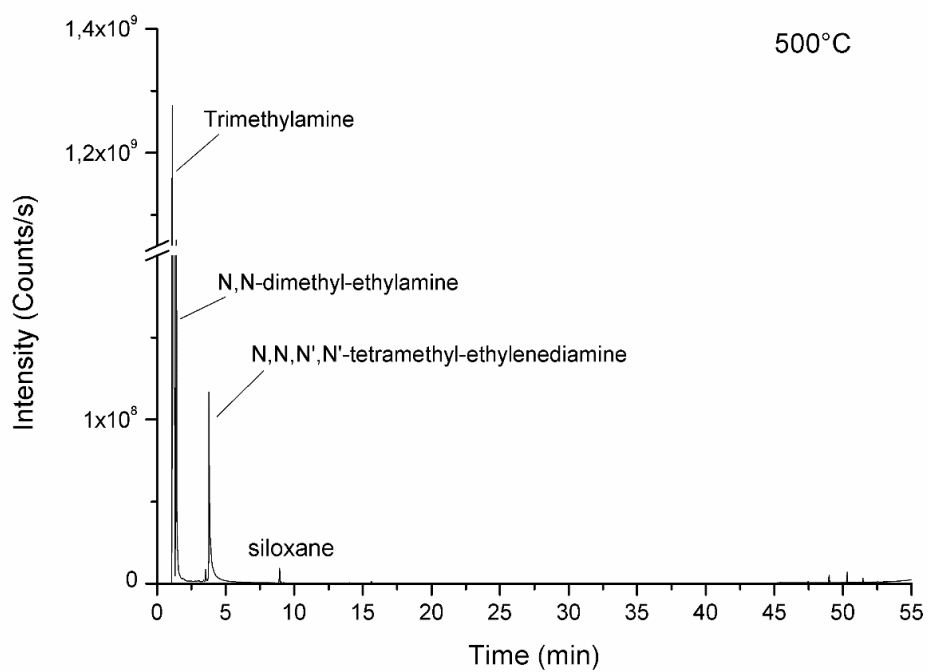
Morris, R. V., Golden, D.C., Bell JF 3rd, 1997. Low-temperature reflectivity spectra of red hematite and the color of Mars. *J. Geophys. Res.* 102, 9125–9133.

Singer, R.B., 1982. Spectral evidence for the mineralogy of high albedo soils and dust on Mars. *J. Geophys. Res.* 87, 159–168.

Annexes



Annexe 3-1 Chromatogramme du "blanc" obtenu par pyrolyse de TMAH seul à 400°C.



Annexe 3-2 Chromatogramme du "blanc" obtenu par pyrolyse de TMAH seul à 500°C.

Chapitre 4

Application de la thermochimie à la détection des bases azotées

Après avoir optimisé les différents paramètres de la thermochimie nous nous sommes intéressés à la détection des bases azotées via la thermochimie au TMAH. En effet, si ces molécules sont présentes dans des échantillons martiens, il est important de savoir si oui ou non elles pourront être détectées par nos instruments. Or les techniques d'analyse à bord de Curiosity et de Pasteur ne sont pas optimisées pour ces cibles. C'est pourquoi nous souhaitons étudier plus particulièrement la détection de ces composés grâce à la thermochimie. Nous avons donc étudié la thermochimie des nucléobases et avons établi une bibliothèque exhaustive regroupant l'ensemble des nucléobases. Comme aucune base azotée n'a été détectée dans le sol JSC-Mars-1, nous avons utilisé des standards analytiques que nous avons analysés individuellement par thermochimie et CPG-SM.

4.1. Justification du choix des molécules-cibles

Afin de mieux comprendre l'intérêt et l'origine des bases azotées, il convient de se pencher sur l'information génétique du vivant (virus compris). Cette information est contenue dans tous les organismes vivants terrestres, qu'elle soit basée sur l'ADN ou l'ARN, aussi bien dans le génome nucléaire, mitochondrial, chloroplastique ou plasmidique, est encodée par une suite de nucléotides. Chaque nucléotide est constitué d'un pentose (ribose dans le cas de l'ARN, désoxyribose dans le cas de l'ADN), d'un groupement phosphate et d'une base azotée. Au sein de l'ADN, deux bases azotées, l'adénine (A) et la guanine (G), sont formées sur la base d'un noyau purine, à savoir la fusion d'un cycle pyrimidine avec un cycle imidazole, et deux bases azotées, la thymine (T) et la cytosine (C), sont formées à partir du seul cycle pyrimidine. L'ARN se différencie de l'ADN, outre le ribose au lieu du désoxyribose, par le remplacement de chaque molécule de thymine par un uracile (U). Une fois la transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) effectuée, l'ARNm peut être traduit en protéines. Le long de la molécule d'ARNm, une série de trois nucléotides parmi A, U, G et C constitue un codon et chaque codon correspond à un acide aminé¹. La traduction des codons successifs en acides aminés permet ainsi la synthèse des protéines.

En plus des cinq nucléobases A, T, U, G et C, citées précédemment, il existe deux autres bases azotées, la xanthine (X) et l'hypoxanthine (HX) qui sont des intermédiaires à la fois dans l'anabolisme (synthèse moléculaire) et le catabolisme (dégradation) des bases puriques. Des réactions de désamination oxydative au sein des acides nucléiques (remplacement du groupement amine primaire

¹ Un codon étant constitué de 3 nucléotides formés à partir de 4 bases azotées différentes, il existe 4^3 soit 64 codons possibles pour coder les 22 acides aminés protéinogènes (en plus des codons stop et codons initiation). Le code génétique est donc dit redondant puisque plusieurs codons peuvent correspondre à un même acide aminé, l'inverse n'étant pas vrai (hors cas exceptionnels (Turanov et al., 2009)).

par un groupement carbonyle) conduisent à la formation de la xanthine par désamination de la guanine et de l'hypoxanthine par désamination de l'adénine (Snustad and Simmons, 2008). Nous avons vu dans le chapitre précédent que la désamination est aussi un processus qui se produit au cours de la dégradation thermique des molécules. On peut donc s'attendre à détecter la xanthine et l'hypoxanthine en tant que produits de décomposition thermique de la guanine et de l'adénine.

Les sept nucléobases sont représentées sur la Figure 4-1 sous leur forme canonique, à savoir sous la forme tautomérique prédominante à $\text{pH} \approx 7$ et sous laquelle elles s'apparient en paires de bases (A-T ; A-U ; G-C) pour former les structures en double brin de l'ADN et de l'ARN (Watson and Crick, 1953). Leurs formules brutes, masses molaires, pK_a et températures de fusion sont données dans la Table 4-1.

Cibler les nucléobases dans le cadre des analyses de surfaces lors de missions spatiales – et tout particulièrement de missions martiennes – présente deux intérêts majeurs :

- La détection de nucléobases dans un environnement extraterrestre connu pour avoir été propice à abriter la vie constituerait un bio-indice, car il est difficile de statuer sur l'origine biotique ou abiotique de ces molécules.
- Puisque la synthèse de molécules prébiotiques (acides aminés, sucres, purines et pyrimidines) est peu probable dans une atmosphère faiblement réductrice ou oxydante (Stribling and Miller, 1987), l'une des alternatives à la synthèse dans l'atmosphère terrestre a été proposée : l'apport exogène de matière organique par des objets extraterrestres tels que les comètes et les météorites (Anders, 1989; Chyba and Sagan, 1992). Cet apport est donc valable pour toutes les planètes du Système Solaire, y compris Mars.

Parmi les nombreux composés organiques détectés dans les météorites de type chondrites carbonées (acides aminés, acides carboxyliques, hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, amines alcools etc. voir les revues de (Botta and Bada, 2002) et (Sephton, 2002)), différentes nucléobases ont été identifiées dans les météorites (non martiennes) de Murray, Orgueil et Murchison. Dès 1964, (Hayatsu, 1964) rapporte la présence de l'adénine et de la guanine dans le météorite d'Orgueil, qu'il confirme en 1968 (Hayatsu et al., 1968). Les deux mêmes nucléobases sont ensuite détectées dans la météorite de Murchison (Hayatsu et al., 1975). La xanthine, l'hypoxanthine et la guanine sont identifiées dans Murchison en 1977 (Van der Velden and Schwartz, 1977). Les concentrations d'uracile (Stoks and Schwartz, 1979), adénine, guanine, xanthine et hypoxanthine (Stoks and Schwartz, 1981) ont été mesurées dans les météorites de Murray, Orgueil et Murchison. Ces concentrations sont données dans la Table 4-2. L'uracile et la xanthine ont été plus récemment détectées dans Murchison par (Martins et al., 2008). Puisque détectées dans des météorites martiennes, les nucléobases sont donc des cibles pour les instrument SAM et MOMA à la surface martienne.

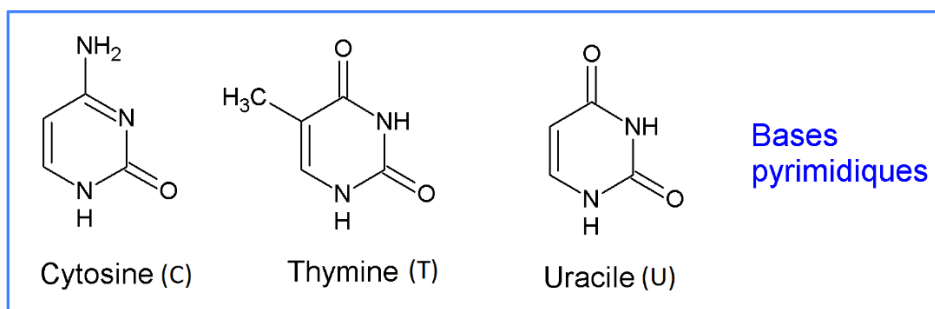
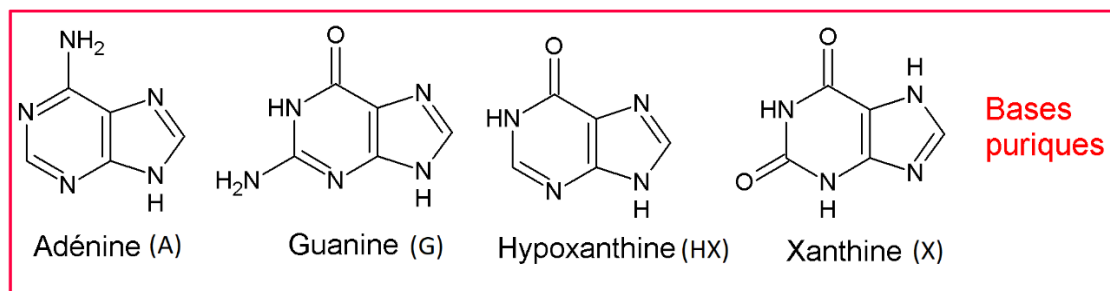


Figure 4-1 Structure chimique des sept nucléobases dans leur forme canonique.

Nucléobase	Formule brute	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	pKa	Température de fusion (°C)
Adénine	C ₅ H ₅ N ₅	135,13	4,15 ; 9,80	≥ 360
Thymine	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	126,12	9,5	≥ 316
Cytosine	C ₄ H ₅ N ₃ O	111,10	4,45 ; 12,2	≥ 300
Guanine	C ₅ H ₅ N ₅ O	151,13	3,3 ; 9,2 ; 12,3	≥ 360
Uracile	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	112,10	9,5	≥ 330
Xanthine	C ₅ H ₄ N ₄ O ₂	152,11	7,53	≥ 300
Hypoxanthine	C ₅ H ₄ N ₄ O	136,11	2,66 ; 8,72	≥ 300

Table 4-1 Formules brutes, masses molaires, pKa et températures de fusion des sept nucléobases étudiées.

	Quantités détectées en nmol.g ⁻¹				
	Adénine	Guanine	Xanthine	Hypoxanthine	Uracile
Murchison	1,98	1,55	3,48	1,58	0,27
Murray	1,75	3,41	4,31	1,79	0,70
Orgueil	0,84	0,95	0,84	1,02	0,41

Table 4-2 Quantités de nucléobases détectées dans les météorites de Murchison, Murray et Orgueil d'après (Stoks and Schwartz, 1981) pour l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine et d'après (Stoks and Schwartz, 1979) pour l'uracile.

Les bases azotées se présentent toutes sous forme solide à pression et température ambiantes. Elles possèdent toutes des températures de fusion élevées, comprises entre 320°C et 360°C

(table 4-1), au-delà desquelles elles se décomposent. La détection des bases azotées par CPG-SM après pyrolyse est donc particulièrement difficile puisque leur sublimation nécessite des températures élevées qui entraînent d'importants taux de décomposition thermique. (Basiuk and Doua, 1999) ont mené des expériences de pyrolyse sur quatre nucléobases, l'adénine, la guanine, la cytosine et l'uracile, pour mesurer le taux de récupération de chaque molécule après sa sublimation à des températures comprises entre 400°C et 1000°C. Après la pyrolyse de 0,5g de chaque molécule, le four était refroidi et le condensat formé par les produits de sublimation récupéré pour une quantification par HPLC. D'après les résultats de (Basiuk and Doua, 1999), l'adénine est la molécule la plus stable thermiquement, avec un taux de récupération maximal de 25% à 500-600°C. Des valeurs similaires sont observées pour l'uracile, avec cependant une décomposition plus rapide au-delà de 600°C. Le taux de récupération maximal de la cytosine est également obtenu à 500-600°C, mais il ne dépasse pas 0,6%. Aucune sublimation de la guanine n'a été observée quelle que soit la température de pyrolyse (400°C-1000°C). (Basiuk and Doua, 1999) concluent que l'intervalle de 500-600°C représente le meilleur compromis entre le taux de décomposition thermique et le taux de volatilisation.

Des expériences similaires de sublimation à 500°C et de récupération des produits sur un piège froid ont été menées par (Glavin et al., 2006) avec des échantillons de serpentine inoculés avec des souches d'*Escherichia coli* (*E. coli*). L'extrémité du piège froid était ensuite rincée à l'eau distillée pour récupérer le dépôt. Après séchage, le résidu a été dérivatisé au MTBSTFA puis analysé par CPG-SM. (Glavin et al., 2006) ont ainsi détecté, parmi d'autres molécules, de l'adénine, de la thymine, de l'uracile, de la cytosine et de la xanthine (interprétée comme produit de dégradation de la guanine) dans les extrait d'*E. coli*. Ils montrent ainsi que la sublimation, couplée à la dérivatisation chimique et à l'analyse CPG-SM peut permettre de détecter des nucléobases dans des analogues de sol martien. Cette méthode nécessite plusieurs étapes et est techniquement trop complexe pour être entièrement automatisée pour l'analyse *in situ*. Ce chapitre sera donc consacré à déterminer s'il est possible de détecter toutes ou certaines bases azotées avec les moyens disponibles *in situ*, à savoir par Pyr-CPG-SM après contact avec le TMAH. Les analyses permettront en premier lieu de choisir les concentrations à injecter telles qu'un maximum de dérivés méthylés de chaque molécule soient identifiables sans ambiguïté tout en évitant la saturation de la colonne chromatographique. La température optimale de pyrolyse sera ensuite déterminée avec ces concentrations et une comparaison sera effectuée avec les résultats obtenus dans le chapitre précédent sur l'optimisation de la thermochimie.

4.2. Tautomérie à l'origine de la pluralité des sites de méthylation

Du fait de leur structure chimique (présence de liaisons π et doublet non liant), les nucléobases ont la particularité d'exister sous différentes formes tautomériques. Dans le cas des nucléobases, la tautomérie se manifeste par la délocalisation d'électrons π et le déplacement d'un atome d'hydrogène transformant ainsi un groupement fonctionnel en un autre au sein d'une même molécule. Deux cas de tautomérie prototropique interviennent dans les nucléobases :

- (i) La tautomérie céto-énolique où la forme cétone est en équilibre avec la forme énol (C=C avec une fonction OH en position vinylique). Ce cas est illustré par la Figure 4-2 qui donne à titre d'exemple quatre formes tautomériques de la thymine (pour toutes les formes tautomériques de la thymine et de l'uracile voir (Rejnek et al., 2005)). La tautomérie céto-

énolique intervient dans toutes les bases citées précédemment hormis l'adénine qui ne possède pas d'atome d'oxygène.

- (ii) La tautomérie imine-énamine où la forme énamine (amine alpha éthylénique) est en équilibre avec la forme cétime. Ce cas est illustré par la Figure 4-3 qui représente quatre différentes formes tautomériques de l'adénine (pour toutes les formes tautomériques de l'adénine voir (Fonseca Guerra et al., 2006; Hanus et al., 2004)). La tautomérie imine-énamine intervient dans toutes les bases nucléiques précédemment citées.

Des études sur les formes tautomériques de la cytosine peuvent être consultées dans (Bazsó et al., 2011; Rueda et al., 2001) et sur celles de la guanine dans (Gould et al., 1993; Kushwaha et al., 2004). Dans tous les cas, les différentes formes tautomériques d'une même molécule coexistent en un équilibre qui peut être déplacé vers l'une ou l'autre selon les conditions de pH, de température ou en fonction du solvant (la valeur du pH étant dépendante du solvant). Par conséquent, la position des sites de méthylation varie lorsque les protons labiles se déplacent au sein de la molécule. La substitution d'un proton par un groupement méthyle stabilise la forme acquise. Le nombre de structures potentiellement détectables au cours des analyses dépasse donc les différentes possibilités de méthylation des seules nucléobases canoniques.

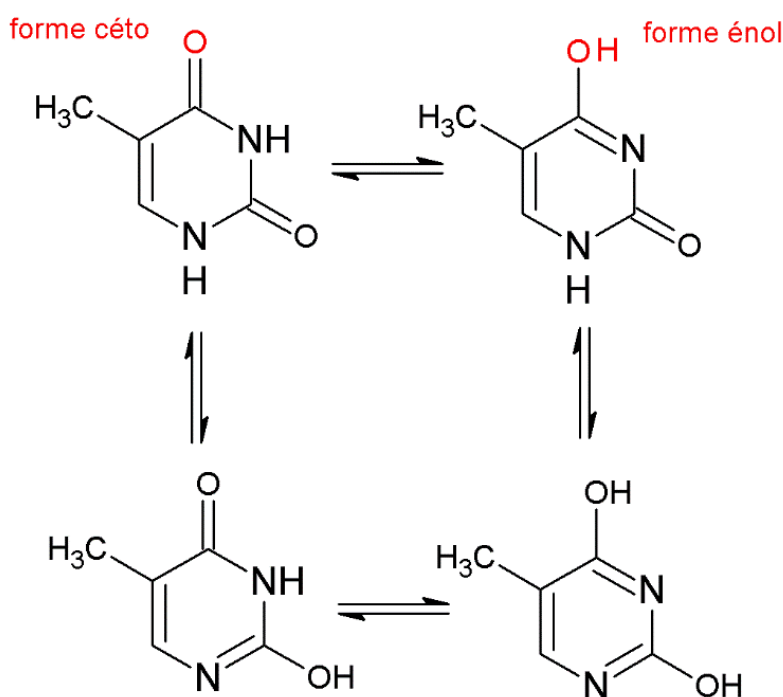


Figure 4-2 Formes tautomériques de la thymine.

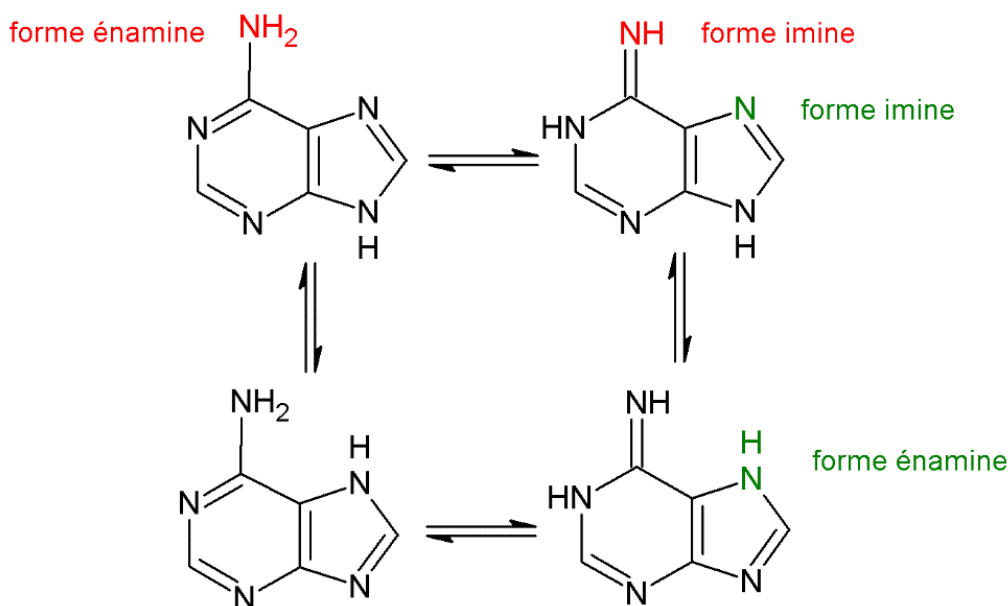


Figure 4-3 Formes tautomériques de l'adénine.

4.3. Matériel et méthodes

Les pyrolyses sont réalisées avec un pyrolyseur à micro-four EGA/PY-3030D, Frontier Lab, installé sur l'injecteur Split/SplitLess (SSL) du CPG (Trace GC Ultra, Thermo Scientific) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (ISQ LT, Thermo Scientific). Un injecteur Optic 4 (GL Sciences) a été utilisé pour les analyses à basse température (injections à 250°C et à 300°C), ce dernier a alors été connecté à un CPG (Trace GC Ultra, Thermo Scientific) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (DSQ II, Thermo Scientific). Le CPG est équipé d'une colonne Zebron ZB-5HT Inferno 30m x 0,25mm x 0,25µm avec 5m de colonne de garde intégrée. La programmation en température de la colonne débute à 50°C pendant 5 min, puis 6°C.min⁻¹ jusqu'à 240°C puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C maintenus 2min. Le débit d'hélium est de 1,5mL.min⁻¹. Le débit de split est de 50 mL.min⁻¹. La température de l'injecteur SSL est 280°C. Les masses sont scannées entre m/z 40 et m/z 500. L'énergie d'ionisation est de 70 eV.

Des solutions individuelles d'adénine, thymine, uracile, cytosine, guanine, xanthine et hypoxanthine sont préparées par dilution de la base azotée solide pure dans du TMAH (25% en masse dans du méthanol, Sigma-Aldrich). Les échantillons étant des standards analytiques et non des échantillons naturels, le méthanol contenu dans la solution de TMAH sert ici de solvant. Les fournisseurs, la pureté des produits, les concentrations des solutions, les volumes injectés, les quantités de matière correspondantes et les ratios TMAH/nucléobase (en nombre de moles) sont donnés dans la Table 4-3. Le TMAH est toujours en excès par rapport à la nucléobase, avec un minimum de 6 molécules de TMAH pour trois sites de méthylation dans le cas de la cytosine.

Base azotée	Fournisseur	Pureté	Concentration (mol.L ⁻¹) dans TMAH	Volume injecté (μl)	Quantité de matière injectée (nmol)	Ratio TMAH/nucléobase
Adénine	Sigma	> 99%	2,5.10 ⁻⁰³	0,05	0,125	952
			2,5.10 ⁻⁰³	0,10	0,25	952
			0,25	0,01	2,5	9,5
Thymine	Fluka	> 97%	2,6.10 ⁻⁰³	0,10	0,26	915
Uracile	Alfa Aesar	> 99%	2,6.10 ⁻⁰³	0,10	0,26	915
Cytosine	Fluka	~ 97%	3.10 ⁻⁰³	0,10	0,3	793
			0,3	0,05	18	6,6
Guanine	Fluka	> 99%	2,2.10 ⁻⁰³	0,10	0,22	1081
			0,22	0,05	11	10
Xanthine	Alfa Aesar	> 99%	2,2.10 ⁻⁰³	0,10	0,22	1081
Hypoxanthine	Sigma	> 99%	2,4.10 ⁻⁰³	0,10	0,24	991
			1,2.10 ⁻⁰²	0,10	1,2	198

Table 4-3 Fournisseurs, puretés, concentrations, volumes d'injections, quantités de matière injectées et ratios TMAH/nucléobase (en nombre de moles) pour les sept bases azotées étudiées.

4.4. Résultats

Les paragraphes suivants présentent les résultats obtenus pour chacune des sept nucléobases après thermochimiolysse en présence de TMAH à 400°C, 500°C et 600°C. Le but est de déterminer quelle température est la plus pertinente pour l'analyse par thermochimiolysse couplée à de la CPG-SM, et de déterminer si cette technique permettra de les détecter.

4.4.1. Adénine

La Figure 4-4 montre les chromatogrammes obtenus après injection à 600°C de différentes quantités d'adénine. Pour 0,125 nmol injecté (chromatogramme du haut), trois différents dérivés méthylés de l'adénine sont détectés, avec des pics de faible intensité : une forme diméthylée (pic n°2 : N,9-diméthyl-adénine) et deux formes tautomériques triméthylées (pic n°3 : N,N,9-triméthyl-adénine – soit la forme canonique triméthylée – et pic n°4 : N,N,3-triméthyl-adénine). Aucun pic supplémentaire n'est observé pour une injection de 0,25 nmol (chromatogramme du milieu). Après injection de 2,5 nmol, six pics liés à l'adénine sont observés en plus des trois précédemment cités (cf. Figure 4-4, chromatogramme du bas). Le premier correspond à de l'adénine une fois méthylée (pic n°1 : 3-méthyl-adénine). Les cinq autres pics correspondent à des molécules qui n'ont pas pu être identifiées (certains par ce qu'ils ne sont pas répertoriés dans la base de données NIST, et d'autres parce que les spectres de masse ne sont pas suffisamment « propres » pour pouvoir être correctement identifiés) et n'ont par conséquent pas pu être attribués sans ambiguïté à des dérivés précis de l'adénine. Si l'on considère cependant que, sur les spectres de masse, les pics ayant les valeurs m/z

les plus élevées représentent l'ion moléculaire (et non le fragment d'une molécule plus lourde), on peut supposer que ces cinq pics chromatographiques correspondent à un dérivé diméthylé de l'adénine (pic n°5 : m/z de l'ion moléculaire = 163) et quatre formes tautomériques triméthylées (pics n° 6, 7, 8 et 9 : m/z de l'ion moléculaire = 177). Les spectres de masse correspondants aux pics 5 à 9 sont donnés en Annexe 4-1 à Annexe 4-5. Tous les temps de rétention correspondants, les masses de l'ion moléculaire et les masses des principaux fragments sont donnés dans la Table 4-4. Les structures chimiques de l'adénine et de ses quatre dérivés identifiés sont données en Figure 4-5. On notera que l'identification de la forme canonique (pic n°3) est cohérente avec l'observation d'un pic intense sur le chromatogramme.

L'injection de 2,5 nmol permet de détecter le plus grand nombre de dérivés de l'adénine. La température optimale de pyrolyse est donc étudiée avec des injections de solutions contenant 2,5 nmol d'adénine dans le TMAH, bien que des dérivés méthylés de l'adénine soient identifiables dès 0,125 nmol, et *a fortiori* avec 0,25 nmol.

2,5 nmol d'adénine dissoute dans le TMAH ont été successivement injectés à 400°C, 500°C et 600°C. Les chromatogrammes obtenus sont donnés en Figure 4-6. Le chromatogramme à 600°C est le même que celui décrit ci-dessus. A 500°C, l'adénine méthylée une fois (molécule notée 1, Figure 4-5) n'est plus identifiable. Les cinq pics notés 5, 6, 7, 8 et 9, qui sont des dérivés méthylés de l'adénine mais dont la forme tautomérique exacte n'est pas déterminée, ne sont plus observables à 400°C. On notera également que l'intensité de tous les pics croît fortement lorsque la température de pyrolyse augmente.

Quelle que soit la température, le pic majoritaire est celui de la N,N,9-triméthyl-adénine (ou N,N,9- triméthyl-9H-purin-6-amine), soit la forme canonique de l'adénine méthylée sur ses trois sites possédant des hydrogènes labiles. Si l'on considère que tous les dérivés détectés ont une réponse similaire au détecteur, on peut alors supposer qu'il s'agit du dérivé méthylé produit majoritairement.

L'injection à 600°C semble donc être le choix analytique le plus pertinent pour la détection de l'adénine, essentiellement du fait de l'intensité plus importante des pics chromatographiques, mais aussi du plus grand nombre de dérivés détectés.

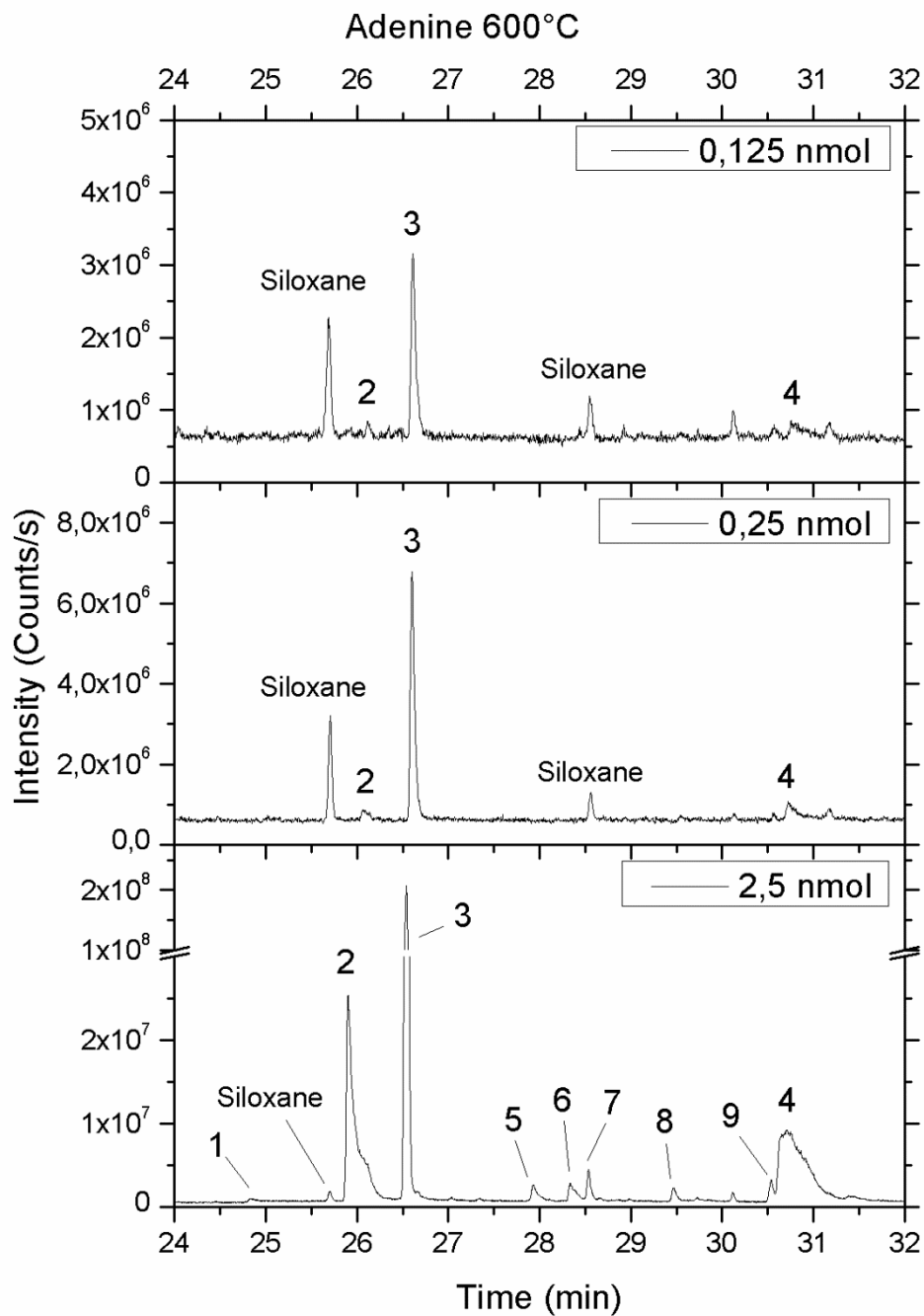
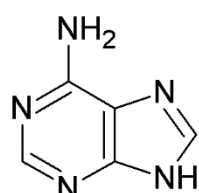


Figure 4-4 Chromatogrammes obtenus par injection à 600°C de (de haut en bas) 0,125 nmol, 0,25 nmol et 2,5 nmol d'adénine diluée dans le TMAH. 1 : 3-méthyl-adénine ; 2 : N,9-diméthyl-adénine ; 3 : N,N,9-triméthyl-adénine ; 4 : N,N,3-triméthyl-adénine ; 5 : probablement diméthyl-adénine ; 6,7,8,9 : probablement triméthyl-adénine.

N° de pic	TR (min)	Composé	M+	Masses des fragments
1	24,84	3-méthyl-adénine	149	149 (100), 122(25), 121(20), 42(15), 53(15), 68(10), 80(10), 95(10)
2	25,90	N,9-diméthyl-adénine	163	163 (100), 135(80), 107(70), 134(60), 162(40), 133(35), 80(35)
3	26,54	N,N,9-triméthyl-adénine	177	148 (100), 162(40), 177(35), 107(25), 133(25), 135(20), 106(18)
5	27,93	diméthyl-adénine	163	162 (100), 163(40), 42(32), 82(15), 121(15), 108(15), 135(12)
6	28,33	triméthyl-adénine	177	176 (100), 177(50), 148(30), 147(25), 67(25), 133(20), 42(16)
7	28,54	triméthyl-adénine	177	162 (100), 177(90), 176(35), 148(35), 133(35), 94(32), 42(30), 121(30)
8	29,47	triméthyl-adénine	177	177 (100), 135(90), 121(50), 42(50), 162(50), 44(50), 133(35), 107(35)
9	30,54	triméthyl-adénine	177	177 (100), 135(82), 162(70), 44(58), 42(50), 108(30), 120(20), 133(15)
4	30,72	N,N,3-triméthyl-adénine	177	148 (100), 162(60), 177(40), 134(30), 107(25), 135(22), 119(20)

Table 4-4 Liste des composés détectés après injection de la solution d'adénine dans le TMAH et leurs temps de rétention (TR) à 600°C. M+ désigne la masse de l'ion moléculaire identifié ou supposé. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.



Adénine (9H-purin-6-amine)

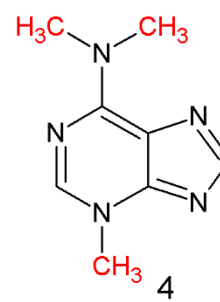
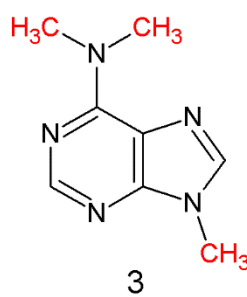
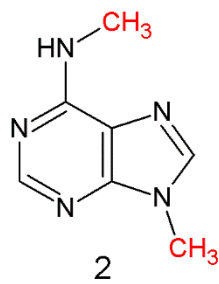
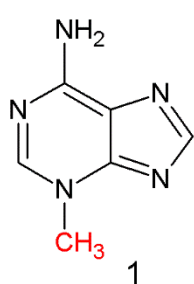


Figure 4-5 Formule semi-développée de l'adénine et de ses différentes formes méthylées détectées après pyrolyse en présence de TMAH. 1 : 3-méthyl-adénine ; 2 : N,9-diméthyl-adénine ; 3 : N,N,9-triméthyl-adénine ; 4 : N,N,3-triméthyl-adénine.

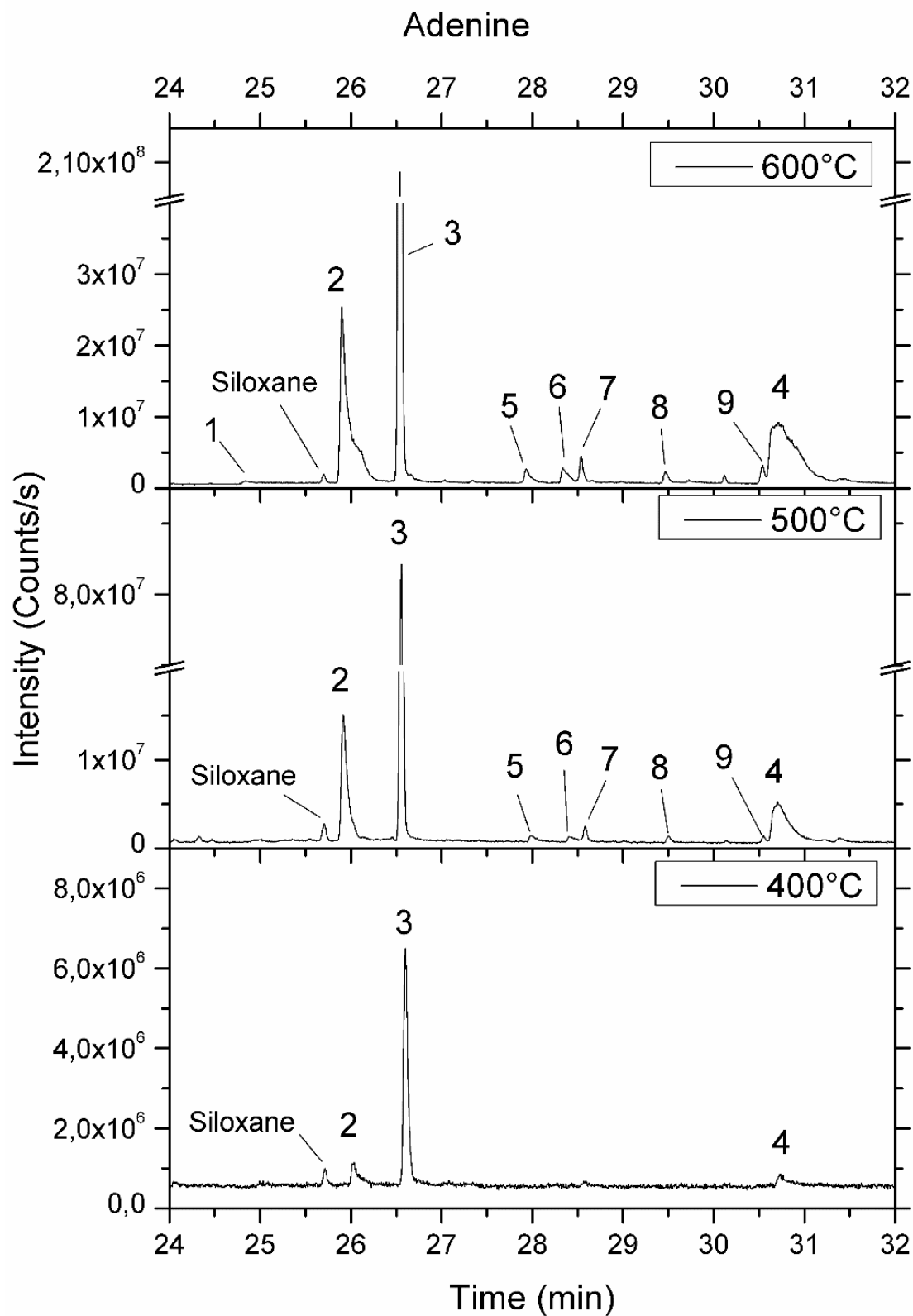


Figure 4-6 Chromatogrammes obtenus par injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 2,5 nmol d'adénine diluée dans le TMAH. 1 : 3-méthyl-3H-purin-6-amine ; 2 : N,9-diméthyl-9H-purin-6-amine ; 3 : N,N,9-triméthyl-9H-purin-6-amine ; 4 : N,N,3-triméthyl-3H-purin-6-amine ; 5 : probablement diméthyl-adénine ; 6,7,8,9 : probablement triméthyl-adénine.

4.4.2. Thymine et uracile

La thymine et l'uracile sont des bases pyrimidiques structurellement très proches, puisqu'elles ne se distinguent que par la présence d'un groupement méthyle supplémentaire sur le carbone en position 5 dans la thymine, qui est donc une 5-méthyluracile (cf. Figure 4-1). Les analyses Pyr-CPG-SM de la thymine et de l'uracile ont été faites avec des solutions de $2,6 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de base azotée dans le TMAH, soit des injections de 0,26 nmol de thymine et d'uracile. Les composés répondant bien à ces concentrations (intensité du signal élevée), il n'était pas souhaitable d'injecter plus de matière. Les chromatogrammes obtenus par injection à 400°C, 500°C et 600°C de thymine et d'uracile sont donnés respectivement en Figure 4-7 et Figure 4-8.

Le seul composé dérivé de la thymine détecté est la 1,3-diméthyl-thymine (ou 1,3,5-triméthyl-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione) avec un temps de rétention de 21,49 min à 600°C.

Le seul dérivé de l'uracile détecté est la 1,3-diméthyl-uracile (ou 1,3-diméthyl-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione) avec un temps de rétention de 20,40 min à 600°C.

Dans les deux cas, il s'agit de la forme canonique de la base azotée, méthylée sur ses deux azotes intra-cycliques. L'absence de méthylation des formes tautomériques énoliques de la thymine et de l'uracile s'explique par un équilibre thermodynamique céto-énolique très fortement déplacé en faveur de la forme cétone. La structure chimique de la thymine et de l'uracile méthylées par le TMAH sont données directement sur leurs chromatogrammes correspondants (Figure 4-7 et Figure 4-8).

La Table 4-5 donne les masses des ions moléculaires de la 1,3-diméthyl-thymine et de la 1,3-diméthyl-uracile et les masses des principaux fragments détectés dans leurs spectres de masses respectifs.

TR (min)	Composé	M+	Masses des fragments
21,49	1,3-diméthyl-thymine	154	154 (100), 68(92), 69(48), 42(42), 97(20), 96(15), 56(15)
20,40	1,3-diméthyl-uracile	140	140 (100), 42(68), 55(64), 83(50), 82(34), 54(18), 56(10)

Table 4-5 Composés détectés après injection des solutions de thymine et d'uracile dans le TMAH et leurs temps de rétention (TR) à 600°C. M+ désigne la masse de l'ion moléculaire. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

Dans le cas de la thymine et de l'uracile, la température de thermochimioolyse n'influe pas sur le nombre de dérivés fonctionnalisés détectés, puisque seule la forme canonique est observée. Cependant, de même que pour l'adénine, l'intensité du signal de la thymine et de l'uracile est d'autant plus grande que la température de pyrolyse est élevée. 600°C semble donc être, comme dans le cas de l'adénine, la température optimale d'analyse et de détection de la thymine et l'uracile.

Des pics de siloxanes d'intensité élevée sont observés sur les chromatogrammes de la thymine et de l'uracile (Figure 4-7 et Figure 4-8). Sur des intervalles d'élution en début d'acquisition non présentés sur les figures, ces pics atteignent des intensités supérieures à 10^9 coups.s⁻¹. Les siloxanes peuvent provenir soit de la dégradation thermique du septum de l'injecteur de CPG, soit de la dégradation, sous l'action corrosive du TMAH, de la phase stationnaire de la colonne chromatographique.

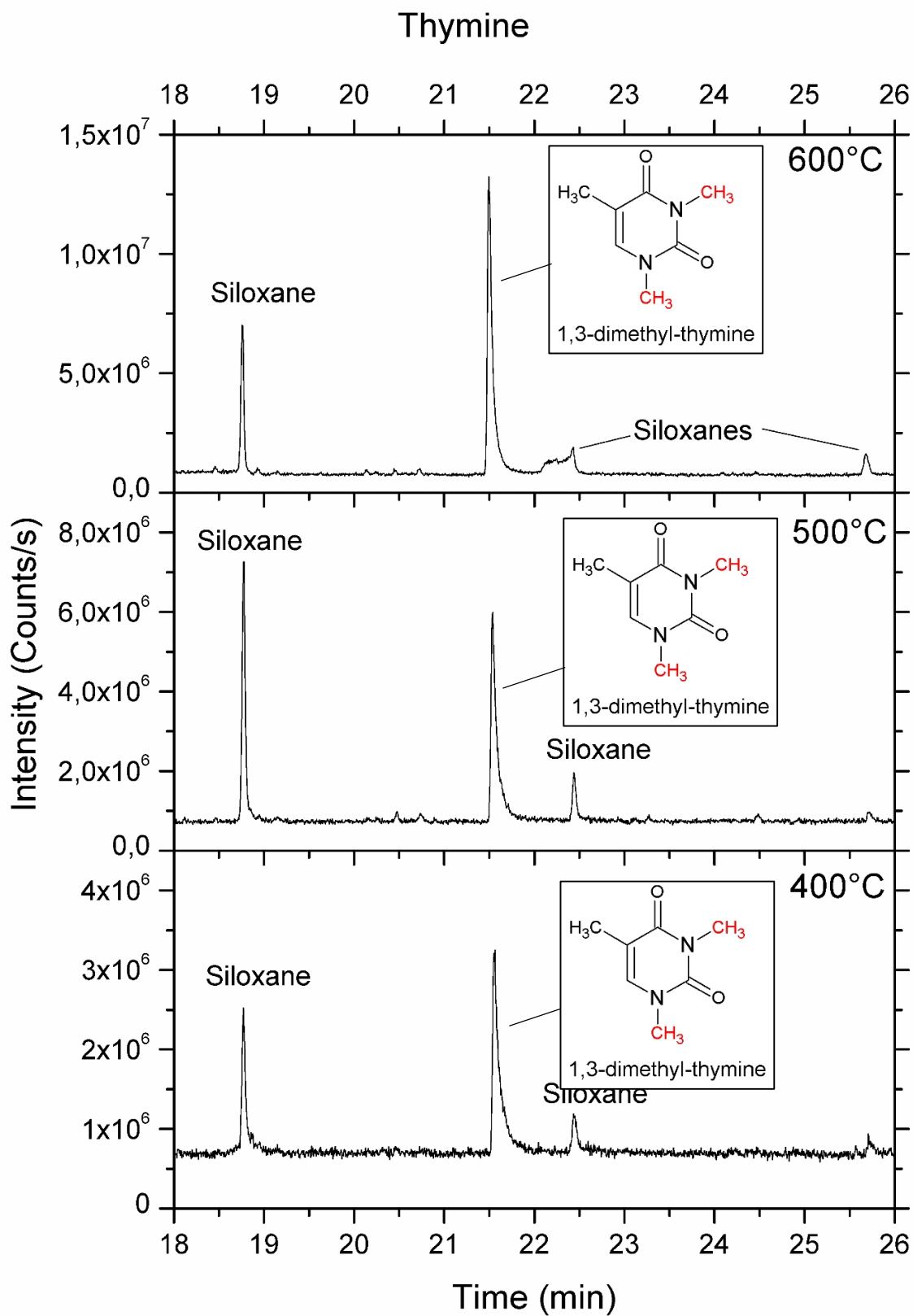


Figure 4-7 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 0,26 nmol de thymine diluée dans le TMAH.

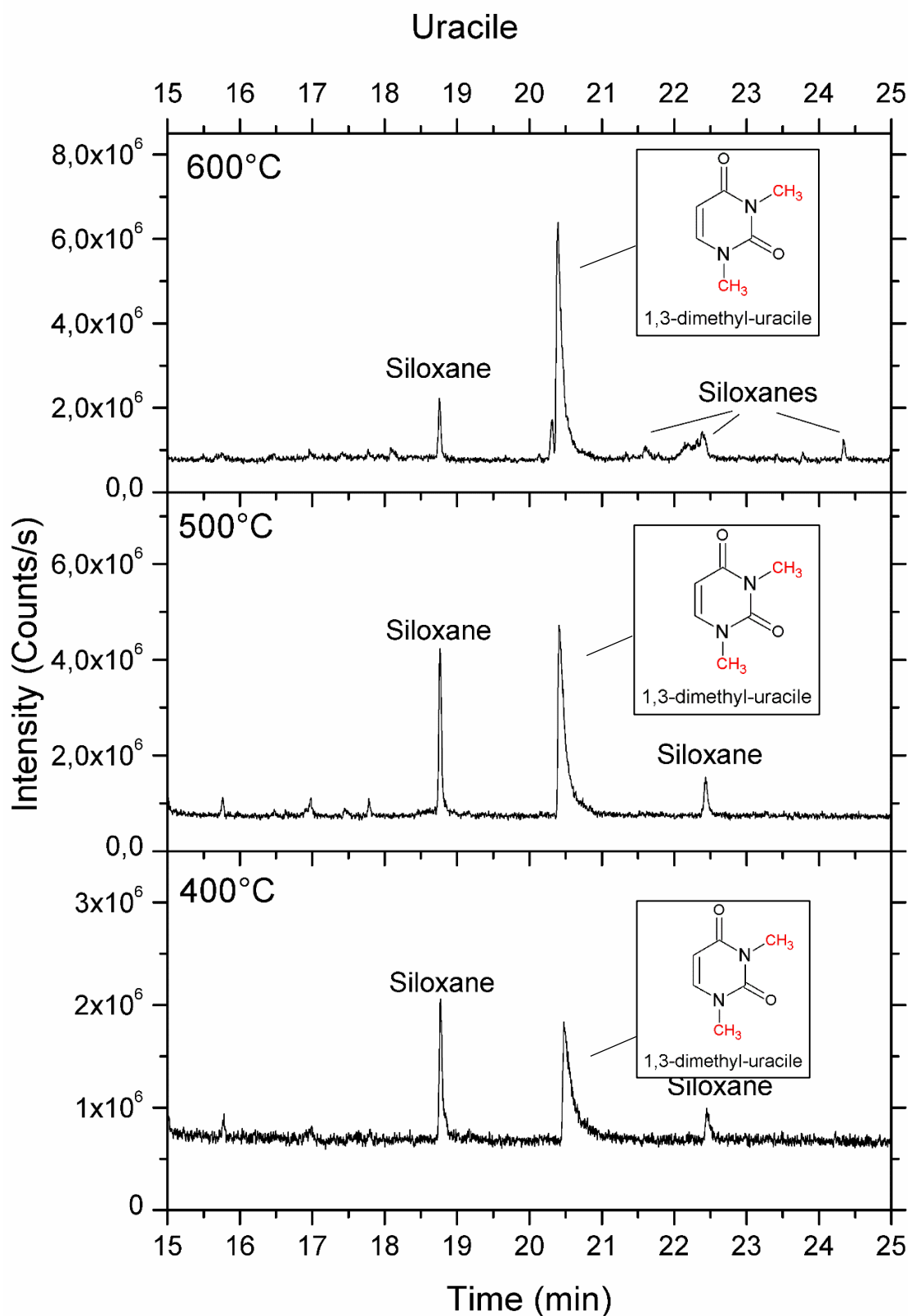


Figure 4-8 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 0,26 nmol d'uracile diluée dans le TMAH.

4.4.3. Cytosine

Une première injection à 600°C dans le pyrolyseur de 0,3 nmol de cytosine dans le TMAH a permis de détecter un seul composé lié à la cytosine à RT = 20,79 min, avec un pic chromatographique de très faible intensité (environ trois fois le bruit de fond). Avec un m/z de l'ion moléculaire de 153, il s'agit probablement d'une forme triméthylée de la cytosine non répertoriée dans la base de données NIST. Afin de se prémunir d'une possible diminution de la réponse de la cytosine dérivatisée à plus faible température, l'étude de la température de thermochimie a donc été faite avec des injections de 18 nmol.

L'analyse de la cytosine nécessite des injections de solutions bien plus concentrées par rapport à celles des bases azotées étudiées plus haut : 18 nmol de cytosine contre 2,5 nmol pour l'adénine et 0,26 nmol pour la thymine et l'uracile. La difficulté de détection de la cytosine est probablement liée à la présence du groupement amine primaire très polaire. L'injection d'une quantité comparable à celle de l'adénine – molécule possédant également un groupement amine primaire – permettrait de déterminer si, du fait de leur structure chimique, les deux composés ont un comportement similaire. L'analyse des amines est particulièrement problématique en Pyr-CPG-SM du fait de leur adsorption sur les lignes de transfert du pyrolyseur et sur les liners, mais aussi à cause de leur interaction avec la phase stationnaire de la colonne chromatographique qui entraîne un important étalement des pics.

Les chromatogrammes obtenus par injection à 400°C, 500°C et 600°C sont donnés en Figure 4-10. Les mêmes molécules ont été détectées aux trois températures de pyrolyse. La Figure 4-9 montre les deux dérivés qui ont pu être identifiés avec la base de données NIST : la N,N,N'-triméthyl-cytosine (pic noté 4 sur les chromatogrammes) qui correspond à la forme canonique de la cytosine méthylée trois fois et la 2-O-méthyl-cytosine (pic noté 1) qui correspond à une forme énolique de la cytosine méthylée sur l'atome d'oxygène. D'après les rapports m/z des ions moléculaires, le pic numéro 2 (m/z = 139) correspondrait à une diméthyl-cytosine et les pics 3 et 5 (m/z = 153) à des formes triméthylées. La Table 4-6 donne la liste de tous les composés détectés après injection de la solution de cytosine dans le TMAH, leurs temps de rétention à 600°C, la masse de l'ion moléculaire identifié ou supposé et les masses des fragments principaux. Les spectres de masse correspondants aux pics numéros 2 et 3 sont donnés en Annexe 4-6 et Annexe 4-7 respectivement. Le spectre du pic numéro 5 n'est pas donné car, compte tenu de l'étalement du pic sur sept minutes, il peut contenir plusieurs tautomères coélus.

Les pics majoritaires correspondent à deux formes tautomériques de la triméthyl-cytosine : la N,N,N'- triméthyl-cytosine, forme canonique de la cytosine totalement méthylée, et une autre forme tautomérique triméthylée.

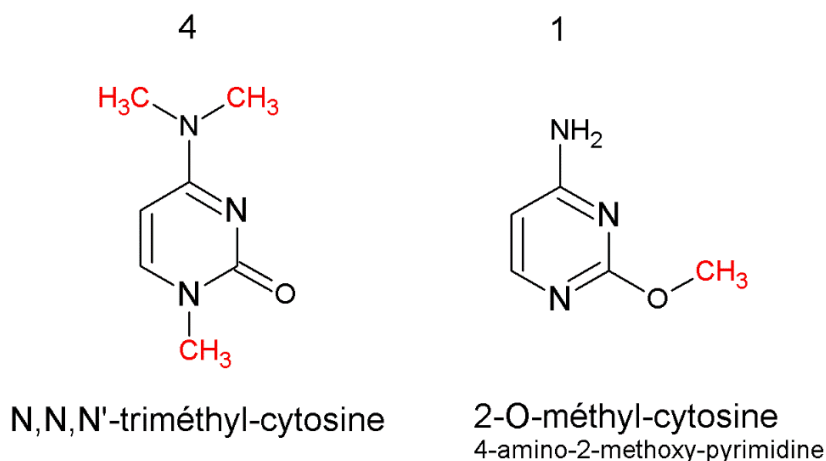


Figure 4-9 Structures chimiques des deux dérivés méthylés de la cytosine identifiées après injection de 18 nmol de cytosine dans le TMAH. Les numéros au-dessus des molécules renvoient à l'identification des pics sur les chromatogrammes de la Figure 4-10.

n° de pic	TR (min)	Composé	M+	Masses des fragments
1	18,90	4-amino-2-méthoxy-pyrimidine	125	95 (100), 125(65), 124(50), 68(40), 67(20), 41(15), 96(15)
2	20,33	diméthyl-cytosine	139	139 (100), 109(80), 108(70), 138(60), 95(55), 110(35), 81(25)
3	20,58	triméthyl-cytosine	153	153 (100), 124(95), 95(70), 109(65), 138(60), 42(40), 44(40)
4	21,84	N,N,N'-triméthyl-cytosine	153	124 (100), 153(75), 55(45), 95(45), 96(40), 42(30), 54(15)
5	30-37	triméthyl-cytosine	153	153 (100), 124(64), 123(60), 138(44), 42(30), 82(25), 44(20)

Table 4-6 Liste des composés détectés après injection de la solution de cytosine dans le TMAH et leurs temps de rétention (TR) à 600°C. M+ désigne la masse de l'ion moléculaire identifié ou supposé. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

Comme dans le cas de la thymine, la température de thermochimie de la cytosine n'influe pas sur le nombre de dérivés fonctionnalisés détectés, les mêmes six dérivés méthylés de la cytosine étant observés pour les trois températures. Toutefois, d'un point de vue quantitatif, les intensités des pics chromatographiques relatifs à la cytosine sont plus élevées à 600°C qu'aux autres températures étudiées. Ici encore, l'injection à 600°C semble donc être le meilleur choix.

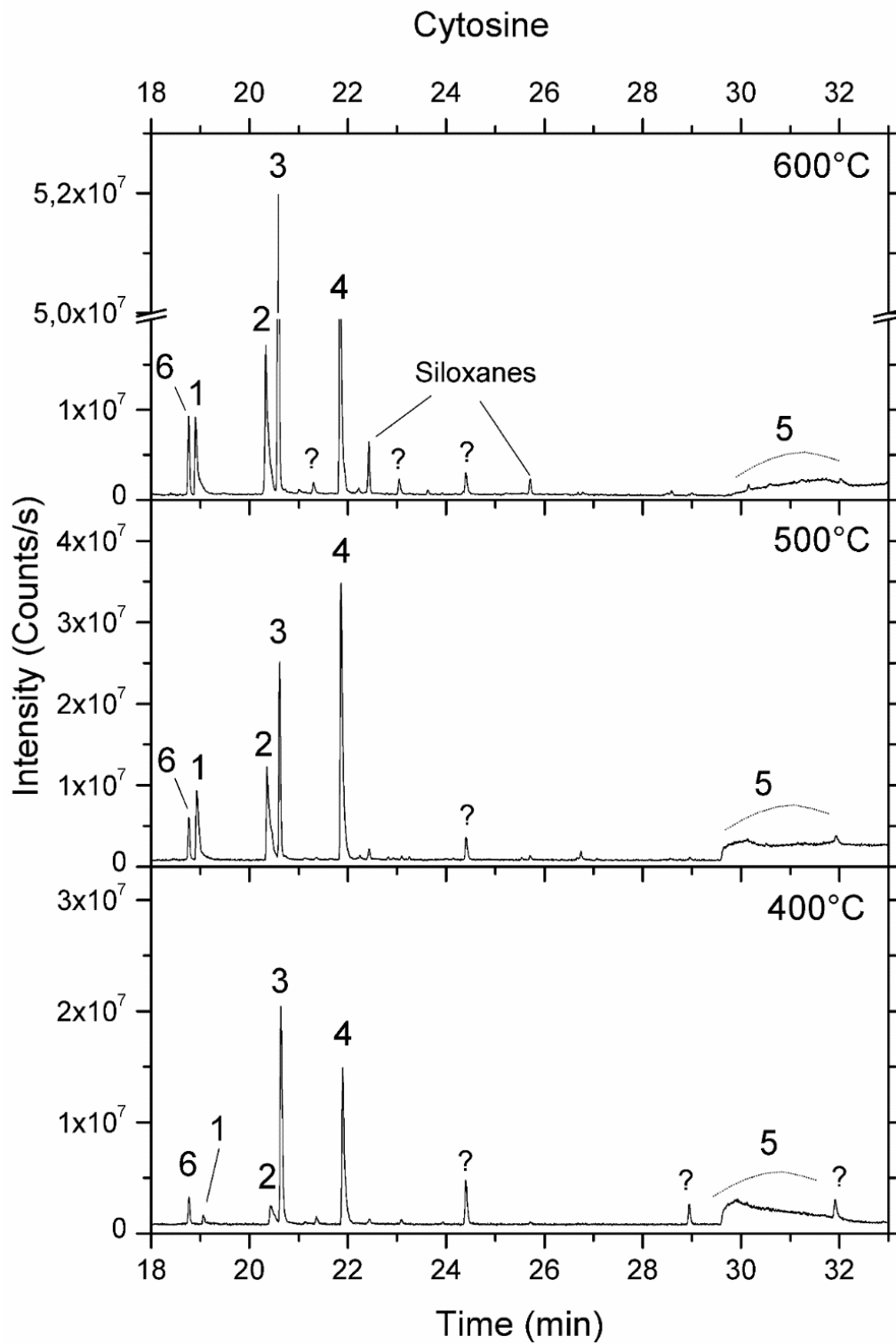


Figure 4-10 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 18 nmol de cytosine diluée dans le TMAH. 1 : 4-amino-2-méthoxy-pyrimidine ; 2 : probablement diméthyl-cytosine ; 3 : probablement triméthyl-cytosine ; 4 : N,N,N'-triméthyl-cytosine ; 5 : probablement triméthyl-cytosine ; 6 : siloxane

4.4.4. Guanine

Aucun composé lié à la guanine n'a pu être détecté après une injection à 600°C de 0,22 nmol de guanine dans le TMAH. L'étude de la température de thermochimolyse a donc été faite avec des injections de 11 nmol, concentration pour laquelle les composés de la guanine fonctionnalisés ont pu être détectés. Les chromatogrammes obtenus par injection à 400°C, 500°C et 600°C sont donnés en Figure 4-11. Une seule molécule, la 1,3,7-triméthylxanthine (ou caféine, pic noté 1 sur les chromatogrammes), a pu être strictement identifiée sur les chromatogrammes obtenus à 500°C et 600°C grâce à la base de données NIST. La structure chimique de cette molécule est représentée sur la Figure 4-12. Il s'agit d'un produit de méthylation et de désamination oxydative de la guanine dont la réaction est donnée en Figure 4-13. La désamination et l'oxydation de la guanine ont pour produit la xanthine qui, une fois méthyliée par le TMAH sur ses trois atomes d'hydrogène labiles donne la molécule que nous détectons : la 1,3,7-triméthylxanthine.

Les autres pics ont tous été identifiés d'après les rapports m/z de leurs ions moléculaires supposés. Il s'agirait de la diméthyl-guanine (pic noté 2, $m/z = 179$), de trois tautomères de triméthyl-guanine (pics notés 3, 5 et 9, $m/z = 193$) et de quatre tautomères de tétraméthyl-guanine (pics notés 4, 6, 7 et 8, $m/z = 207$). Les spectres de masse correspondant aux pics 2 à 9 sont donnés en Annexe 4-8 à Annexe 4-14.

Les intensités des pics croissent globalement avec la température. Le pic numéro 9 (triméthyl-guanine) n'a cependant été observé qu'à 400°C, tandis que les pics 1, 4, et 6 n'ont pas été détectés à cette température. Le pic 1 qui correspond à la xanthine méthyliée issue, comme mentionné plus tôt, de la dégradation de la guanine. Cette dégradation survient probablement à des températures supérieures à 400°C. Les pics 4 et 6 correspondent *a priori* (d'après les rapports m/z de l'ion moléculaire) à deux tautomères de la guanine tétraméthylée. Leur absence peut être due à l'instabilité de ces formes tautomériques à 400°C. La Table 4-7 donne la liste de tous les composés détectés après injection de la solution de 11 nmol de guanine dans le TMAH, leurs temps de rétention à 600°C (à l'exception du pic numéro 9 détecté à 400°C seulement), la masse des ions moléculaires identifiés ou supposés et les masses des fragments principaux.

On observe, comme dans le cas de la cytosine, qu'une quantité importante (plusieurs nanomoles injectées) de guanine est nécessaire pour permettre sa détection. Avec l'adénine et la cytosine, la guanine est la troisième base azotée à posséder un groupement amine primaire qui peut considérablement diminuer l'efficacité de l'analyse CPG-SM. Une dégradation thermique à haute température en présence du TMAH peut expliquer les difficultés de détection tant pour la guanine que pour la cytosine. Pour vérifier cette hypothèse, des injections de guanine dans le TMAH ont été réalisées à des températures plus basses, 250°C et 300°C, avec un injecteur Optic 4 (GL Sciences). Aucun composé n'a été détecté lors de ces tests. Ces résultats ne sont cependant pas surprenants, puisque la thermochimolyse nécessite des températures de l'ordre de 400°C-600°C, et peut difficilement avoir lieu à des températures plus basses.

La guanine est jusqu'ici la base azotée la plus complexe à analyser. Elle nécessite une concentration plus élevée que les nucléobases précédentes pour être détectable. A haute concentration, ses dérivés méthylés sont nombreux et difficiles à identifier. Les pics chromatographiques sont étalés et souvent coélus.

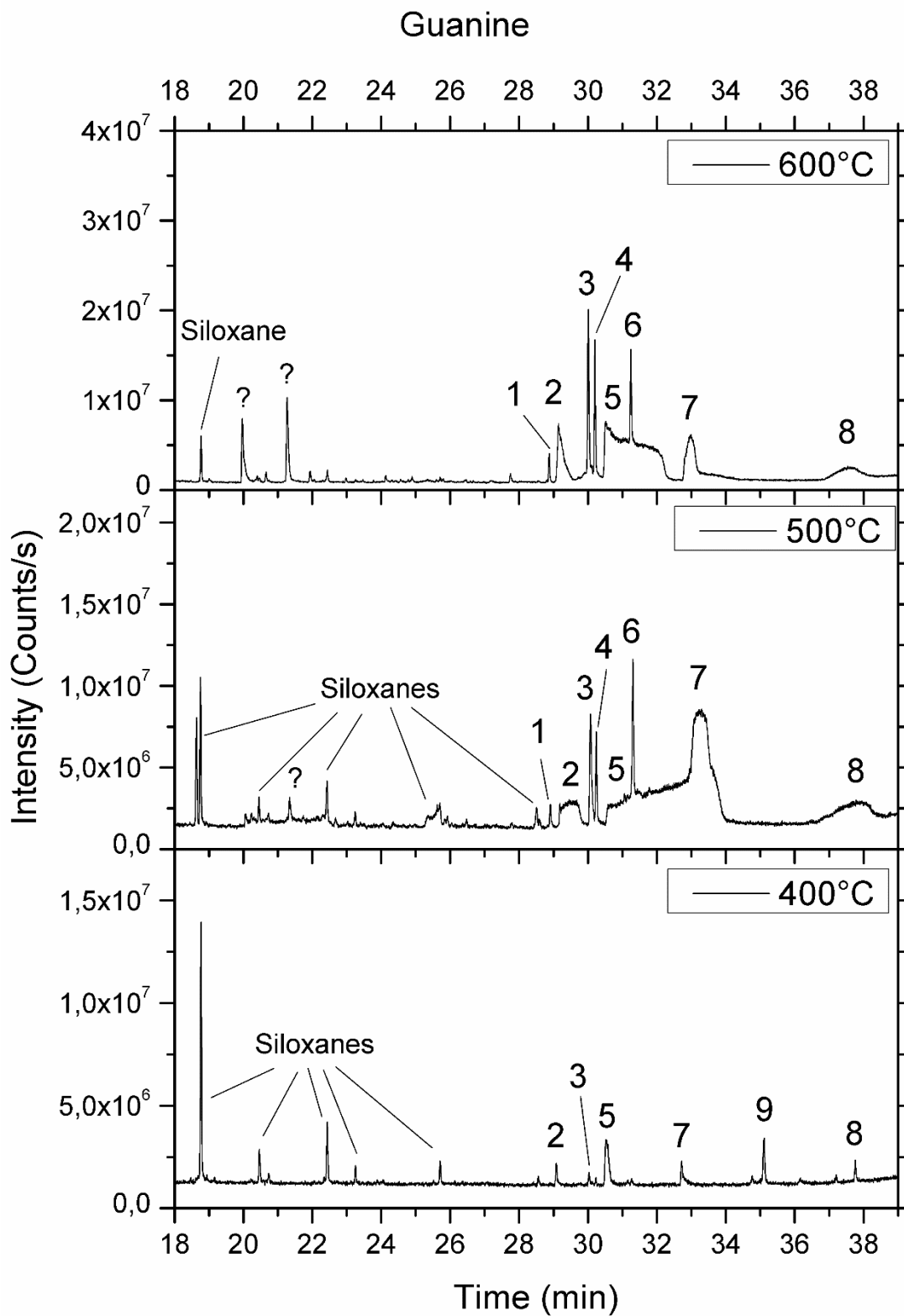


Figure 4-11 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 11 nmol de guanine diluée dans le TMAH. 1 : caféine ; 2 : probablement diméthyl-guanine ; 3 et 5 : probablement triméthyl-guanine ; 4, 6, 7, 8 : probablement tétraméthyl-guanine ; 9 : probablement triméthyl-guanine.

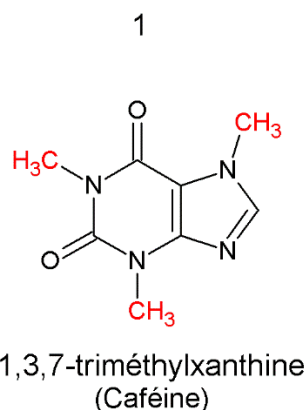


Figure 4-12 Structures chimiques de la 1,3,7-triméthylxanthine, identifiée après injection de 18 nmol de guanine dans le TMAH. Le chiffre 1 au-dessus de la molécule renvoie à l'identification des pics sur les chromatogrammes de la Figure 4-11.

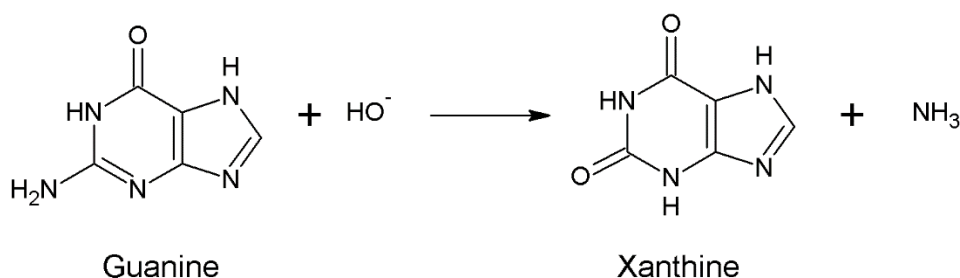


Figure 4-13 Réaction de désamination oxydative de la guanine.

n° de pic	RT (min)	Compound	M+	Masses des fragments
1	28,88	caféine (1,3,7-triméthyl-xanthine)	194	194(100) , 109(44), 67(38), 55(30), 82(28), 193(25)
2	29,18	diméthyl-guanine	179	179(100) , 150(45), 178(40), 149(36), 42(34), 107(22)
3	30,01	triméthyl-guanine	193	193(100) , 149(45), 165(42), 164(40), 42(26), 192(22), 163(22)
4	30,20	tétraméthyl-guanine	207	207(100) , 178(75), 192(65), 163(65), 149(45), 164(28), 42(25)
5	30,51-32,21	triméthyl-guanine	193	193(100) , 67(35), 82(25), 55(25) 164(22), 42(18)
6	31,25	tétraméthyl-guanine	207	178(100) , 207(70), 67(54), 109(45), 137(34), 55(30), 82(30)
7	32,99	tétraméthyl-guanine	207	164(100) , 163(65), 178(65), 136(60), 67(56), 123(56), 207(56)
8	37,10-38,00	tétraméthyl-guanine	207	207(100) , 163(80), 164(45), 178(40), 42(32), 67(25), 94(25), 136(25)
9	35,12	triméthyl-guanine (à 400°C seulement)	193	193(100) , 164(48), 123(35), 67(24), 136(20), 110(15), 163(15)

Table 4-7 Liste des composés détectés après injection de la solution de guanine dans le TMAH et leurs temps de rétention (TR) à 600°C (à l'exception du pic 9 détecté à 400°C seulement). M+ désigne la masse de l'ion moléculaire identifié ou supposé. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

4.4.5. Xanthine

Les analyses de la xanthine ont été faites avec des solutions de $2,2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ soit des injections de 0,22 nmol de xanthine dans 0,1 µl de TMAH. De même que la thymine et l'uracile, la xanthine répond bien à faible concentration (intensité du signal élevée), il n'a donc pas été nécessaire d'injecter plus de matière. Les chromatogrammes obtenus par injection à 400°C, 500°C et 600°C de xanthine sont donnés en Figure 4-14.

Comme montré dans la Table 4-8, le seul composé dérivé de la xanthine détecté est la 1,3,7-triméthylxanthine (ou caféine, TR = 28,90 min à 600°C). Il s'agit de la forme canonique triméthylée de la xanthine, avec une masse de l'ion moléculaire de 194 Da. La dernière colonne donne les masses des fragments principaux dans l'ordre d'abondance décroissante. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

TR (min)	Composé	M+	Masses des fragments
28,90	1,3,7-triméthylxanthine (caféine)	194	194 (100), 109(55), 67(45), 55(32), 82(28), 193(22), 42(13)

Table 4-8 Composé détecté après injection de solution de xanthine dans le TMAH et son temps de rétention (TR) à 600°C. M+ désigne la masse de l'ion moléculaire. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

Comme précédemment, l'intensité du signal est d'autant plus grande que la température de thermochimiolysse est élevée, et la température d'analyse la plus pertinente est donc de 600°C.

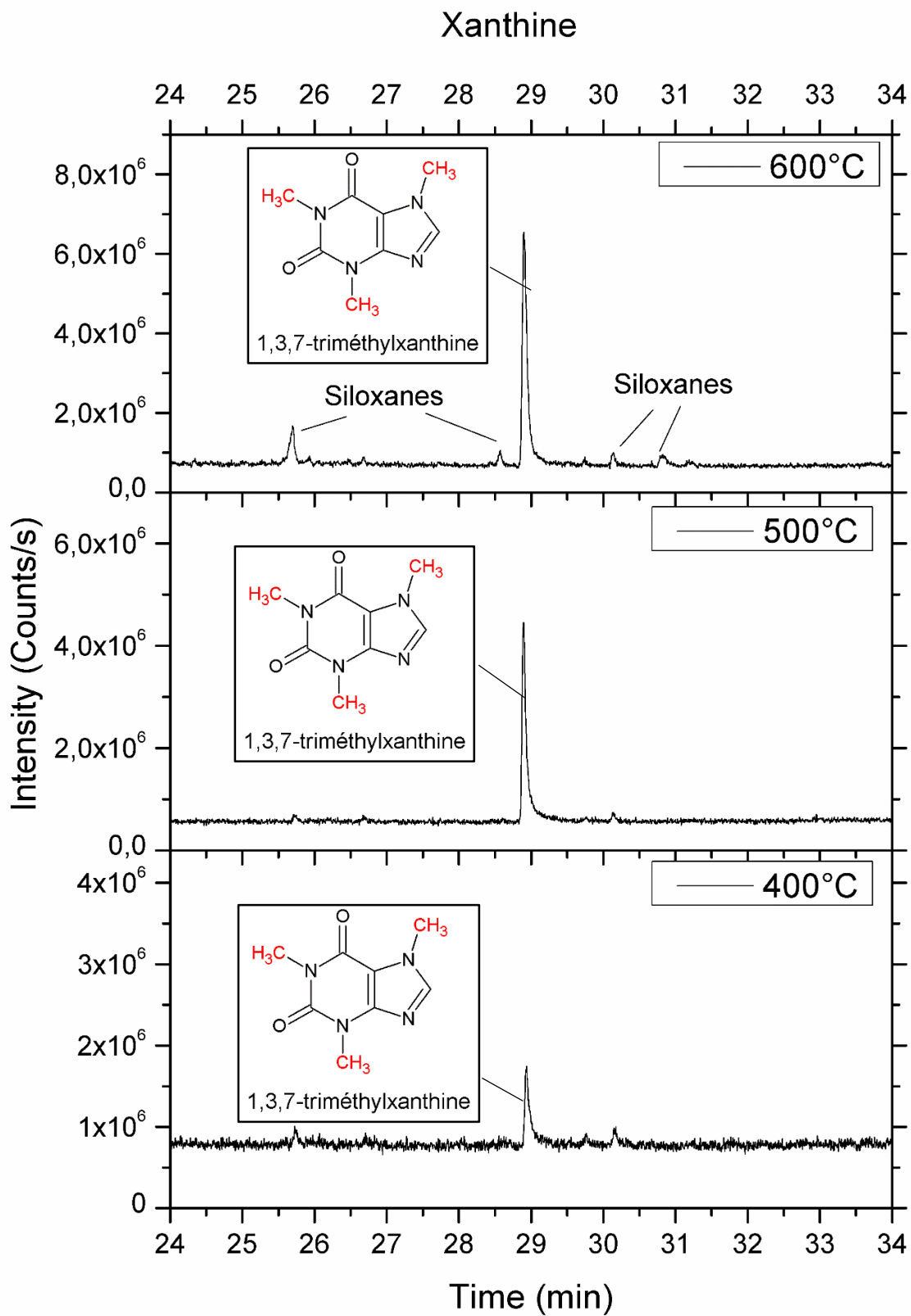


Figure 4-14 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 0,22 nmol de xanthine diluée dans le TMAH.

4.4.6. Hypoxanthine

Les analyses de l'hypoxanthine ont été faites avec des solutions de $1,2 \cdot 10^{-2}$ mol.L⁻¹ soit des injections de 1,2 nmol d'hypoxanthine dans 0,1 µl de TMAH. La quantité d'hypoxanthine a quant à elle été augmentée du fait d'un faible signal observé après de premières injections réalisée avec des concentrations de $2,4 \cdot 10^{-3}$ mol. L⁻¹. Les chromatogrammes obtenus par injection à 400°C, 500°C et 600°C d'hypoxanthine sont donnés en Figure 4-15.

La Table 4-9 montre les deux dérivés qui ont été détectés après l'injection de l'hypoxanthine : la 1,7-diméthyl-hypoxanthine (pic principal, TR = 29,60 min à 600°C) et un pic d'intensité moindre correspondant à un deuxième tautomère de diméthyl-hypoxanthine (TR = 31,52 min à 600°C). La masse de l'ion moléculaire de ces deux composés est de 164 Da. La dernière colonne liste les masses des principaux fragments dans l'ordre d'abondance décroissante. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

TR (min)	Composé	M+	Masses des fragments
29,60	1,7-diméthyl-hypoxanthine	164	164 (100), 163(62), 42(42), 110(15), 68(12), 67(12), 53(10)
31,52	diméthyl-hypoxanthine	164	164 (100), 42(52), 135(50), 82(20), 163(18), 108(10), 67(0)

Table 4-9 Composés détectés après injection de solution d'hypoxanthine dans le TMAH et leurs temps de rétention (TR) à 600°C. M+ désigne la masse de l'ion moléculaire. Les masses des fragments principaux sont données avec leurs abondances relatives entre parenthèses. Le pic noté en caractère gras est le pic de base.

Le chauffage à 400°C ne permet la détection d'aucun composé après l'injection de l'hypoxanthine, qui n'est détectable qu'à partir de 500°C, avec un pic d'intensité la plus élevée à 600°C.

Le cas de la xanthine et de l'hypoxanthine est comparable à celui de la thymine et de l'uracile. Ces bases azotées sont détectables à faibles concentrations (de l'ordre de la nanomole). Elles sont détectées totalement méthylées sur leurs azotes intra-cycliques (3 méthylations pour la xanthine, 2 méthylations pour l'hypoxanthine). Les formes tautomériques énoliques méthylées ne sont pas détectées du fait d'un équilibre céto-énolique largement déplacé vers la forme cétone.

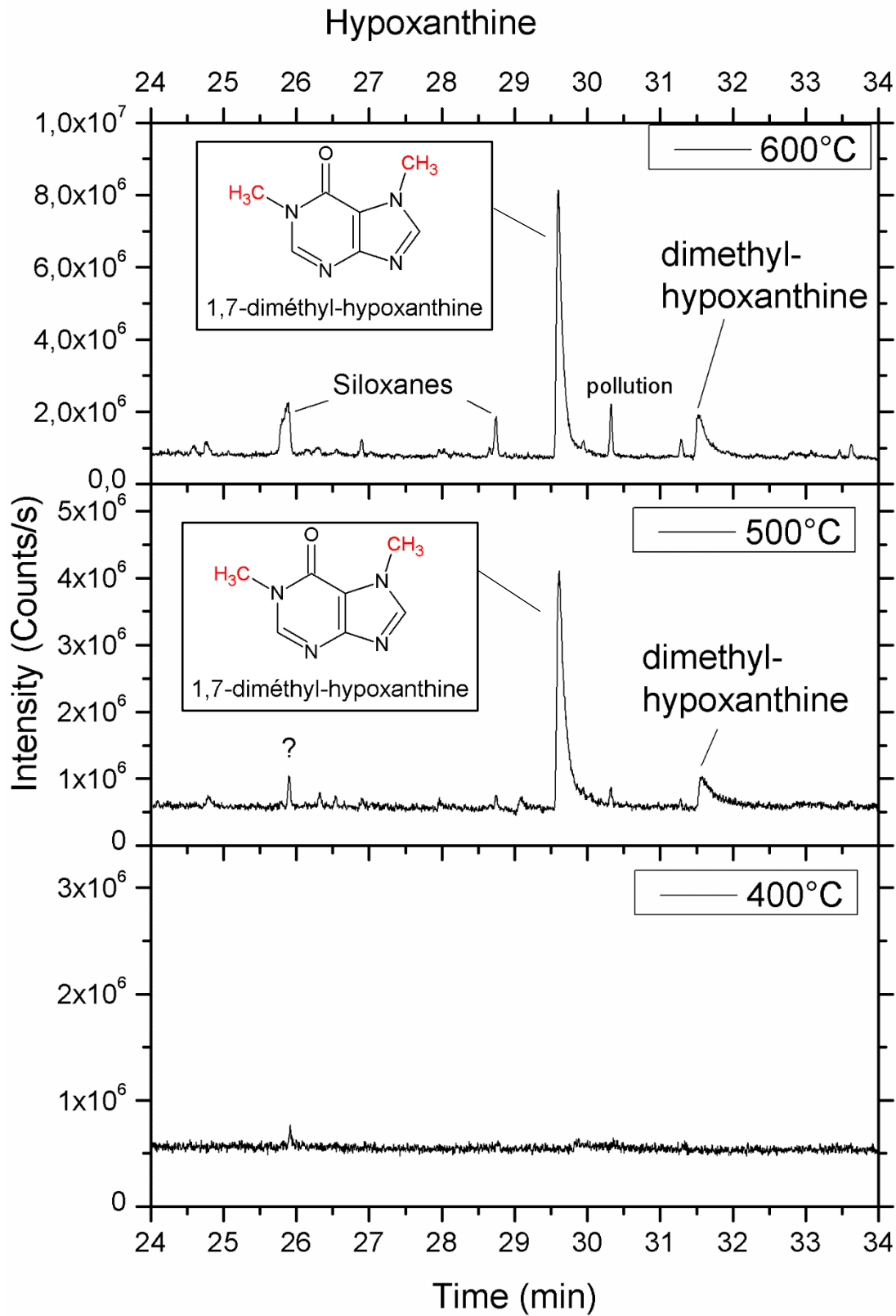


Figure 4-15 Chromatogrammes obtenus après injection à (de haut en bas) 600°C, 500°C et 400°C de 1,2 nmol d'hypoxanthine diluée dans le TMAH.

4.5. Analyse d'un mélange de nucléobases

Afin de faciliter la détection et l'identification des nucléobases dans de futures analyses d'échantillons naturels par thermochimie et CPG-SM, un mélange des sept nucléobases dissoutes dans le TMAH a été injecté à la température précédemment optimisée de 600°C.

4.5.1. Protocole expérimental

Les conditions analytiques sont strictement identiques à celles utilisées lors des analyses précédentes.

Le mélange injecté contient les sept nucléobases diluées dans la solution de TMAH (25% en masse de TMAH dans du méthanol). La concentration de chaque nucléobase ainsi que la quantité injectée sont données dans la Table 4-10. Le volume total de solution injectée est de 0,1µl. La température du pyrolyseur est de 600°C.

	Concentrations (mol.L ⁻¹)	Quantités injectées (nmol)
Adénine	0,18	18
Guanine	0,31	31
Cytosine	0,43	43
Thymine	1,86.10 ⁻⁰³	0,19
Uracile	1,86.10 ⁻⁰³	0,19
Xanthine	1,57.10 ⁻⁰³	0,18
Hypoxanthine	8,57.10 ⁻⁰³	0,86

Table 4-10 Concentrations dans la solution de TMAH et quantités d'injection des sept nucléobases.

4.5.2. Résultats

Le chromatogramme correspondant à l'injection après thermochimie du mélange de nucléobases est donné en Figure 4-16. Les dérivés méthylés des bases azotées détectés lors de cette analyse ainsi que leurs temps de rétention et les molécules mères associées sont listés dans la Table 4-11.

Chacune des sept nucléobases étudiées est identifiable lors de l'injection de quantités susceptibles de se trouver dans des échantillons de sols naturels. Néanmoins, on observe un nombre plus faible de composés que lors des analyses individuelles des nucléobases. Cette différence est très probablement due à une perte de sensibilité du détecteur au cours du temps séparant les analyses individuelles de l'analyse du mélange, soit cinq mois environ.

Pour la thymine, l'uracile, la xanthine et l'hypoxanthine, les mêmes dérivés que ceux détectés lors des injections séparées des standards analytiques ont été identifiés. Il s'agit à chaque fois de leur forme canonique méthylée sur tous leurs hydrogènes labiles, à l'exception de la diméthyl-hypoxanthine pour laquelle un deuxième tautomère est détecté.

Seule la forme canonique triméthylée de la cytosine est détectée ici (contre cinq dérivés méthylés différents lors de l'injection de 18 nmol de cytosine). Le pic de cytosine est le plus faible, avec une intensité d'environ deux fois celle du bruit de fond.

Deux dérivés de l'adénine sont observés (contre neuf lors de l'injection de 2,5 nmol d'adénine seule). Le pic d'adénine prédominant correspond à la structure canonique triméthylée. Le deuxième pic, de faible intensité, est un tautomère triméthylé.

Un seul dérivé de la guanine (contre 9 lors de l'injection de 11 nmol) est détectable, avec un pic de faible intensité. La guanine est la seule base azotée détectée dont la méthylation est incomplète : seulement trois hydrogènes labiles sur quatre ont été remplacés par un groupement méthyle. La faible quantité de guanine détectée est due à la dégradation de cette nucléobase en xanthine par désamination oxydative. Cela explique également l'intensité élevée du pic de 1,3,7-triméthyl-xanthine, largement prépondérant dans le chromatogramme.

Parmi les sept bases azotées analysées, cinq présentent des intensités de pics élevée et devraient être facilement détectables par thermochimioolyse si elles sont présentes en des quantités de l'ordre d'une nanomole ou supérieures dans des échantillons naturels : la xanthine, l'adénine, la thymine, l'uracile et dans une moindre mesure, l'hypoxanthine. La guanine, et surtout la cytosine, seront plus difficiles à identifier si elles sont présentes à l'état de trace. Du fait de la désamination oxydative de la guanine en xanthine au cours de la thermochimioolyse, la détection de xanthine peut-être un fort indicateur de la présence de guanine.

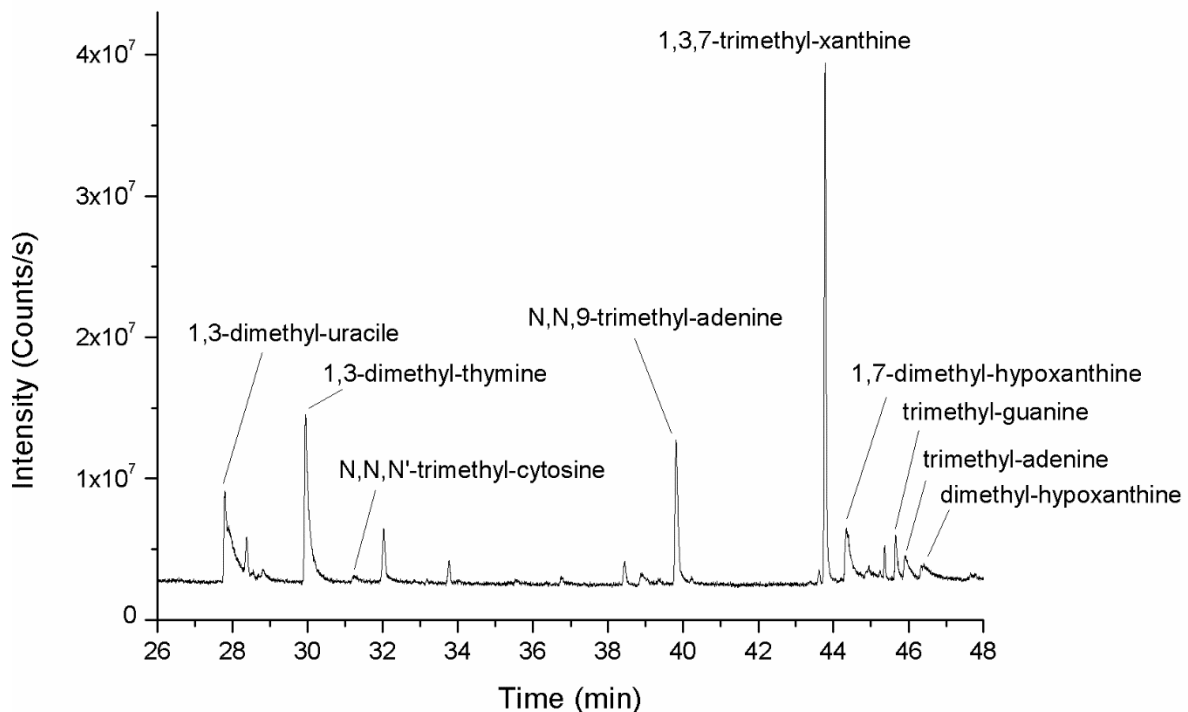


Figure 4-16 Chromatogramme obtenu par injection à 600°C des sept nucléobases dissoutes dans le TMAH.

TR (min)	Composé détecté	Composé mère
27,79	1,3-diméthyl-uracile	Uracile
29,94	1,3-diméthyl-thymine	Thymine
31,19	N,N,N'-triméthyl-cytosine	Cytosine
39,81	N,N,9-triméthyl-adénine	Adénine
43,78	1,3,7-triméthyl-xanthine (caféine)	Xanthine
44,34	1,7-diméthyl-hypoxanthine	Hypoxanthine
45,66	triméthyl-guanine	Guanine
45,91	triméthyl-adénine	Adénine
46,41	diméthyl-hypoxanthine	Hypoxanthine

Table 4-11 Ensemble des composé détectés après thermochimioolyse à 600°C du mélange des sept nucléobases et leurs molécules mères associées.

4.6. Conclusions du chapitre

Le protocole expérimental de thermochimioolyse au TMAH appliqué lors de cette étude a permis la méthylation et la détection des sept nucléobases analysées.

L'adénine, la thymine, l'uracile, la xanthine et l'hypoxanthine sont identifiables à faibles concentrations, inférieures à 0,3 nmol (le signal de l'hypoxanthine étant le plus faible). La guanine et la cytosine, ne sont détectables qu'à plus hautes concentrations (plusieurs nmol), ce qui s'explique dans le cas de la guanine par sa dégradation en xanthine, comme observé précédemment par (Glavin et al., 2006). La désamination oxydative de la guanine en xanthine peut par ailleurs entraîner des erreurs d'identification lors de la détection de ces molécules dans des échantillons inconnus. On soulignera la possibilité de détecter et d'identifier la guanine par thermochimioolyse, ce qui n'a pas été possible lors de la pyrolyse seule effectuée par (Basiuk and Douda, 1999), qui ont également montré la difficulté de détecter la cytosine avec des taux de récupération inférieurs à 1%. Il serait néanmoins intéressant de faire une étude quantitative afin de déterminer les limites de détection précises. En complément de nos analyses réalisées par injection des solutions dans le pyrolyseur, une étude similaire pourrait être faite avec dépôt de la solution sur une matrice minéralogique telle que celle de JSC-Mars-1 pour vérifier si cette dernière a un impact sur l'efficacité de la thermochimioolyse.

Comme pour la pyrolyse lors de l'étude de (Basiuk and Douda, 1999), la température optimale de thermochimioolyse des nucléobases est de 600°C, mais toutes, à l'exception de l'hypoxanthine, ont pu être détectées dès 400°C. 600°C est également la température optimale déterminée lors de l'optimisation des paramètres de thermochimioolyse réalisée sur l'analogue de régolithe martien JSC-Mars-1 dans le chapitre 3 de ce manuscrit. Nous avons montré dans le chapitre précédent que le TMAH subit une importante décomposition thermique au-delà de 600°C, il n'est donc pas pertinent de réaliser des tests à des températures supérieures.

Les nucléobases possédant une fonction amine primaire (-NH₂), à savoir l'adénine, la guanine et la cytosine, présentent un étalement des pics chromatographiques, d'autant plus important que la

quantité injectée est élevée, du fait de l'interaction du groupement amine avec la phase stationnaire de la colonne. Ce problème peut être résolu par l'utilisation d'une colonne spécifiquement adaptée aux amines (Rtx-5 Amine, Restek par exemple).

La présence du groupement $-NH_2$ induit également une tautomérisation de la molécule et multiplie donc le nombre de dérivés méthylés détectés pour chacune de ces bases azotées.

D'après les temps de rétentions relevés, de potentielles coélutions peuvent survenir lors d'études de mélanges de différentes nucléobases à hautes concentrations. Ceci est essentiellement dû à l'étalement des pics de la cytosine (entre 30 et 37 min environ), de la guanine (entre 30,5 et 32,2 min environ) et, dans une moindre mesure, l'adénine (vers 30,7 min). Le problème ne devrait néanmoins pas se poser dans le cas de faibles concentrations plus probables dans des échantillons naturels. On notera également le risque de coélution lié aux temps de rétention très proches de la diméthyl-uracile (RT = 20,40 min) et de la diméthyl-cytosine (RT = 20,33 min), mais un chauffage plus lent de la colonne permettra de mieux séparer tous les composés.

Toutes les bases azotées détectées ici ont des temps de rétention relativement élevés, compris dans l'intervalle entre 27 minutes et 47 minutes d'élution avec la programmation de température de la colonne utilisée ici (50°C pendant 5 min, puis 6°C.min⁻¹ jusqu'à 240°C puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 300°C maintenus 2min). Or, les instruments de vol SAM et MOMA sont limités à la fois en température maximale de la colonne (200°C à 50°C environ) et en durée d'analyse. Les composés ayant les temps de rétention les plus élevés seront donc difficiles à détecter *in situ*.

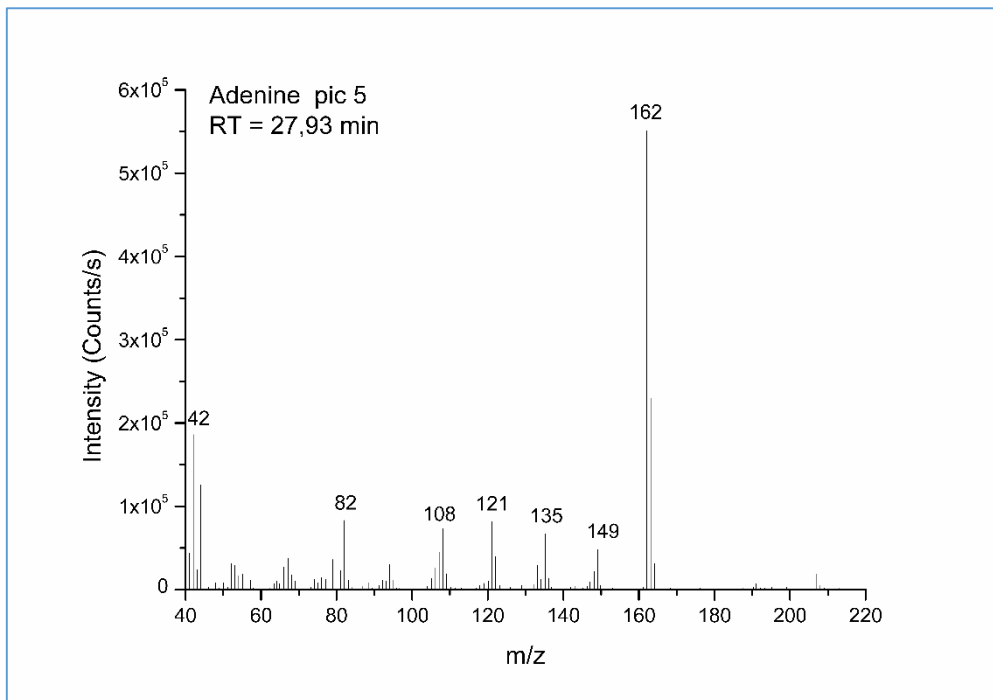
On notera enfin que de nombreux pics de siloxanes ont été détectés aux cours des analyses, notamment sur le premier quart d'heure d'acquisition. D'intensité élevée (>10⁹ coups.s⁻¹), ils témoignent d'une rapide dégradation de la colonne chromatographique due au caractère corrosif du TMAH. La dégradation de la phase stationnaire de la colonne liée à l'injection du TMAH est discutée dans la deuxième partie du chapitre 3. La dégradation thermique du septum situé au niveau de l'injecteur du CPG peut également être à l'origine de pics de siloxanes.

Bibliographie

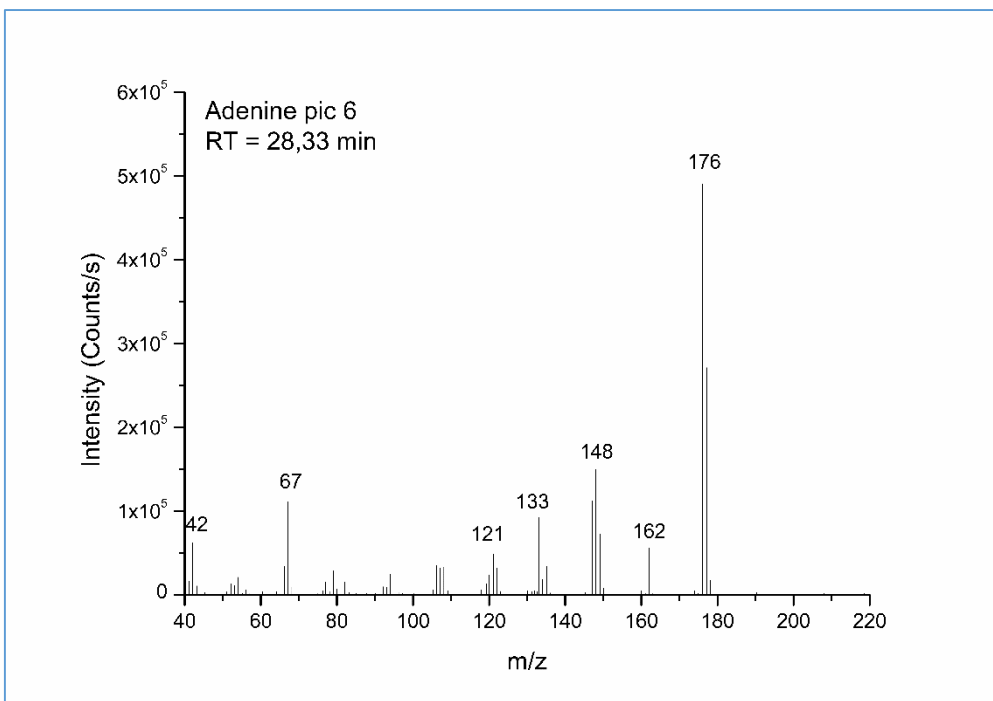
- Anders, E., 1989. Pre-biotic organic matter from comets and asteroids 342, 255. doi:10.1038/342255A0
- Basiuk, V.A., Doua, J., 1999. Pyrolysis of simple amino acids and nucleobases: survivability limits and implications for extraterrestrial delivery. *Planet. Space Sci.* 47, 577–584. doi:10.1016/S0032-0633(98)00136-6
- Bazsó, G., Tarczay, G., Fogarasi, G., Szalay, P.G., 2011. Tautomers of cytosine and their excited electronic states: a matrix isolation spectroscopic and quantum chemical study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 6799–807. doi:10.1039/c0cp02354j
- Botta, O., Bada, J.L., 2002. Extraterrestrial organic compounds in meteorites. *Surv. Geophys.* 23, 411–467. doi:10.1023/A:1020139302770
- Chyba, C., Sagan, C., 1992. Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature* 355, 125–32. doi:10.1038/355125a0
- Fonseca Guerra, C., Bickelhaupt, F.M., Sana, S., Wang, F., 2006. Adenine tautomers: Relative stabilities, ionization energies, and mismatch with cytosine. *J. Phys. Chem. A* 110, 4012–4020. doi:10.1021/jp057275r
- Glavin, D.P., Cleaves, H.J., Buch, A., Schubert, M., Aubrey, A., Bada, J.L., Mahaffy, P.R., 2006. Sublimation extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry: A new technique for future in situ analyses of purines and pyrimidines on Mars. *Planet. Space Sci.* 54, 1584–1591. doi:10.1016/j.pss.2005.12.023
- Gould, I.R., Vincent, M.A., Hillier, I.H., 1993. A theoretical study of the infrared spectra of guanine tautomers. *Spectrochim. Acta Part A* 49, 1727–1734. doi:10.1016/0584-8539(93)80240-B
- Hanus, M., Kabeláč, M., Rejnek, J., Ryjáček, F., Hobza, P., 2004. Correlated ab Initio Study of Nucleic Acid Bases and Their Tautomers in the Gas Phase, in a Microhydrated Environment, and in Aqueous Solution. Part 3. Adenine. *J. Phys. Chem. B* 108, 2087–2097. doi:10.1021/jp036090m
- Hayatsu, R., 1964. Orgueil Meteorite: Organic Nitrogen Contents. *Science* (80-.). 146, 1291–3. doi:10.1126/science.146.3649.1291
- Hayatsu, R., Studier, M.H., Moore, L.P., Anders, E., 1975. Purines and triazines in the Murchison meteorite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 39, 471–488.
- Hayatsu, R., Studier, M.H., Oda, A., Fuse, K., Anders, E., 1968. Origin of organic matter in early solar system - II. Nitrogen compounds. *Geochim. Cosmochim. Acta* 32, 175–190.
- Kushwaha, P.S., Kumar, A., Mishra, P.C., 2004. Electronic transitions of guanine tautomers, their stacked dimers, trimers and sodium complexes. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 60, 719–28.
- Martins, Z., Botta, O., Fogel, M.L., Sephton, M. a., Glavin, D.P., Watson, J.S., Dworkin, J.P., Schwartz, A.W., Ehrenfreund, P., 2008. Extraterrestrial nucleobases in the Murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* 270, 130–136. doi:10.1016/j.epsl.2008.03.026
- Rejnek, J., Hanus, M., Kabeláč, M., Ryjáček, F., Hobza, P., 2005. Correlated ab initio study of nucleic acid bases and their tautomers in the gas phase, in a microhydrated environment and in aqueous solution. Part 4. Uracil and thymine. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 7, 2006–17.
- Rueda, M., Luque, F.J., López, J.M., Orozco, M., 2001. Amino–Imino Tautomerism in Derivatives of Cytosine: Effect on Hydrogen-Bonding and Stacking Properties. *J. Phys. Chem. A* 105, 6575–6580. doi:10.1021/jp010838o

- Sephton, M.A., 2002. Organic compounds in carbonaceous meteorites. *Nat. Prod. Rep.* 19, 292–311. doi:10.1039/b103775g
- Snustad, D.P., Simmons, M.J., 2008. *Principles of Genetics*, 7th Edition. John Wiley & Sons.
- Stoks, P.G., Schwartz, A.W., 1979. Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature* 282, 709–710.
- Stoks, Schwartz, 1981. Nitrogen-heterocyclic compounds in meteorites: significance and mechanisms of formation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45, 563–569. doi:10.1016/0016-7037(81)90189-7
- Stribling, R., Miller, S.L., 1987. Energy yields for hydrogen cyanide and formaldehyde syntheses: The HCN and amino acid concentrations in the primitive ocean. *Orig. Life Evol. Biosph.* 17, 261–273. doi:10.1007/BF02386466
- Turanov, A.A., Lobanov, A. V., Fomenko, D.E., Morrison, H.G., Sogin, M.L., Klobutcher, L.A., Hatfield, D.L., Gladyshev, V.N., 2009. Genetic Code Supports Targeted Insertion of Two Amino Acids by One Codon. *Science* (80-.). 323.
- Van der Velden, W., Schwartz, A.W., 1977. Search for purines and pyrimidines in the Murchison meteorite. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 961–968. doi:10.1016/0016-7037(77)90155-7
- Watson, J.D., Crick, F.H.C., 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids. *Nature* 171, 737–738.

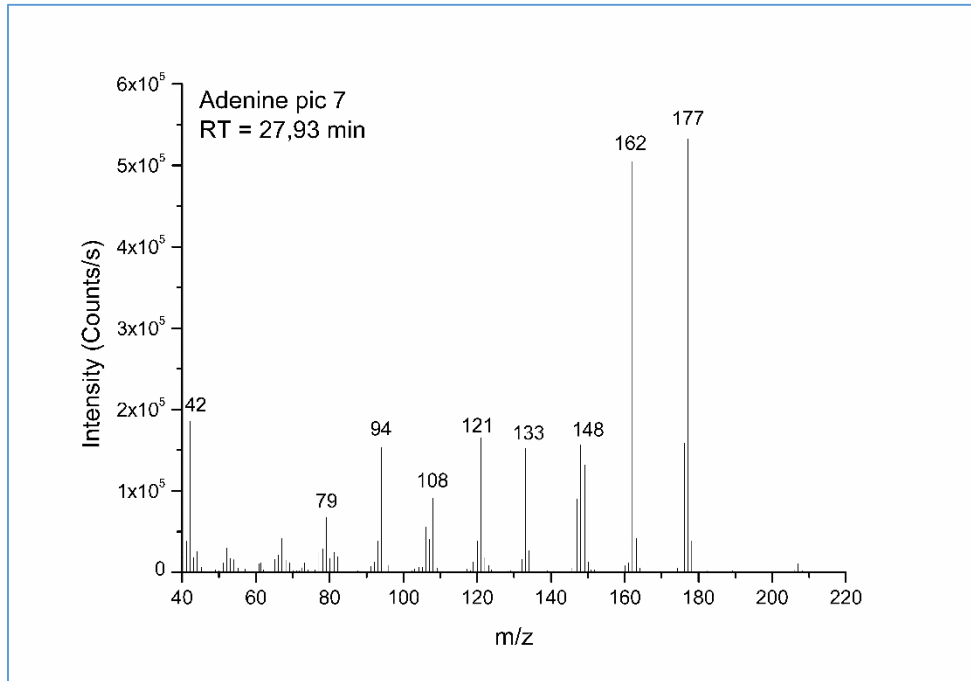
Annexes



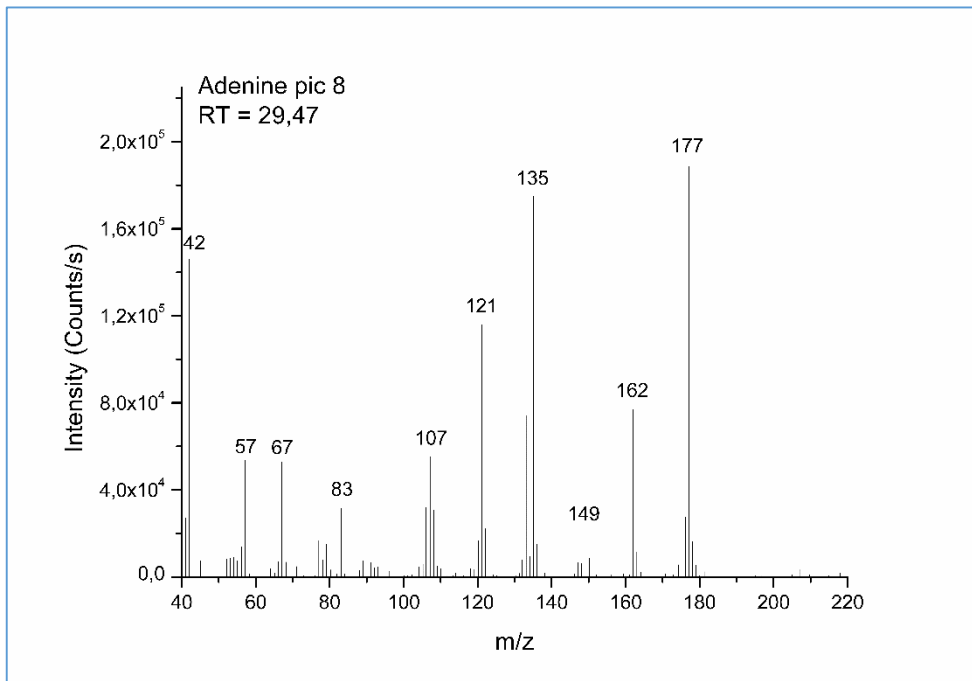
Annexe 4-1 Spectre de masse correspondant au pic 5 sur le chromatogramme obtenu après injection d'adénine méthylée. Le rapport m/z de 163 correspond à l'ion moléculaire de l'adénine diméthylée.



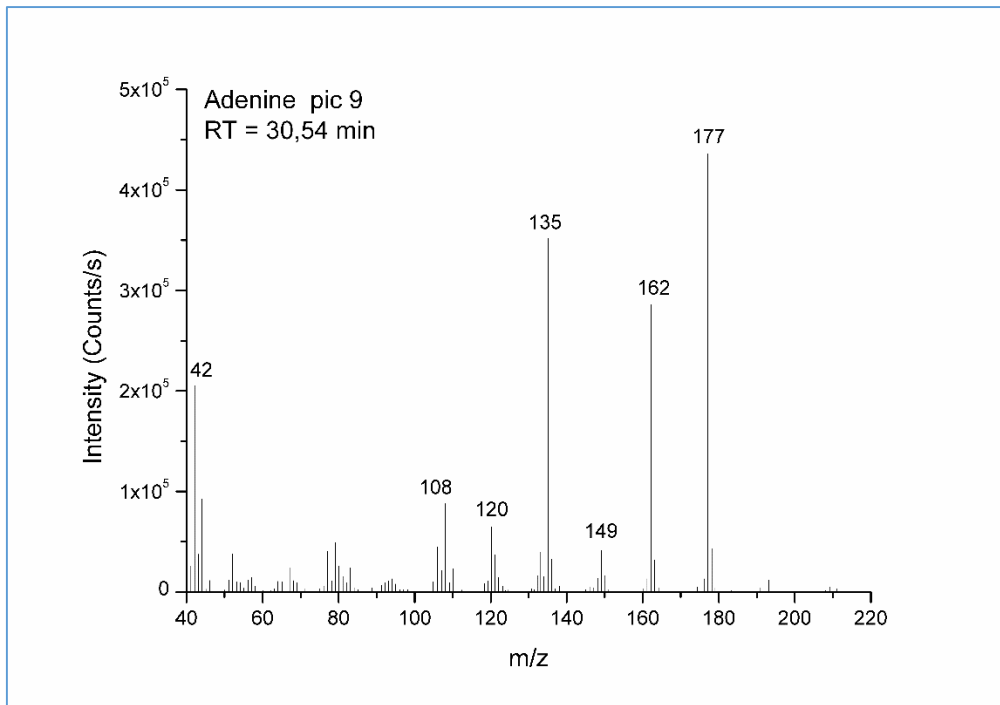
Annexe 4-2 Spectre de masse correspondant au pic 6 sur le chromatogramme obtenu après injection d'adénine méthylée. Le rapport m/z de 177 correspond à l'ion moléculaire de l'adénine triméthylée.



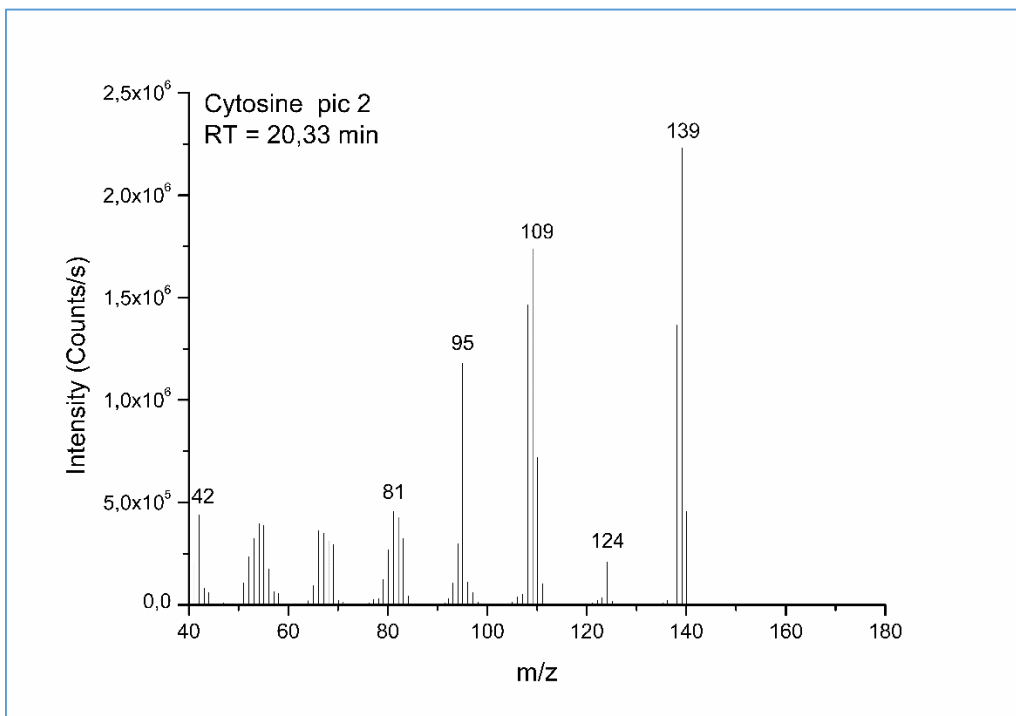
Annexe 4-3 Spectre de masse correspondant au pic 7 sur le chromatogramme obtenu après injection d'adénine méthylée. Le rapport m/z de 177 correspond à l'ion moléculaire de l'adénine triméthylée.



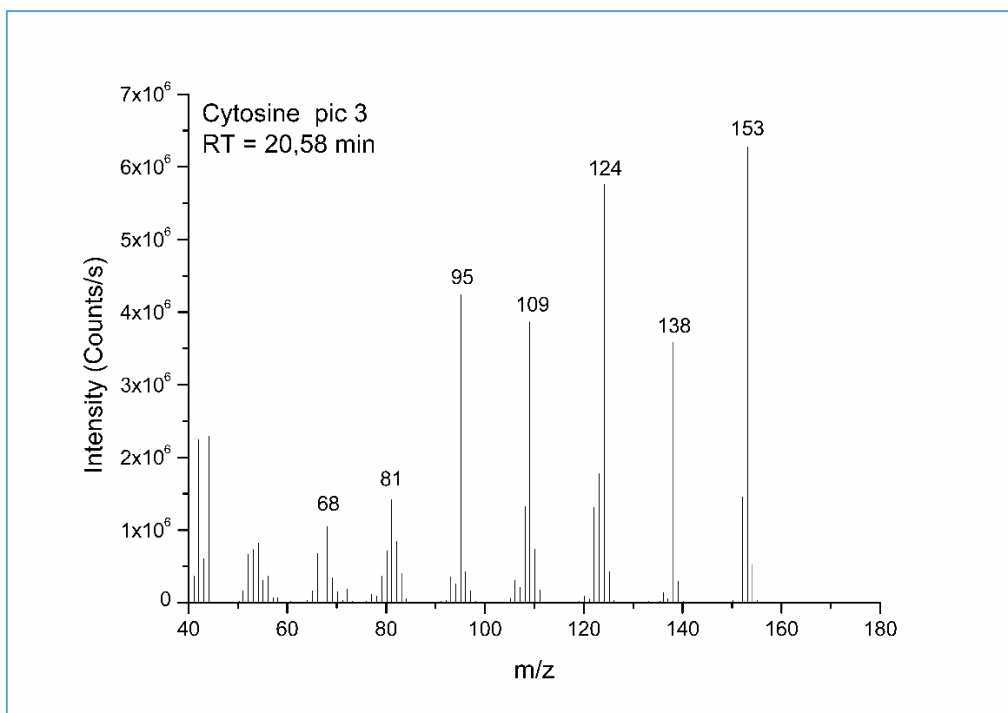
Annexe 4-4 Spectre de masse correspondant au pic 8 sur le chromatogramme obtenu après injection d'adénine méthylée. Le rapport m/z de 177 correspond à l'ion moléculaire de l'adénine triméthylée.



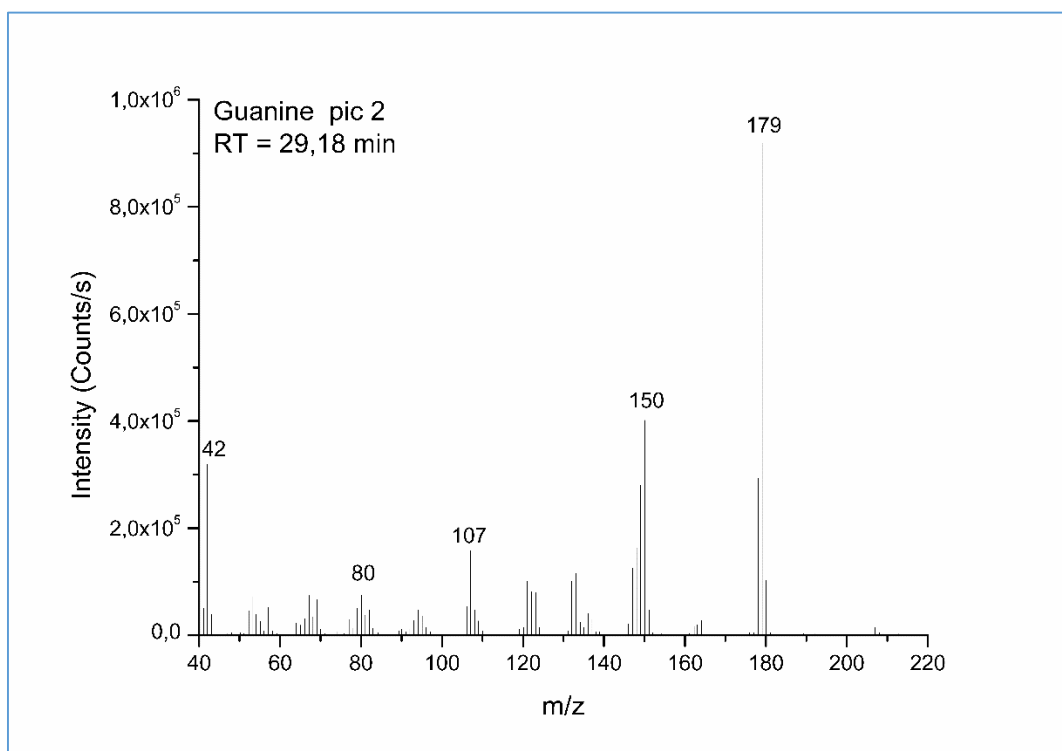
Annexe 4-5 Spectre de masse correspondant au pic 9 sur le chromatogramme obtenu après injection d'adénine méthylée. Le rapport m/z de 177 correspond à l'ion moléculaire de l'adénine triméthylée.



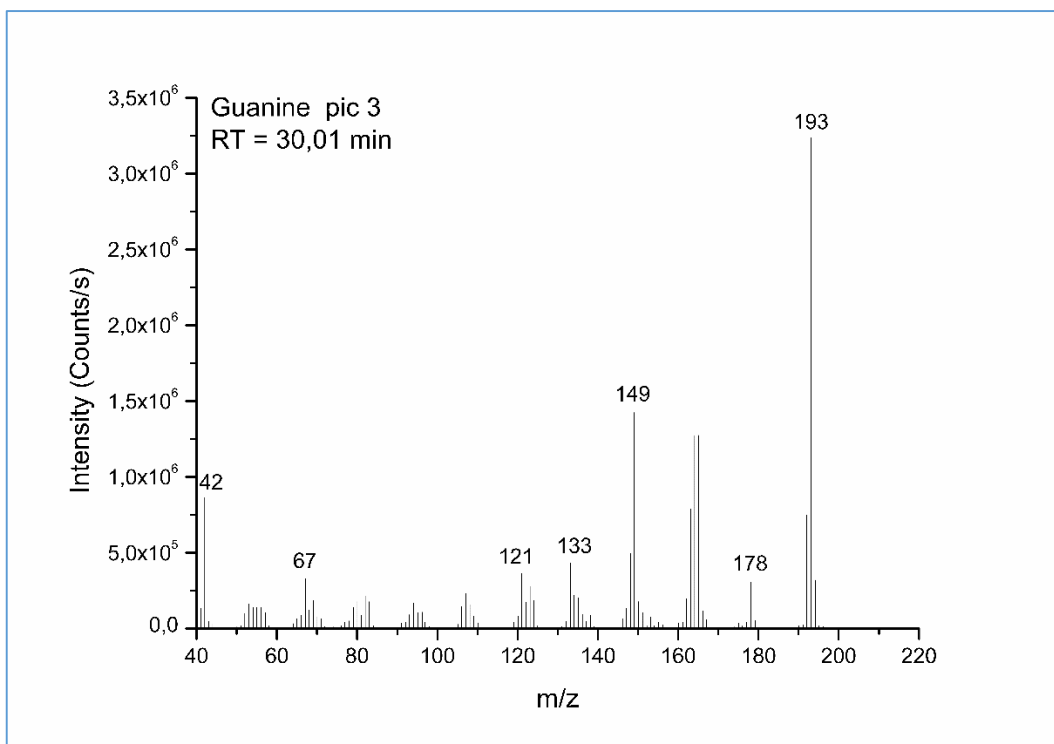
Annexe 4-6 Spectre de masse correspondant au pic 2 sur le chromatogramme obtenu après injection de cytosine méthylée. Le rapport m/z de 139 correspond à l'ion moléculaire de la cytosine diméthylée.



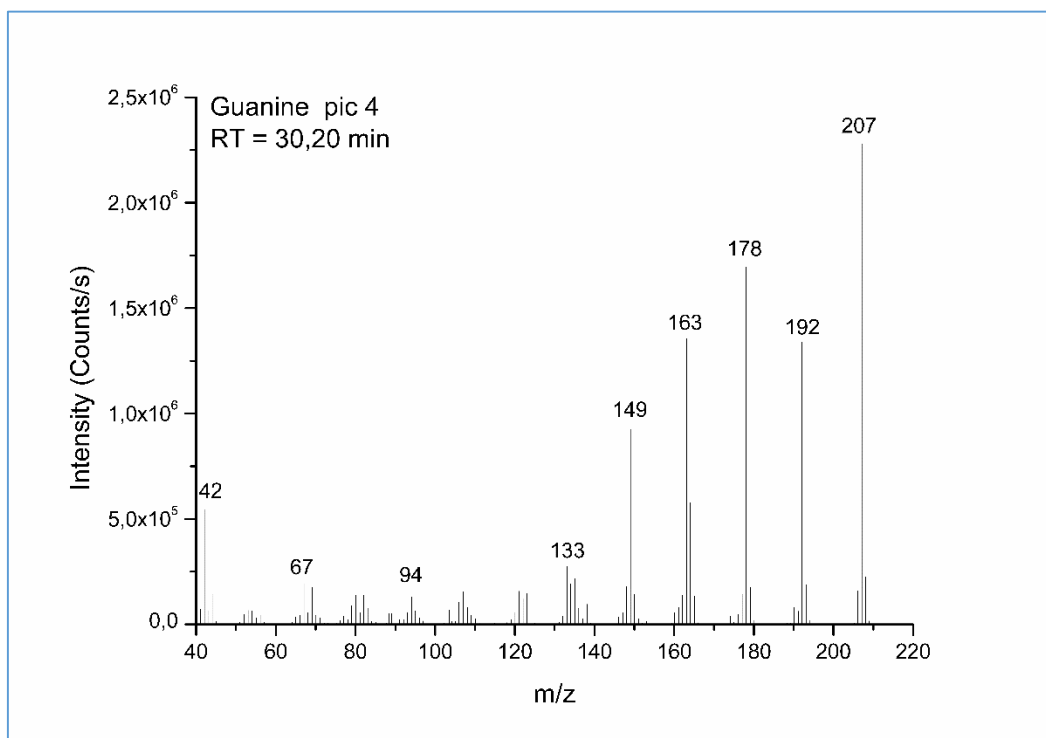
Annexe 4-7 Spectre de masse correspondant au pic 3 sur le chromatogramme obtenu après injection de cytosine méthylée. Le rapport m/z de 153 correspond à l'ion moléculaire de la cytosine triméthylée.



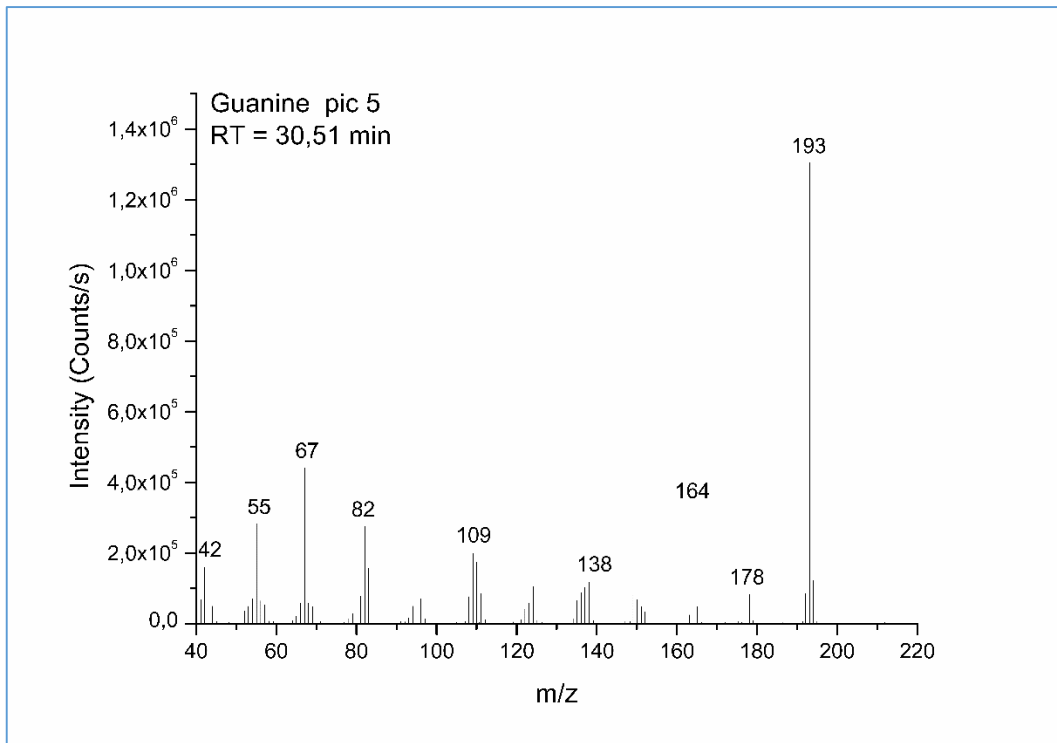
Annexe 4-8 Spectre de masse correspondant au pic 2 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 179 correspond à l'ion moléculaire de la guanine diméthylée.



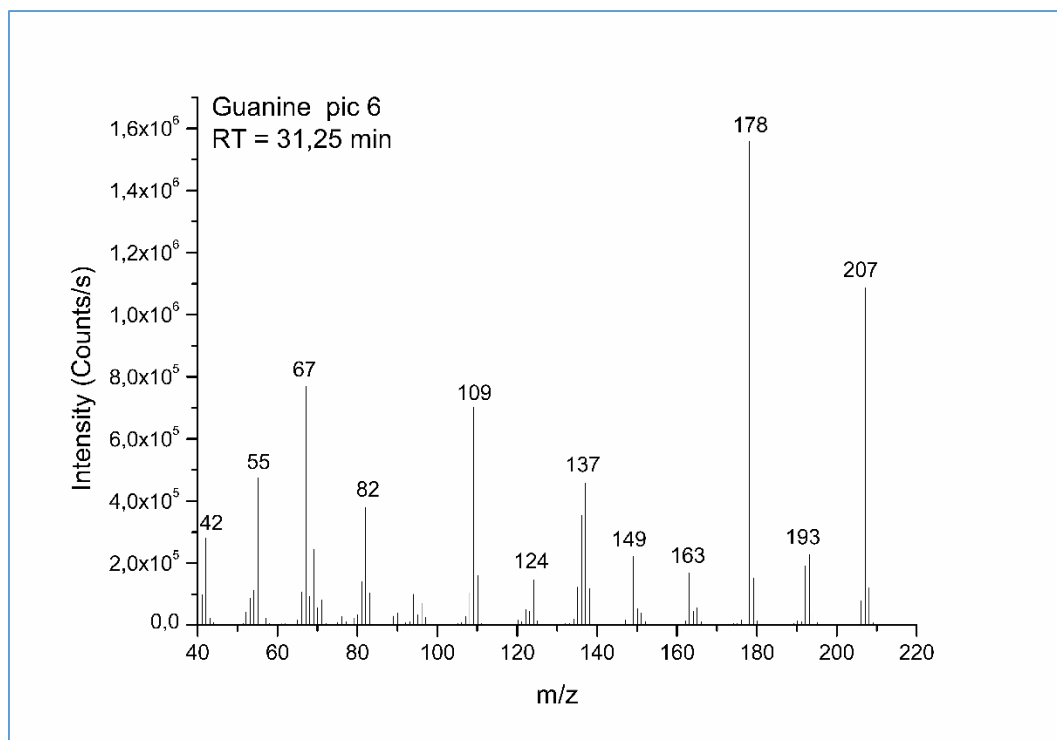
Annexe 4-9 Spectre de masse correspondant au pic 3 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 193 correspond à l'ion moléculaire de la guanine triméthylée.



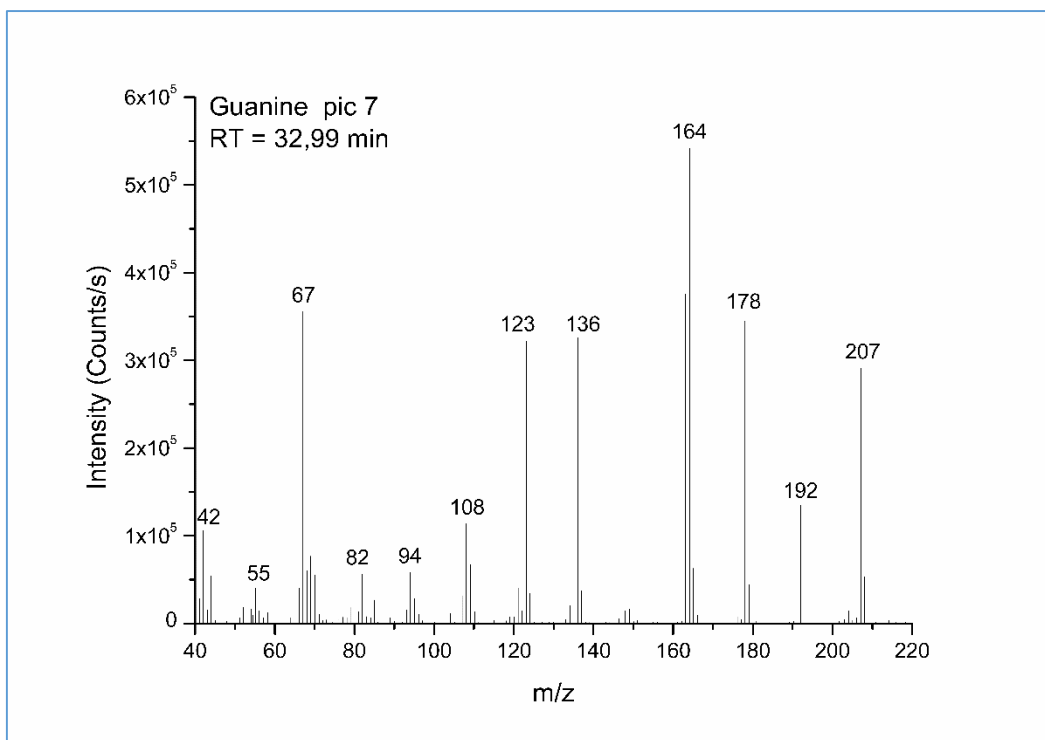
Annexe 4-10 Spectre de masse correspondant au pic 4 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 207 correspond à l'ion moléculaire de la guanine tétraméthylée.



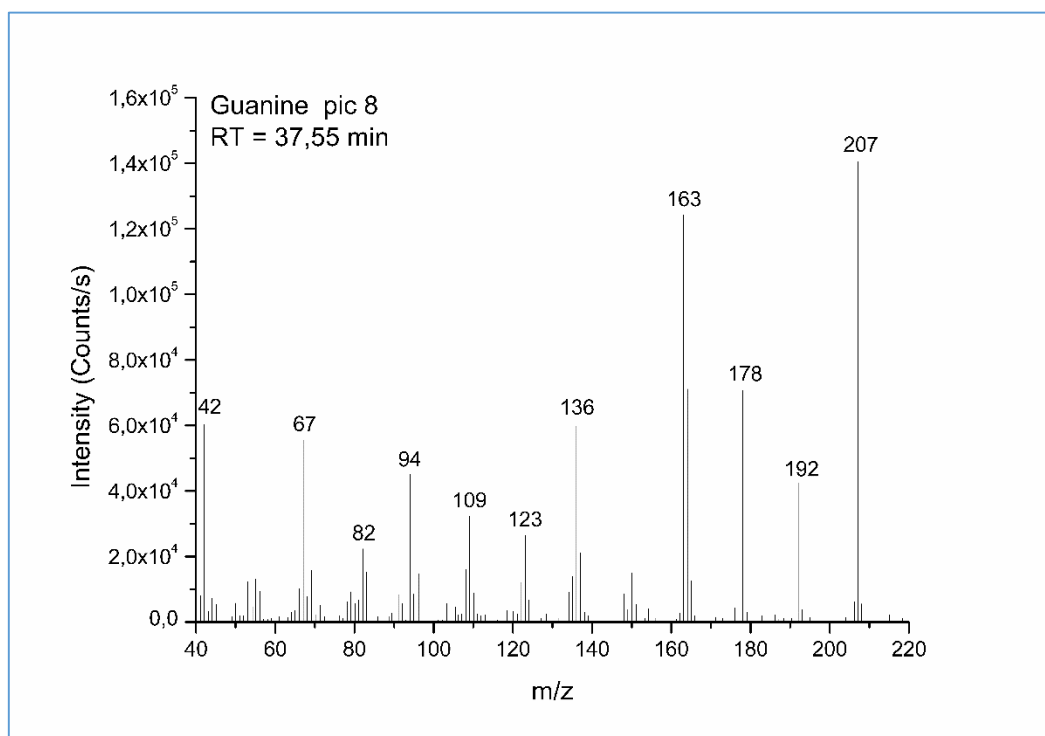
Annexe 4-11 Spectre de masse correspondant au pic 5 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 193 correspond à l'ion moléculaire de la guanine triméthylée.



Annexe 4-12 Spectre de masse correspondant au pic 6 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 207 correspond à l'ion moléculaire de la guanine tétraméthylée.



Annexe 4-13 Spectre de masse correspondant au pic 7 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 207 correspond à l'ion moléculaire de la guanine tétraméthylée.



Annexe 4-14 Spectre de masse correspondant au pic 8 sur le chromatogramme obtenu après injection de guanine méthylée. Le rapport m/z de 207 correspond à l'ion moléculaire de la guanine tétraméthylée.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est un outil puissant, maintes fois spatialisé, qui permet la séparation, la détection et l'identification d'un large spectre de composés organiques, volatils ou volatilisables. Ces composés peuvent être d'intérêt majeur pour la recherche de traces de vie présente ou passée sur des objets extraterrestres et peuvent nous permettre une meilleure compréhension de la chimie organique dans l'univers. Le couplage de la CPG-SM avec un pyrolyseur (Pyr-CPG-SM) rend possible l'analyse d'échantillons solides tels que les sols et les poussières. On a ainsi accès, après dégradation pyrolytique, à des composés réfractaires. Quand cela est possible, et pour éviter cette dégradation, des expériences de chimie humide – dérivatisation et thermochimiolyse – sont mises en œuvre. Elles permettent d'améliorer l'efficacité aussi bien que la détection et que l'identification en rendant les molécules réfractaires plus volatiles et en protégeant de la dégradation thermique les groupements fonctionnels les plus fragiles. Bien qu'utilisées de manière courante en laboratoire et déjà spatialisées, ces techniques et en particulier la thermochimiolyse, doivent être optimisées pour fournir les meilleurs résultats possibles malgré toutes les contraintes qu'imposent les analyses *in situ*. Il est d'ailleurs important de noter que, malgré le fait que l'expérience SAM ait embauché de la thermochimiolyse (TMAH) à son bord, aucune analyse avec le TMAH n'a pour l'instant été effectuée.

De plus, les tests en laboratoire menés sur des analogues dans des conditions analytiques similaires à celles utilisées *in situ* aident grandement à l'interprétation des données obtenues avec les instruments spatiaux et c'est en particulier le cas des analyses en pyrolyse.

La première partie de cette étude a été consacrée à l'analyse par Pyr-CPG-SM d'analogues d'aérosols organiques de Titan nommés tholins. Nous avons produit en laboratoire trois types d'analogues avec le réacteur PAMPRE à partir de mélanges gazeux contenant 2%, 5% et 10% de méthane dans de l'azote. Nous avons ensuite étudié deux paramètres principaux : la température de pyrolyse et l'influence du taux de méthane utilisé au cours de la synthèse des tholins sur leur composition moléculaire. La pyrolyse des trois types de tholins et l'utilisation de deux colonnes chromatographiques complémentaires a permis d'identifier une centaine de molécules, dont des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, des nitriles et des hétérocycles azotés. La comparaison des pyrogrammes des différents tholins a mis en évidence une signature principale, commune aux trois échantillons, et constituée de nitriles et d'éthylène. Les tholins synthétisés à partir d'un taux de méthane élevé (10%) présentent cependant une plus grande richesse en chaînes hydrocarbonées. Un taux de méthane faible facilite l'incorporation de l'azote et conduit à la formation de tholins riches en composés poly-azotés. L'étude semi-quantitative réalisée sur les nitriles a montré que la quantité de molécules libérées augmente linéairement jusqu'à 500°C. Le plus grand nombre de composés a été détecté à 600°C, mais nous avons également montré qu'à cette température de nombreux artefacts de pyrolyse se formaient par dégradation thermique et craquage des molécules. Pour limiter la formation de ces artefacts tout en détectant le plus grand nombre possible de composés, la pyrolyse à 500°C semble être le meilleur compromis. L'expérience ACP à bord de la sonde Huygens, qui a effectué une descente dans l'atmosphère de Titan en 2005, a effectué une pyrolyse à 600°C pour l'analyse CPG-SM de molécules constitutives des aérosols de Titan. L'importance de la signature des nitriles issus de nos échantillons est cohérente avec la détection de cyanure d'hydrogène par ACP dans les aérosols de Titan, et suggère qu'une signature de nitriles similaire aurait probablement été

enregistrée par ACP si l'expérience avait parfaitement fonctionné, bien que le taux de composés aromatiques (issus de la dégradation thermique d'autres molécules) puisse être surestimé à 600°C.

La Pyr-CPG-SM étant sensible à l'évolution chimique, nous avons montré qu'elle pourrait être un outil pertinent pour de futures mesures de l'évolution chimique des aérosols dans l'atmosphère de Titan, y compris pour des analyses semi-quantitatives du contenu en nitriles.

Le second objet auquel nous nous sommes intéressés est Mars, avec une application de la technique CPG-SM à l'analyse *in situ* du contenu organique du sol martien. Jusqu'à présent, les analyses CPG-SM *in situ* du sol de Mars, assistées de pyrolyse ou de dérivatisation chimique au MTBSTFA, ont déjà permis la détection de traces de matière organique avec l'identification d'hydrocarbures chlorés. La thermochimioolyse en présence de TMAH permettra d'allier la pyrolyse et la dérivatisation, en rendant possible le chauffage à température élevée (supérieure à 400°C), ce que le MTBSTFA ne permet pas, tout en protégeant par méthylation les groupements fonctionnels de la dégradation thermique. L'objectif du travail réalisé était (i) d'optimiser les paramètres de la thermochimioolyse – en particulier la température et le temps de contact entre le sol et le TMAH – en se plaçant dans des conditions les plus proches possibles de l'analyse *in situ*, notamment en terme de quantités d'analytes, et (ii) d'établir une première bibliothèque des molécules cibles non encore étudiées en thermochimioolyse.

Pour les tests d'optimisation, nous avons choisi un analogue terrestre du régolithe martien nommé JSC-Mars-1.

Nous avons en premier lieu étudié la stabilité thermique du TMAH. Nous avons alors identifié ses produits de décomposition thermique à différentes températures et nous avons montré que la température de thermochimioolyse ne doit pas dépasser 600°C, faute de quoi le TMAH subit une importante dégradation qui impactera directement l'efficacité de la thermochimioolyse.

Nos analyses montrent que la température optimale de thermochimioolyse est de 600°C, le nombre maximal de molécules étant détecté à cette température. On soulignera toutefois, comme dans le cas de la pyrolyse des tholins, qu'au-delà de 500°C, il existe un important risque de dégrader thermiquement la matière organique et de former des artéfacts de pyrolyse tels que les composés aromatiques issus de la décomposition et de recombinaisons d'autres molécules. Le contenu des échantillons en hydrocarbures aromatiques peut donc être surestimé lors du chauffage des échantillons à haute température. Une extraction solide-liquide par un solvant apolaire suivie d'une analyse CPG-SM serait utile pour caractériser le contenu de l'échantillon en molécules aromatiques et quantifier ainsi la part de molécules formées au cours de la thermochimioolyse.

L'utilisation du naphthalène deutéré comme étalon interne nous a permis de réaliser une étude semi-quantitative sur les méthyl-esters d'acides gras détectés dans JSC-Mars-1. Cette étude montre que les quantités maximales de cette famille de molécules cibles sont détectées à 600°C, ce qui assoit cette température comme optimale pour la thermochimioolyse d'échantillons de sol.

L'étude du temps de contact entre JSC-Mars-1 et le TMAH a été réalisée à température ambiante pour l'instrument SAM (où le sol martien est inséré à froid dans le récipient contenant le TMAH) et à 300°C pour l'instrument MOMA (où le contact se fera à température égale ou supérieure à 300°C). L'échantillon est ensuite chauffé à 400°C pour l'analyse CPG-SM. A 300°C, le temps de contact n'a pas d'influence sur l'efficacité de l'extraction pour des durées de contact comprises entre 5 et 20 minutes. Des tests devraient être cependant réalisés avec des temps inférieurs à 5 minutes. A température ambiante, l'extraction maximale est atteinte après 5 minutes de contact. Puisque nous

avons montré que la température optimale de thermochimioolyse est de 600°C, il serait utile de compléter l'étude du temps de contact avec des injections à 600°C et non plus 400°C.

Nous avons en parallèle réalisé une analyse du contenu organique de JSC-Mars-1 par extraction solide-liquide et dérivatisation au MTBSTFA et comparé qualitativement les résultats obtenus avec ceux de la thermochimioolyse de JSC-Mars-1. Les résultats ont montré la complémentarité des deux techniques : la thermochimioolyse permet l'extraction et la détection d'un nombre total de molécules très supérieur, mais l'extraction et dérivatisation au MTBSTFA sont plus performantes pour l'analyse d'acides aminés et d'acides carboxyliques, les acides aminés étant difficilement accessible via la technique de thermochimioolyse.

Dans le dernier chapitre nous avons contribué à établir une bibliothèque de composés dérivatisés par le TMAH. Cette base de données pourra être utilisée à la fois par SAM et par MOMA. Dans ce chapitre nous nous sommes focalisés sur une famille spécifique de molécules : les nucléobases. A l'instar des acides aminés qui constituent les protéines, les nucléobases sont particulièrement ciblées lors de la recherche de matière organique sur Mars, du fait de leur important rôle chez le vivant, notamment en tant que constituants des acides nucléiques. Nous avons donc souhaité vérifier s'il est possible de détecter toutes ou certaines nucléobases par thermochimioolyse, déterminer leur température optimale d'analyse et identifier leur signature (méthylations possibles, produits de décomposition thermique) et ainsi faciliter leur identification *in situ*. Nous avons utilisé des solutions individuelles de standards analytiques d'adénine, thymine, uracile, cytosine, guanine, xanthine et hypoxanthine diluées dans du TMAH à différentes concentrations. Ces solutions ont ensuite été injectées dans le pyrolyseur et analysés en CPG-SM. Les résultats montrent que la guanine et la cytosine nécessitent plusieurs nanomoles pour être détectables, tandis que les cinq autres molécules peuvent être détectées dans des quantités plus faibles (< 0,3nmol). La guanine se décompose en xanthine, ce qui la rend difficile à détecter et peut entraîner des erreurs d'identification, les deux bases azotées pouvant être confondues. Il serait utile de poursuivre ce travail en réalisant une étude quantitative, afin de déterminer les limites de détection précises de chaque nucléobase. Hormis l'hypoxanthine, les nucléobases ont toutes pu être détectées dès 400°C, avec une intensité de pic chromatographique croissante lorsque la température augmente jusqu'à 600°C. La température optimale de thermochimioolyse des nucléobases est donc 600°C, identique à celle déterminée sur le contenu organique de JSC-Mars-1.

Nous avons observé un important étalement des pics chromatographiques pour les nucléobases possédant une fonction amine primaire (-NH₂), à savoir l'adénine, la guanine et la cytosine. Ce problème est dû à l'interaction du groupement amine avec la phase stationnaire de la colonne et peut être résolu par l'utilisation d'une colonne spécifiquement adaptée aux amines (Rtx-5 Amine, Restek par exemple). La présence du groupement -NH₂ induit également une tautomérisation de type imine-énamine de la molécule et multiplie donc le nombre de dérivés méthylés détectés pour chacune de ces bases azotées.

Enfin, on notera les temps de rétention relativement longs (compris entre 27 minutes et 47 minutes) de toutes les bases azotées analysés. Les instruments de vol SAM-GCMS et MOMA-GCMS sont limités à la fois en température maximale de la colonne et en durée d'analyse. Il est possible que les nucléobases avec les durées d'élution les plus longues (guanine, hypoxanthine, xanthine, ...) ne puissent donc pas être détectées *in situ* du fait des contraintes sur les conditions analytiques.

Titre : Optimisation des techniques de pyrolyse et de thermochemiolyse pour la recherche de matière organique d'origine extraterrestre : application aux cas de Titan et Mars

Mots clés : Pyrolyse, TMAH, CPG-SM, Mars, Titan, matière organique

Résumé : La compréhension de la chimie prébiotique et la recherche de matière organique d'origine extraterrestre qui lui est associée sont parmi les thématiques fortes de la branche de l'astrobiologie qui concerne notamment la recherche de traces de vie dans notre Système Solaire. C'est avec cet objectif que nous nous sommes intéressés à deux objets du Système Solaire : le satellite saturnien Titan, pour ses aérosols organiques, et Mars, pour son habitabilité avérée et la recherche de matière organique *in situ*. A ces fins, nous avons mis en œuvre deux techniques permettant d'étudier la matière organique de ces objets : la simulation expérimentale qui permet de reproduire en laboratoire des conditions environnementale extraterrestres et la préparation d'analyse *in situ* grâce à des laboratoires entièrement automatisés implémentés sur des véhicules mobiles, à savoir les rovers Curiosity/MSL actuellement en activité à la surface de Mars et le futur rover Pasteur de la mission ExoMars. La première partie de cette étude est ainsi consacrée à la simulation expérimentale appliquée à l'étude des aérosols organiques de Titan. Nous avons synthétisé en laboratoire des analogues (tholins) de ces aérosols, puis nous avons étudié

leur composition moléculaire par pyrolyse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Pyr-GC-MS). Nous avons tout particulièrement investigué l'influence de la composition du mélange gazeux permettant la synthèse de nos tholins (taux de méthane dans du diazote) sur leur composition moléculaire. Une étude systématique par Pyr-GC-MS nous a permis d'estimer les conditions optimales d'analyse dont la température de pyrolyse. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'analyse *in situ* du sol martien par les instruments SAM-GC-MS et MOMA-GC-MS à bord du rover Curiosity et du futur rover Pasteur respectivement. Ces deux instruments ont la possibilité de mettre en œuvre des techniques de prétraitements des échantillons par chimie humide (dérivatisation) pour faciliter l'extraction, la volatilisation, la préservation et l'identification de la matière organique présente dans le sol martien. Parmi ces techniques, nous avons optimisé les conditions analytiques de la thermochemiolyse en présence de TMAH sur un sol analogue du sol martien pour assurer le succès des futures analyses *in situ* du sol de Mars par les instruments SAM et MOMA.

Title : Optimization of pyrolysis and thermochemolysis techniques for the search for organic matter of extraterrestrial origin: application to the Titan and Mars cases

Keywords : Pyrolysis, TMAH, GC-MS, Mars, Titan, organic matter

Abstract: The understanding of prebiotic chemistry, and the search for organic matter of extraterrestrial origin associated with it, are among the strong themes of the astrobiology branch, which concerns in particular the search for traces of life in our Solar System. It is with this objective in mind that we have taken an interest in two objects of the Solar System: the Saturn satellite Titan, for its organic aerosols, and Mars, for its proven habitability and research of organic matter *in situ*. To this end, we have implemented two techniques to study the organic matter of these objects: experimental simulation, which allows the reproduction of extraterrestrial environmental conditions in the laboratory, and preparation of *in situ* analysis thanks to fully automated laboratories implemented on the Curiosity/MSL rover currently in operation on the surface of Mars, and the future Pasteur rover of the ExoMars mission. The first part of this study is thus devoted to the experimental simulation applied to the study of organic aerosols from Titan. We synthesized analogs (tholins) of these aerosols in the laboratory, then studied their molecular composition by pyrolysis and gas

chromatography coupled to mass spectrometry (Pyr-GC-MS). We investigated in particular the influence of the composition of the gas mixture allowing the synthesis of our tholins (methane content in nitrogen) on their molecular composition. A systematic study by Pyr-GC-MS allowed us to estimate the optimal conditions of analysis including pyrolysis temperature. In a second phase, we were interested in the *in situ* analysis of the Martian soil by the SAM-GC-MS and MOMA-GC-MS instruments aboard the Curiosity rover and the future Pasteur rover respectively. These two instruments have the possibility of using wet chemistry (derivatization) techniques to pre-treat samples to facilitate extraction, volatilization, preservation and identification of the organic matter present in the Martian soil. Among these techniques, we have optimized the analytical conditions of thermochemolysis in the presence of TMAH on a terrestrial analog of the Martian soil to ensure the success of future *in situ* analyses of the Mars soil by the SAM and MOMA instruments.

