

# Préparer sur Terre la recherche des traces de vie sur les planètes

## L'utilisation des spectromètres Raman miniaturisés

Jan Jehlička et Adam Culka

<b>Résumé</b>	Les spectromètres Raman portables et légers permettent aujourd'hui d'obtenir des spectres Raman de bonne qualité dans des conditions de laboratoire et extérieures. Les données obtenues ainsi peuvent servir à identifier les phases minérales et organiques d'une grande importance dans plusieurs domaines, y compris la géoscience, la recherche planétaire et le patrimoine culturel. L'expérience pratique acquise dans des conditions de terrain complexes dans le cadre des colonisations extrêmophiles des séries évaporitiques et des endolithes est importante pour le déploiement futur d'instruments miniatures sous conditions martiennes.
<b>Mots-clés</b>	<b>Spectromètres Raman portables, miniaturisation, minéraux, biomarqueurs, applications planétaires, exobiologie.</b>
<b>Abstract</b>	<b>Preparing on Earth the search for traces of life on the planets: the use of miniature Raman spectrometers</b> Miniature handheld portable and lightweight Raman spectrometers allow nowadays to obtain good quality Raman spectra under indoors and outdoors conditions. Such a data can serve to identify mineral and organic phases which are of high importance in several areas including geoscience, planetary research as well as cultural heritage. Practical experience obtained under complex field conditions in the frame of extremophiles colonisations (i.e. evaporitic series and endoliths) is important for future deployment of miniature instruments under Martian conditions.
<b>Keywords</b>	<b>Portable Raman spectrometers, miniaturization, minerals, biomarkers, planetary applications, exobiology.</b>

L'une des méthodes modernes de détermination rapide et non destructive des minéraux et composés organiques est la microspectrométrie Raman. L'analyse directe et l'identification de phases minérales et organiques sont aujourd'hui possibles avec des instruments Raman portatifs, de plus en plus légers et petits. Ces spectromètres sont le plus souvent équipés de diodes laser rouges (785 nm) ou plus récemment vertes (532 ou 514 nm), et leurs performances techniques (maniabilité, compacité, autonomie) et spectroscopiques (résolution) permettent un travail analytique commode et une identification rapide sur le terrain (*figure 1*) [1-3].

De tels instruments très miniaturisés seront prochainement utilisés dans le cadre de projets ayant pour but l'obtention d'une meilleure connaissance des surfaces des planètes ou de leurs satellites. Ils sont également considérés en exobiologie, c'est-à-dire dans ce domaine où les chercheurs essaient de trouver des traces de vie (existante ou éteinte) hors de la Terre [3-4]. Nous montrons ici comment ces applications peuvent être préparées avant même de s'envoler vers Mars, Vénus, Europa ou ailleurs. Pour cela, les instruments miniatures du marché – plusieurs marques se spécialisant dans ce secteur (DeltaNu, Thermo Fisher, Rigaku, Bruker...) – sont testés en comparaison des prototypes développés pour les agences ESA et NASA [5].

### Identification sur le terrain de minéraux

Comment reconnaître un minéral sur le terrain ? Les minéralogistes d'hier, les amateurs, collectionneurs, le savent

bien. Diverses techniques de diffraction des rayonnements électromagnétiques sont couramment utilisées par les minéralogistes professionnels pour identifier d'une manière précise les phases minérales en fonction des questions posées. Il peut s'agir de déterminer les phases mineures de poudres et la diffractométrie par rayons X sera alors suffisante. Dans ces domaines, la microspectrométrie Raman va montrer beaucoup d'avantages pratiques, comme celui d'être un mode d'analyse non destructif et permettant l'obtention très rapide de résultats, en particulier d'identifier d'un seul coup les traces organiques et la composition d'une matrice minérale. Ces avantages ont été très bien accueillis dès son invention au LASIR et la commercialisation dans les années 1970 de la microsonde Raman la MOLE (« molecular optics laser examiner »), utilisée avec grand succès (voir l'article sur le laboratoire mobile au chevet des œuvres d'art p. 82 [6]).

Peut-on imaginer que des instruments miniatures – des minispectromètres Raman – pourront un jour nous livrer des informations valables concernant la composition précise de la surface des planètes ? Pourrons-nous prochainement obtenir rapidement des signatures d'une présence potentielle de molécules organiques ou même de biomarqueurs, pourquoi pas quelques mètres sous la surface de Mars ? Comment tirer avantage des possibilités analytiques ainsi que d'une miniaturisation encore plus forte des instruments ? En fait, il y a des domaines où cette technique peut déjà être utilisée, à savoir l'identification de minéraux et la détection de biomarqueurs.



Figure 1 - L'instrumentation portable : spectromètres Raman et leur utilisation pour : (A) l'identification de phases minérales au sein d'affleurements superficiels de charbons (Thermo Fisher, 785 nm) ; (B) la recherche de silicates dans les sédiments (Bravo, Bruker) ; (C) l'étude d'altération de sulfates (DeltaNu, 785 nm) ; (D) un test de stabilité d'instrumentation Raman dans des conditions de haute montagne, à 3 200 m, -24 °C (Ahura, 785 nm) ; (E) la détection de sulfates en croûtes superficielles (Rigaku, 532 nm) ; (F) l'étude de distribution de pigments d'algues psychrophiles (Rigaku, 532 nm).

## Les missions planétaires

L'Agence spatiale européenne (ESA) a annoncé l'utilisation future d'un spectromètre Raman dans le cadre du paquet du protocole analytique Pasteur consacré à la détection de traces de vie. Celui-ci fera partie de la mission ExoMars II (2020) du programme Aurora. Ce programme très ambitieux propose d'étudier le système solaire et de préparer des missions exploratoires de la Lune ou de Mars. Le rover ExoMars II va ainsi être équipé de moyens permettant une excellente visualisation et cartographie d'objets afin d'obtenir des détails importants de texture et de signatures morphologiques ou biologiques (PanCam). Il comprendra un mécanisme de forage capable de pénétrer 2 m en dessous de la régolite de la surface martienne dans le but de pouvoir accéder à des niches potentielles ou des assemblages moléculaires originaux où des traces de vie auraient eu plus de chances d'être conservées. Cette instrumentation va permettre, pour la première fois, de se pencher sur la détection de minéraux, biominéraux et molécules biologiques témoins d'une vie planétaire éteinte ou encore existante.

Les archives géologiques terrestres suggèrent que les microorganismes autotrophes simples sont apparus sur la Terre au cours d'une période remontant de 3,5 à 3,8 milliards d'années. Il existe maintenant de nombreuses preuves que les planètes Terre et Mars primitives étaient très similaires dans leur composition physico-chimique. Mars est nettement plus petite que la Terre et il est très probable que le refroidissement planétaire y a eu lieu plus rapidement et que Mars

a été en mesure de maintenir un environnement aqueux sur sa surface plus tôt que cela a été possible sur la Terre. McKay a énoncé l'hypothèse qu'au cours de la période nommée Epoch I de Mars (il y a environ de 4,65 à 3 milliards d'années), la planète était probablement plus tempérée et humide, et il y a des preuves géologiques claires que la vie avait déjà commencé sur la Terre au cours de cette période (figure 2). Il semble donc raisonnable de penser que la vie ait pu également commencer sur Mars. Dans le cadre d'Epoch IV, il y a environ 1,5 milliards d'années, des changements catastrophiques survenus sur Mars auraient compromis la survie des organismes sur la surface de la planète ; et il est possible que des analogues martiens des extrémophiles terrestres aient été les derniers survivants de la vie sur Mars, grâce à leur adaptation à l'environnement dans des niches géologiques martiennes. On suppose que Mars pourrait avoir conservé des traces chimiques du début de la vie dans les roches de l'ère Noachian, ère martienne qui chevauche l'histoire géologique Archéen terrestre, il y a environ 3,8 milliards d'années.

## L'entraînement sur Terre

La recherche de la vie éteinte ou existante sur Mars doit donc se centrer sur l'identification et la reconnaissance de niches géologiques spécialement protégées dans lesquelles les signatures biomoléculaires seraient conservées. L'approche fondamentale doit alors envisager la détection de biomarqueurs, probablement dans les roches et certainement au sein d'assemblages souterrains, peut-être même dans les anciens sédiments lacustres, ce qui nécessitera le déploiement de capteurs d'analyse à distance avec des protocoles prédéfinis et une stratégie de reconnaissance de la base de données établie pour les minéraux des couches géologiques et les résidus biomoléculaires. L'étude de sites terrestres analogues conduit à s'intéresser aux roches contenant des carbonates, de l'hydroxyfluoroapatite, du gypse, des oxalates de calcium hébergeant des porphyrines, des caroténoïdes, du scytonemin ou encore des anthraquinones, et à effectuer ces recherches avec des instruments de taille et de poids comparables à ceux pouvant être envoyés sur les autres planètes.

Rechercher des minéraux et des pigments microbiens dans des roches martiennes ? Pour mieux comprendre les limites du processus, on collecte les spectres Raman de minéraux connus en commençant par ceux que l'on peut

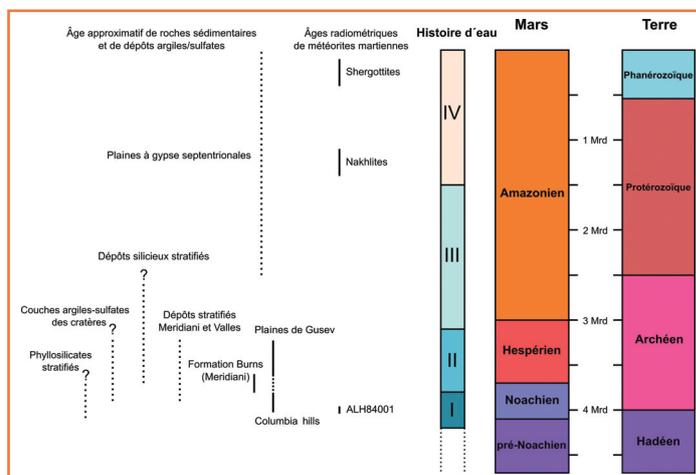


Figure 2 - L'histoire géologique comparée de Terre et de Mars.

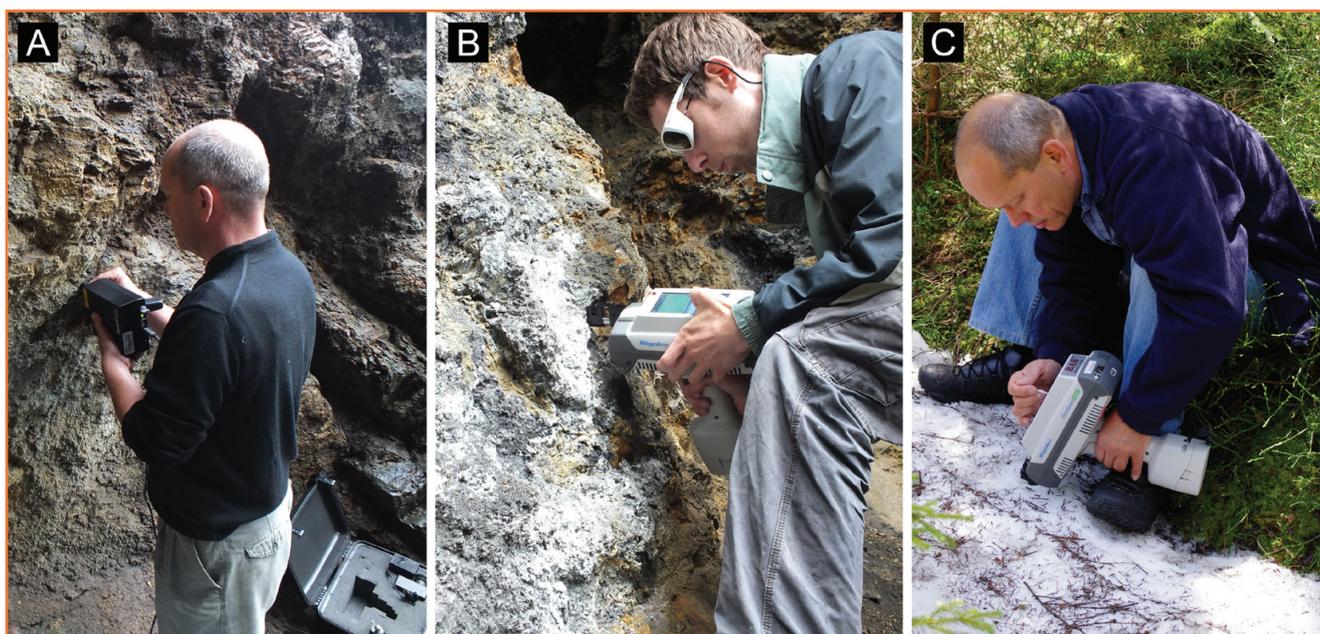


Figure 3 - L'instrumentation portable : spectromètres Raman et leur utilisation pour l'identification de phases minérales au sein d'affleurements superficiels et de colonisations par des algues psychrophiles dans la neige fondante. Travail avec positionnement manuel. (A) spectromètre Raman DeltaNu (excitation 785 nm) et son application pour l'identification de sulfates secondaires sur schistes précambriennes à Valachov en Bohême ; (B) spectromètre Raman Rigaku (excitation 532 nm) et son application pour l'identification de sulfates secondaires et biomolécules potentielles sur schistes précambriennes à Valachov ; (C) spectromètre Raman Rigaku (excitation 532 nm) et recherche des caroténoïdes des algues psychrophiles près du lit de Labe dans les montagnes de Krkonoše (Sudètes).

Tableau I - Quelques minéraux d'importance pour l'exobiologie de Mars et les valeurs de bandes Raman de référence obtenues par l'instrumentation portable (les valeurs en gras correspondent aux signaux les plus forts).

Minéral	Formule	Nombre d'ondes (cm <sup>-1</sup> )
aragonite	CaCO <sub>3</sub>	1 439, 1 306, <b>1 089</b> , 713, <b>282</b>
calcite	CaCO <sub>3</sub>	<b>1 085</b> , 707
hydromagnésite	Mg <sub>5</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub> ·4(H <sub>2</sub> O)	<b>1 118</b>
howellite	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	<b>1 631</b> , <b>1 490</b> , <b>1 464</b> , 949, <b>897</b> , 515, 224
mellite	Al <sub>2</sub> C <sub>6</sub> (COO) <sub>6</sub> ·16H <sub>2</sub> O	<b>1 553</b> , <b>1 467</b> , 1 386, <b>1 346</b> , 1 227, <b>810</b> , 780, <b>329</b>
idrialite	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	<b>1 606</b> , <b>1 429</b> , <b>1 394</b> , 1 371, 1 352, 1 263, <b>1 019</b> , 753, <b>709</b> ,

emprunter dans les musées ou dans les collections de minéraux, puis on les emmène dans un environnement extérieur et on évalue les possibilités de leur identification [7]. De par leur compacité, les spectromètres Raman miniatures ont une résolution spectrale très inférieure en comparaison aux « gros » systèmes optiques de laboratoire. Ainsi par exemple, il a été intéressant de constater qu'un système DeltaNu déjà très compact équipé de la diode à 785 nm permet de distinguer les carbonates et sulfates courants (et moins courants) en suivant surtout l'évolution des positions de la bande d'élongation  $\nu_1(\text{CO}_3)$  autour de 1 100-1 200 cm<sup>-1</sup> et de la bande  $\nu_1(\text{SO}_4)$  autour de 1 000 cm<sup>-1</sup> [8] (figure 3 et tableau I). Les carbonates et les sulfates sont des phases d'une très grande importance et d'une très grande distribution dans les évaporites, roches actuelles ou produites dans le passé par l'évaporation de l'eau des bassins endoréiques.

D'une façon assez étonnante, dans des zones à très haute salinité (comme des bassins naturels) ou construits (comme des salines), de riches écosystèmes de microorganismes halophiles se développent. C'est pour cela que les astrobiologistes s'intéressent à ces systèmes, et par le fait que sur Mars par exemple, de telles zones évaporitiques se sont développées dans le passé, là où on pense que l'eau courante

a probablement existé autrefois en surface. L'identification de ces minéraux évaporitiques permettra donc de mieux comprendre les procédés précis de formation de ces ensembles de roches sur Mars. Par ailleurs, en utilisant un système Raman portable (RA100 de Renishaw), il a été possible de vérifier la présence de minéraux du basalte au sein de blocs de lave à peine refroidis dans l'ensemble volcanique Piton de la Fournaise (Réunion) [9]. Avec les dernières générations instrumentales, des phases plus complexes sont identifiées, même dans les conditions difficiles du terrain, en surface ou en milieux souterrains.

Des champs d'essai idéaux pour l'entraînement à l'identification des couches évaporitiques sont le désert d'Atacama et les bassins de cristallisation de sel des zones méditerranéennes, de la mer Rouge ou du golfe du Mexique, etc. Dans leurs conditions extrêmes de sécheresse et de radiation UV (Atacama : cas des microorganismes endolithiques) ou de concentrations élevées de sels (Eilat, golfe du Mexique : cas d'halophiles), des microorganismes bien adaptés y forment même des écosystèmes complexes. Ils y colonisent des couches de carbonates ou de sulfates et recueillent l'énergie par des mécanismes de sources diverses. Certains doivent se protéger du rayonnement trop fort (en surface), d'autres

Tableau II - Sélection de biomarqueurs revêtant une importance pour l'exobiologie de Mars et les valeurs de bandes Raman de référence obtenues par l'instrumentation portable (les valeurs en gras correspondent aux signaux les plus forts) [3, 10-12].

Composé		Nombre d'ondes (cm <sup>-1</sup> )
<b>β carotène</b>	caroténoïde commun, C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	<b>1 516, 1 154, 1 005</b>
<b>astaxanthine</b>	caroténoïde (xanthophylle) caractéristique des algues, C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	( <i>Chlamydomonas</i> cf. <i>nivalis</i> )
<b>bactériorubérine</b>	caroténoïde de microorganismes halophiles, C <sub>50</sub> H <sub>76</sub> O <sub>4</sub>	<b>1 506, 1 353, 1 285, 1 213, 1 152, 1 001, 964</b> ( <i>Halobacterium salinarum</i> , NRC-1)
<b>salinixanthine</b>	caroténoïde de microorganismes halophiles, C <sub>61</sub> H <sub>92</sub> O <sub>9</sub>	<b>1 511, 1 154, 1 003</b> Colonisation de gypse par halophiles 1 657, <b>1 512</b> , 1 390, 1 286, 1 275, 1 199, 1 187, <b>1 155, 1 003</b> , 996, 966, 880 ( <i>Salinibacter ruber</i> )
<b>spirilloxanthine</b>	pigment UV protecteur, C <sub>42</sub> H <sub>60</sub> O <sub>2</sub>	<b>1 509, 1 149, 1 002</b> Colonisation par <i>Ectothiorhodospira marismortui</i>
<b>scytonémine</b>	pigment UV protecteur des cyanobactéries, C <sub>36</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	<b>1 595, 1 554, 1 173</b> Colonisation endolithique par cyanobactéries

photosynthétisent dans des zones plus profondes, d'autres encore utilisent des sources différentes en réduisant les sulfates. Ces microbes produisent souvent des composés qui participent à la protection des cellules ou au captage d'énergie et constituent des marqueurs chimiques fiables. Plusieurs d'entre eux peuvent être détectés et identifiés par leurs spectres Raman caractéristiques avec des instruments miniaturisés [10-11]. Le *tableau II* rassemble les caractéristiques de quelques microorganismes et leurs biomarqueurs identifiés par spectrométrie Raman.

La détection a été possible grâce à l'illumination par une diode appropriée permettant d'obtenir un signal stimulé par l'effet de résonance – la longueur d'onde du laser d'excitation correspond à la couleur d'absorption du chromophore, l'interaction avec les niveaux électroniques simplifie et amplifie alors la signature Raman permettant la détection de traces. Cette possibilité augmente les chances d'approche basée sur l'application de lasers d'une longueur d'onde verte pour la détection de polyènes, et plus spécifiquement ceux de la famille des caroténoïdes, composés communs à des organismes de différentes origines.

Les spectromètres Raman plus ou moins mobiles sont utilisés depuis l'année 2000. Les applications dans les domaines de la caractérisation d'objets d'arts (pigments de textes enluminés, de statues, de céramiques, etc.) ont été les premières à être effectuées [1-2]. L'utilisation de sondes déportées à fibres optiques a été l'un des avantages de ces premières applications. Malheureusement, ces systèmes ont un poids toujours considérable même s'ils sont transportables, et la possibilité de les utiliser, « en crapahutant » sur des terrains diversifiés, auprès d'affleurements de roches, demeure difficile, et il est hors de propos de les incorporer à des véhicules d'exploration spatiale où le volume et le poids des équipements sont affinés aux cm<sup>3</sup>/g près.

Plusieurs problèmes peuvent apparaître en obtenant des spectres Raman avec l'instrumentation portable et miniature sur le terrain. En premier, il y a l'étape de positionnement de la tête optique et sa stabilisation/fixation, afin d'assurer les conditions nécessaires au recueillement du rayonnement Raman diffusé après l'illumination. La *figure 4* montre les différences que l'on obtient avec un spectre acceptable (C) ou avec des spectres « limites » perturbés soit par la fluorescence (A), soit par un mauvais positionnement (B).

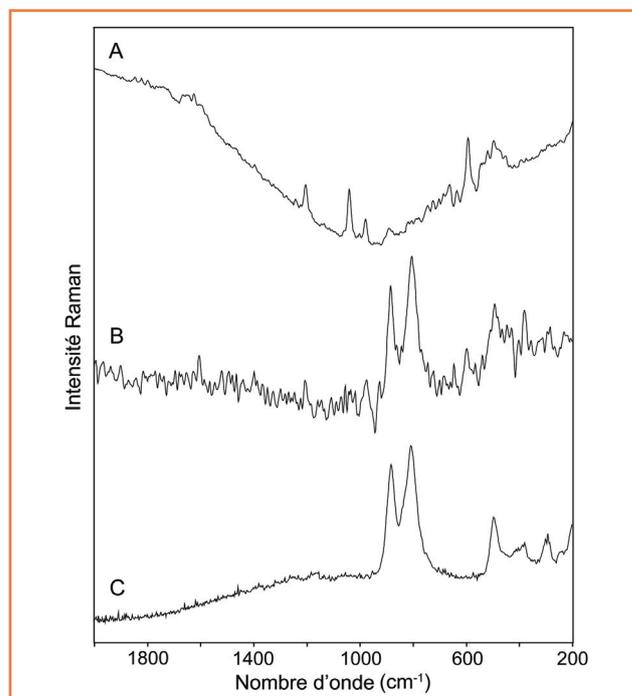


Figure 4 - La figure montre les différences obtenues entre un spectre Raman acceptable à plusieurs accumulations (C) ou des spectres « limites » perturbés soit par fluorescence (A), soit par un mauvais positionnement (B) : exemple de la kankite (Fe<sup>3+</sup>AsO<sub>4</sub>·3,5(H<sub>2</sub>O)) avec bandes caractéristiques à 883, 808 493, 377 et 291 cm<sup>-1</sup>.

## En conclusion

L'instrumentation Raman légère et portable permet aujourd'hui la collection de données analytiques dans les conditions difficiles, voire extrêmes de terrain. Ceci représente un avantage et un progrès majeur dans les domaines de la géochimie, de la minéralogie et de l'exobiologie. Dans un futur très proche, des études vont pouvoir être menées directement sans prélèvements et transport d'échantillons vers les laboratoires. D'une manière encore plus excitante, des données vont prochainement être obtenues concernant des séries rocheuses de Mars qui vont pouvoir témoigner ou non d'une présence de biomarqueurs.

## Références

- [1] Vandenabeele P., Weis T.L., Grant E.R., Moens L.J., A new instrument adapted to in situ Raman analysis of objects of art, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 379, p. 137.
- [2] Tournié A., Prinsloo L.C., Paris C., Colombari P., Smith B., The first in situ Raman spectroscopic study of San rock art in South Africa: procedures and preliminary results, *J. Raman Spectrosc.*, **2011**, 42, p. 399.
- [3] Vitek P., Edwards H.G.M., Jehlička J., Hutchinson I., Ascaso C., Wierczos J., The miniaturized Raman system and detection of traces of life in halite from the Atacama desert: some considerations for the search for life signatures on Mars, *Astrobiology*, **2012**, 12, p. 1095.
- [4] Vandenabeele P., Jehlička J., Mobile Raman spectroscopy in astrobiology research, *Phil. Trans. R. Soc. A*, **2014**, 372, 20140202, p. 1.
- [5] Culka A., Osterrothová K., Hutchinson I., Ingley R., McHugh M., Oren A., Edwards H.G.M., Jehlička J., Detection of pigments of halophilic endoliths from gypsum: Raman portable instrument and European Space Agency's prototype analysis, *Phil. Trans. R. Soc. A*, **2014**, 372, 20140203, p. 1.
- [6] Colombari P., Bellot-Gurlet L., Le laboratoire mobile au chevet des œuvres d'art: quelques exemples, *L'Act. Chim.*, **2017**, 418-419, p. 82.
- [7] Vitek P., Jehlička J., Edwards H.G.M., Practical considerations for the field applications of miniaturized portable Raman instrumentation for the identification of minerals, *Appl. Spectrosc.*, **2013**, 67, p. 767.
- [8] Culka A., Kosek F., Drahotka P., Jehlička J., Use of miniaturized Raman spectrometer for detection of sulfates of different hydration states: significance for Mars studies, *Icarus*, **2014**, 243, p. 440.
- [9] Guimbretiere G., Canizares A., Finizola A., Delcher E., Raimboux N., Di Muro A.A., Simon P., Devouard B., Bertil A., Raman spectroscopy as suitable tool for the field study of recent volcanic environments, *J. Raman Spectrosc.*, **2016**, 47, p. 740.
- [10] Jehlička J., Edwards H.G.M., Osterrothová K., Novotná J., Nedbalová L., Kopecký J., Némec I., Oren, A., Potential and limits of Raman spectroscopy for carotenoid detection in microorganisms: implications for astrobiology, *Phil. Trans. R. Soc. A*, **2014**, 372, 20140199, p. 1.
- [11] Jehlička J., Oren A., Use of a handheld Raman spectrometer for fast screening of microbial pigments in cultures of halophilic microorganisms and in microbial communities in hypersaline environments in nature, *J. Raman Spectrosc.*, **2013**, 43, p. 1275.
- [12] Jehlička J., Culka A., Nedbalová L., Colonization of snow by microorganisms as revealed using miniature Raman spectrometers: possibilities for detecting carotenoids of psychrophiles on Mars?, *Astrobiology*, **2016**, 16, p. 1.



J. Jehlička

**Jan Jehlička** (auteur correspondant) est professeur de géologie et **Adam Culka**, postdoctorant, à l'Institut de Géochimie, Minéralogie et Ressources Minérales (IGMRM) de la Faculté des Sciences de l'Université Charles à Prague\*.



A. Culka

\* IGMRM, Université Charles, Albertov 6, 12843 Prague 2 (Rép. Tchèque).  
Courriels : jehlicka@matur.cuni.cz ; culka@matur.cuni.cz

**HORIBA**  
Scientific

JOBIN YVON  
Technology

## NanoRaman™: Quand la Microscopie à Force Atomique intègre la Spectroscopie Optique

- ✓ Plateforme d'analyse multi-techniques du macro au nanoscopique
- ✓ Spectroscopie Raman confocale
- ✓ AFM robuste, stable, à résolution ultime
- ✓ Facile d'utilisation, résultats rapides

[www.horiba.com/nanoraman](http://www.horiba.com/nanoraman)  
[info-sci.fr@horiba.com](mailto:info-sci.fr@horiba.com)

Suivez-nous    

