

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů

Studijní program: Geologie
Studijní obor: Ložisková geologie



Radek Novotný

Vyhodnocení detekce a stability karotenoidových biomarkerů v Marsovských analogiích pomocí přenosného Ramanovského spektrometru

Evaluation of detection and preservation of carotenoid biomarkers in Martian analogues using portable Raman spectrometer

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Adam Culka, Ph.D.

Praha 2022

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Mgr. Adamu Culkovi, Ph.D. za cenné rady a ochotu při vedení mé diplomové práce. Velmi si vážím příležitosti pracovat na tématu v oblasti astrobiologie. Poděkování patří také Mgr. Filipu Koškovi, Ph.D. za pomoc při zpracování výsledů měření a Prof. RNDr. Ivanu Němcovi, Ph.D. za poskytnutí přístupu do spektroskopické laboratoře a přístrojového vybavení. Poděkovat bych chtěl také své rodině za trpělivost, kterou se mnou měli během psaní diplomové práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze,

Podpis

OBSAH

Abstrakt.....	iv
Summary.....	v
Klíčová slova.....	vi
Key words.....	vi
1. Úvod.....	1
2. Ramanova spektroskopie jako nástroj pro studium biomarkerů na zemi a ve vesmíru.....	2
2.1 Princip funkce Ramanovy spektroskopie a příklady užití.....	2
2.2 Ramanova spektroskopie aplikovaná ve vesmírných misích.....	3
2.2.1 Počátky planetárních roverů.....	3
2.2.2 Mise Mars 2020.....	5
2.2.3 Mise ExoMars.....	6
2.3 Biomarkery	7
2.3.1 Organolity.....	7
2.3.2 Uhlík.....	8
2.3.3 Metan.....	8
2.3.4 Pigmenty	9
2.3.5 Komplikace při studiu biomarkerů.....	10
3. Geologie Marsu a biomarkery v marsovských horninách.....	11
3.1 Vznik Marsu a endogenní procesy.....	11
3.2 Exogenní procesy.....	14
3.3 Biomarkery v horninách na Marsu.....	15
4. Metodika a instrumentace	16
4.1 Používané přístroje, chemikálie a PC programy.....	16
4.2 Postup experimentu.....	18
4.2.1 Příprava substrátu.....	18

4.2.2 Ozařování vzorků zdrojem UV záření.....	20
4.2.3 Příprava pelet.....	22
4.2.4 Měření vzorků přenosným Ramanovským spektrometrem.....	23
4.2.5 Zpracování naměřených dat v PC programech.....	24
5. Výsledky měření.....	25
5.1 Popis spekter čistých látek.....	25
5.2 Popis spekter a interpretace výsledků měření.....	26
5.2.1 Výsledky čtyřdenního ozařování.....	26
5.2.2 Výsledky osmidenního ozařování.....	31
6. Diskuze.....	35
6.1 Vliv UV záření a chloristanu na připravený substrát.....	35
6.2 Vliv teploty na připravený substrát.....	36
6.3 Analogie experimentu k prostředí a lokalitám na Marsu.....	38
7. Závěr.....	41
8. Použitá literatura.....	42

ABSTRAKT

Recentní mise vesmírných agentur NASA, ESA a Roskosmos se mimo jiné zaměřují i na pátrání po stopách živých organismů. Využívají k tomu řadu analytických přístrojů jako například Ramanovou spektroskopii, infračervenou spektroskopii nebo GS-MS chromatografii. Pátrají po biologických ukazatelích (*biomarkerech*), které by mohly znamenat minulé ale i současné působení živých organismů. V této diplomové práci bylo navrženo, pozorovat změny koncentrací biomarkeru (pigmentu betakarotenu) v substrátu tvořeném směsí síranových minerálů. Podmínky by byly co nejvíce přiblíženy podmínkám na Marsu. Na povrchu této planety se vlivem řidší atmosféry a chybějící ozonové vrstvy mnohem silněji uplatňuje složka UV záření UVC, která má zvýšené degradační účinky na organický materiál. V připraveném substrátu byl dále přítomen chloristan hořečnatý, což je silné oxidační činidlo vyskytující se i v marsovské půdě (regolitu). Na základě těchto parametrů byly připraveny vzorky, které měly uspořádání do tří vrstev, přičemž dvě obsahovaly biomarker betakaroten a chloristan. Z důvodu lepšího porovnání změn během experimentu, byly zvoleny dvě koncentrace pigmentu 10 ppm a 100 ppm (hmotnostní). Takto připravené vzorky byly ozařovány ve čtyřdenních a osmidenních etapách zdrojem světla s maximem výkonu při cca 250 nm. Vzorky byly rozděleny na kontrolní, které nebyly ozařovány, a na ozařované, jeden typ se simulantom marsovské půdy a jeden čistý. Vzorky byly po provedení experimentu zpracovány do podoby pelet a změřeny přenosným Ramanovským spektrometrem. Při vyhodnocování byly uplatněny poměry intenzit Ramanovských spekter ν_1 betakarotenu a ν_1 sádrovce, což byl ukazatel změn koncentrací během experimentu. Byly také diskutovány rozdílnosti mezi koncentracemi 10 ppm a 100 ppm, čtyřdenním a osmidenním ozařováním, a také mezi svrchními a spodními vrstvami.

SUMMARY

Recent missions of the space agencies NASA, ESA and Roskosmos have focused on searching for traces of life, among other things. They use a range of analytical instruments such as Raman spectroscopy, infrared spectroscopy and GS-MS chromatography. They are looking for biological indicators (biomarkers) that could indicate the past but also the present activity of living organisms. In this thesis, it was proposed to observe changes in the concentration of a biomarker (the pigment betacarotene) in a substrate consisting of a mixture of sulphates. The conditions would be as close as possible to those on Mars. On the surface of this planet, due to the thinner atmosphere and the lack of an ozone layer, the UV component of UVC radiation, which has degradative effects on organic material, is much more strongly applied. Furthermore, perchlorate, a strong oxidising agent also found in Martian soil (regolith), was present in this substrate. Based on these parameters, samples were prepared that had an arrangement in three layers, two of which contained the biomarker beta-carotene and perchlorate. In order to better compare the changes during the experiment, two pigment concentrations of 10 ppm and 100 ppm were chosen. The samples thus prepared were irradiated in four-day and eight-day stages by a light source with a maximum power output at cca 250 nm. The samples were divided into control, which were not irradiated, and irradiated, one type with Martian soil simulant and one pure. After the experiment, the samples were processed into pellets and measured with a portable Raman spectrometer. The ratios of the intensities of the Raman spectra ν_1 of betacarotene and ν_1 of gypsum were applied in the evaluation, which was an indicator of the changes in concentrations during the experiment. Differences between concentrations of 10 ppm and 100 ppm, between four-day and eight-day irradiations, and between top and bottom layers were also discussed.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biomarkery, Karotenoidy, Marsové analogy, Přenosný Ramanovský spektrometr

KEY WORDS

Biomarkers, Carotenoids, Martian analogues, Portable Raman spectrometer

1. ÚVOD

Od postupného vědeckého pokroku na poli evoluce a průzkumu vesmíru, si lidé podkládali i otázku existence života mimo Zemi. Zde panovaly otázky, za jakých podmínek by mohl život mimo Zemi existovat a jakou použít instrumentaci k jeho hledání. Astrobiologie (exobiologie) je moderní multidisciplinární obor využívající široké spektrum analytických metod, spojující v sobě fyziku, chemii, molekulární biologii, geologii a astronomii. Výzkumy se soustředí mimo jiné na vyhledávání exoplanet s parametry podobné zemi, kde by teoreticky mohly panovat podmínky pro vznik života. Zde nalézá uplatnění proslulá Drakeova rovnice. Pro tento typ výzkumu exoplanet využívající i například měření planetárního spektra, se může určit složení atmosféry, která může indikovat podmínky vhodné pro existenci života mimo Zemi. Součástí astrobiologie jsou i disciplíny počítačového modelování a zvláště v posledních několika dekádách i terénní výzkum přímo na povrchu zkoumaného mimozemského tělesa. Na těchto misích se podílejí družice, nebo přímo planetární vozítka (*rovery*), schopna se sama pohybovat po povrchu. Na Mars byl aktuálně pro studium organických látek a pátrání po známkách života vyslán v roce 2021 rover Perseverance, který operuje v oblasti kráteru *Jezero*. Tato lokalita, v minulosti s největší pravděpodobností zaplavena vodou, byla vyhodnocena jako jedna z nejlepších lokalit pro studium známek minulého života. Perseverance, i další rovery bývají velmi dobře přístrojově vybaveny a nesou na palubě zpravidla kamery, přístroje zkoumající atmosféru, RTG difraktometry nebo spektrometry. Právě mezi posledně zmiňovanou skupinu řadíme i Ramanův spektrometr, který je svými parametry ideální pro pátrání po známkách života v horninovém prostředí na povrchu například Marsu. Experiment v této diplomové práci využívá přenosného Ramanovského spektrometru pro analýzu vzorků, simulující materiál odebraný sondou z povrchu Marsu. Tyto vzorky obsahují připravený substrát obsahující sírany (sádrovec a epsomit) spolu s chloristany a organickou látkou: betakarotenem. Betakaroten v tomto případě slouží jako simulant biomarkeru. UVC záření (vlnová délka 254 nm) které je použito v tomto experimentu, slouží k ozařování povrchu připravovaných vzorků. Vybraný zdroj záření pro experiment poměrně přesně simuluje vlnové délky dopadající na povrch Marsu. Oproti Zemi má Mars řidší atmosféru a také neobsahuje ozonovou vrstvu, proto toto krátkovlnné záření dosahuje povrchu, kde má podíl na nehostinných podmínkách pro život na povrchu.

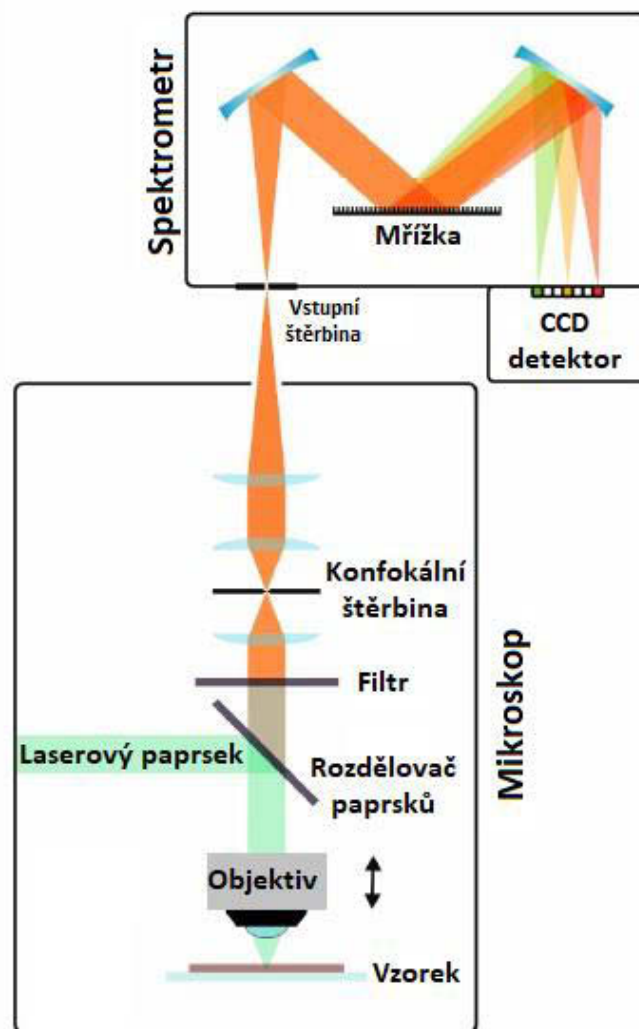
2. RAMANOVA SPEKTROSKOPIE JAKO NÁSTROJ PRO STUDIUM BIOMARKERŮ NA ZEMI A VE VESMÍRU

2.1 Princip funkce Ramanovy spektroskopie a příklady užití

Ramanova spektroskopie se již více než 90. let využívá v širokém spektru oborů přírodních věd jako nedestruktivní analytická metoda, spadající do kategorie vibrační molekulové spektroskopie. Využití nalézá například v geovědních oborech, analytické chemii nebo medicíně, kde je hlavním předmětem určování chemických fází. Uplatnění nalézá při měření plynného, kapalného i pevného skupenství jak organických tak anorganických látek, přičemž poskytuje jak kvalitativní tak kvantitativní analýzu (Petránek, 2016). Funguje na principu tzv. Ramanova jevu, kdy světelný zdroj v podobě laseru emituje světelný paprsek, který se následně rozptyluje o molekuly zkoumané látky. Laserový paprsek takto excituje elektrony do vyššího energetického stavu, přičemž na základě toho, jak se elektron zachová při přechodu, můžeme následný rozptyl rozdělit do tří kategorií. Rayleighův rozptyl nastává, když se excitovaný elektron navrátí zpět do původního stavu a vyzáří foton se stejnou vlnovou délkou, jakou měl světelný zdroj. Pokud se elektron usadí ve vyšší energetické hladině, vyzáří foton s delší vlnovou délkou a hovoříme o Stokesově fotonu. Anti-Stokesův foton je naopak označení fotonu při usazení v nižší energetické hladině. (Schmid a Dariz, 2019). Rozptýlené záření nese informaci o chemických vazbách ve studovaném materiálu, popřípadě o dalších strukturních uspořádáních.

Ramanův spektrometr dokáže pracovat v rozpětí vlnových délek od infračervené až po ultrafialové záření. Nejvíce používané zdroje záření jsou v oblastech modré (450 nm) a zelené (532 nm) viditelného spektra, které jsou výhodnější pro praktické použití například při studiu řas a rostlin, z důvodu zvýšené fotoluminiscence (Edwards et al., 2013). Pro užití v medicíně nebo biologii se pak volí spíše zdroje v oblasti infračerveného záření (785 a 1064 nm) je fotoluminiscence naopak nižší (Jones et al., 2019). Pro emitování laserového paprsku se využívají dva hlavní druhy laserů, kontinuální a pulzní (Schmid a Dariz, 2019). Další důležitou součástí přístroje je filtr, který má za úkol odfiltrovat žádanou část Ramanova spektra. Využívají se druhy lineárních filtrů jako například dolní propusti nebo pásmová zádrž (McCreery, 2000). Jako detektory slouží ve většině případů osvědčené CCD (charged-coupled device), které mohou být přizpůsobené konkrétní vlnové délce. Dříve se spolu s detektory využívaly rovněž monochromátory, které propouštěly jen část spektra (McCreery, 2000). Přístroje se vyrábějí pro různé typy měřících technik využívající koherentní nebo spontánní Ramanův rozptyl, techniky využívající termografii či Fourierovu transformaci (Jones et al., 2019). Samostatnou skupinou

Ramanovských spektrometrů je přenosný typ. Tyto přístroje nalézají využití v terénu jak pro vědeckou činnost, tak například pro bezpečnostní složky při odhalování nelegálních komodit a zakázaných látek.



Obrázek 1: Schéma konfigurace Ramanovského spektrometru a mikroskopu. Upraveno podle Schmid a Dariz, 2019

2.2 Ramanova spektroskopie aplikovaná ve vesmírných misích

2.2.1 Počátky planetárních roverů

S rozmachem vesmírných technologií vyvíjených pro pozorování objektů ve vesmíru jako jsou hvězdy, planety, planety nebo asteroidy, pokročily i technologie pro sběr a analýzu vzorků i ze samotného povrchu extraterestrických těles. Prvním dálkově řízeným vozidlem (roverem) využitým pro průzkum povrchu jiného tělesa, byl v roce 1970 Lunochod 1. Tento sovětský rover na povrchu Měsíce byl vybaven kamerami, rentgenovým spektrometrem, vrtací soustavou a laserovým kotoučovým odražečem. Rozměry vozidla dosahovaly 2,2 metru na

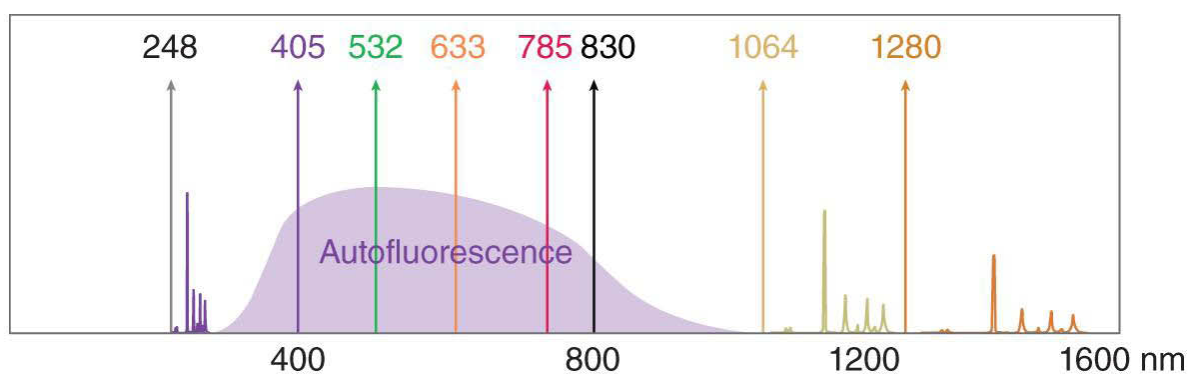
délku, váha byla 756 kilogramů a pohyboval se po osmi kolech, každé s vlastním elektromotorem. Úspěšně se vozidlu podařilo zaslat zpět na Zemi chemický rozbor okolních hornin a řadu snímků Měsíce. Tuto misi následoval o tři roky později projekt Lunochod 2, který byl rovněž úspěšný, a nafotil přes 80 tisíc fotografií (Gromov et al, 2003).

Historii prozkoumávání Marsu započal v roce 1997 rover Sojourner v rámci mise Pathfinder. Malé vozítko, které americký národní úřad pro letectví a kosmonautiku (NASA) vyslal, vážilo 11 kilogramů a měřilo 63 centimetrů na délku. Zaslalo řadu chemických rozborů okolních hornin a barevných fotografií. Byla zde možnost rover ovládat manuálně ze Země, avšak většinu úkonů vykonávalo vozítko automaticky, z důvodu dlouhého letu signálu zpět na Zemi. Ovšem největšího pokroku v planetárním průzkumu Marsu dosáhla trojice amerických roverů Spirit, Opportunity a Curiosity. První dvě jmenovaná byla součástí mise Mars Exploration Rover a cílem jejich působení byl geologický průzkum povrchu a pátrání po stopách vody. Spirit přistál dne 4. ledna 2004 v oblasti kráteru *Gusev* pomocí přistávacího airbagu ze sondy, nesenou ze Země raketou Delta II. Opportunity přistál dne 25. ledna 2004 v oblasti *Meridiani Planum* stejným způsobem. Obě vozítka byla konstrukčně identická, vážící 184 kilogramů, 1,5 metru vysoká a 1,6 metru dlouhá. Vybavena byla panoramatickými kamerami, rentgenovými a Mossbauerovými spektrometry, bruskou pro mechanické zpracování vzorku a mikroskopem pro detailní pozorování. K získání energie sloužily solární panely umístěné po stranách konstrukce a pohyb zajišťoval šestikolový podvozek. Díky misi Mars Exploration Rover došlo k průzkumu kráterů na povrchu Marsu (*Victoria, Erebus* atd.), výzkumu jílových minerálů v kráteru *Endeavor* a vulkanických produktů v oblasti *Home Plate*. Patrně nejdůležitějšími objevy je popsání hematitu a sádrovce, kdy se obou případech hovoří o formování minerálů vodou. Jednalo by se tak o jasný důkaz o existenci kapalné vody v minulosti. Třetí recentní úspěšnou misí je Mars Science Laboratory s účastí roveru Curiosity. Tento rover přistál v kráteru Gale dne 5. srpna 2012, po devíti měsících cesty Země-Mars (Welch et al., 2013). Cílem mise je primárně detekovat jakékoli známky mikrobiálního života a podmínky pro něj, avšak dalšími body programu jsou rovněž výzkum geologie a atmosféry Marsu. Toto vozítko je podstatně větší a lépe vybavené než tomu bylo u mise Mars Exploration Rover. Svědčí o tom přítomnost dražších a výkonnějších RCE počítačů odolných vůči radiaci, přístroje pro výkon rentgenové difrakce, navigační systémy, odolnější panoramatické kamery nebo vrtnou soupravu. Součástí je rovněž přístroj pro atomovou emisní spektrometrii a přístroj Sample Analysis at Mars, pracující s izotopovými poměry uhlíku a kyslíku. Curiosity váží 900

kilogramů, na délku má 2,7 metru a k pohybu slouží radioizotopový termoelektrický generátor využívající rozpad plutonia 238 (Welch et al., 2013).

2.2.2 Mise Mars 2020

Počátek využívání Ramanovského spektrometru pro využití mimo planetu Zemi se nalezl v astrobiologii, kde se uplatňuje při vzdáleném průzkumu biomarkerů (*biologické ukazatele* viz kap. 2.3). Planetární rover Perseverance, který v rámci mise Mars 2020 americké kosmické agentury NASA přistál 18. února 2021 v marsovském kráteru *Jezero*, je jedním z recentních projektů zaměřených na hledání minulého života a geologii Marsu. Využívá robotické rameno SHERLOC, ve kterém je zabudován mimo jiné i Ramanův spektrometr, využívající laser o vlnové délce 249 nm (Moeller et al., 2020). Toto zařízení primárně analyzuje vzorky organických hmot i minerálů a pátrá po stopách alterací vodou, které mohou být znakem potenciálního mikrobiálního života. Perseverance dále obsahuje také laser SuperCam, (532 nm). Laser využívá i metodu Deep-UV excitace, která minimalizuje fluorescenci (viz obr. 2) a umožňuje lépe detekovat stopy bio aktivity (Moeller et al., 2020). Rover je vzhledem velmi podobný vozítku Curiosity, nicméně vybaven je navíc kromě Ramanovského spektrometru ještě několika moderními vědeckými přístroji. Jmenovat můžeme například přístroj MOXIE, který dokáže produkovat kyslík z CO₂ pomocí elektrolýzy, nebo zařízení RIMFAX, což je radar pracující na větší vlnové délce (150-1200 MHz) umožňující skenovat horniny až do 10 metrové hloubky. Součástí mise Mars 2020 je také malý vrtulník Ingenuity, který se 19. dubna 2021 stal prvním lidským vynálezem, který provedl let na jiné planetě.



Obrázek 2: Elektromagnetické spektrum s vyznačenou škálou autofluorescence. Tento jev značí přirozené vyzařování světla biologickými strukturami nebo minerály, přičemž Deep-UV excitace při hledání známek života využívá její absenci. Převzato z Crocombe et al., 2021

2.2.3 Mise ExoMars

Další významnou misí zaměřenou na hledání stop života je mise ExoMars, která je společným projektem evropské kosmické agentury ESA a ruské kanceláře Roskosmos a spadá pod evropský plán AURORA. Projekt mise je rozdělen mezi sondu Schiaparelli, která se na oběžnou dráhu Marsu dostala v říjnu 2016, ruský povrchový modul Kazačok a planetární rover Rosalind Franklin, kde je start plánován na podzim roku 2022. Přistání roveru je plánováno do oblasti *Oxia Planum* (zdroj: NASA). Podobně jako v případě mise Mars 2020 je v plánu vybavit marsovský rover moderním vědeckým vybavením pro výzkum vody, marsové geochemie a geofyziky, známek života nebo testování možných hazardů pro budoucí pilotované lety na Mars (web ESA). V případě pátrání po známkách života počítá projekt AURORA s malým Ramanovským laserovým spektroskopem, (RLS) který bude měřit na vlnové délce 532 nm, kompaktní vrtací soustavou s dosahem dvou metrů, panoramatickými kamerami, spektrometry nebo prachovými analyzátory (Edwards et al, 2014). Vrtná souprava je vybavena systémem na výrobu malých pelet, malého válečku dlouhého 2 centimetry s průměrem 1 centimetr, který výrazně usnadní měření Ramanovským spektrometrem.



Obrázek 3: Porovnání tří generací misí marsovských roverů. Zleva: Mars Exploration Rover, Mars Pathfinder a Mars Science Laboratory. Zdroj: <https://www.jpl.nasa.gov/images/pia11431-size-comparison-three-generations-of-mars-rovers>

Obě tyto mise mají v rámci astrobiologie mimo jiné za cíl zjistit, jaké organismy mohly existovat v prostředí Marsu, popřípadě v jakých podmínkách nebo jaké indikátory po sobě organismy zanechaly. Mimo nejnovější mise zaměřující se na pátrání po známkách živých organismů nejen na Zemi, je Ramanova spektroskopie tradičním nástrojem pro analýzu biomarkerů například uhlíku nebo pigmentů (karotenoidy, chlorofyly). Detekce uhlíku v kompaktovaných horninách je velmi dobrým indikátorem rozpadlých biomolekul, kde navíc můžeme rozlišit biogenní a abiogenní původ uhlíku. (Edwards et al, 2014). U mise ExoMars je bohužel nejasná prognóza startu programu z důvodu invaze Ruské federace na území Ukrajiny v únoru roku 2022.

2.3 Biomarkery

Biomarkery (*biologické ukazatele*) lze charakterizovat nejčastěji jako chemickou látku nebo jiné měřitelné indikátory, které za sebou zanechávají živé organismy nebo biologické procesy (Edwards et al, 2014). Počátky termínu *biomarker* sahají do roku 1980, kdy probíhalo vícero studií se zaměřením na toxické chemické látky ve vodě nebo vodních organismech (Amiard, 2016). Největší uplatnění ovšem biomarkery nacházejí v lékařství a obecně v medicínských oborech, kde slouží ke zjištění zdravotního stavu pacienta a v případě komplikací určit prognózu do budoucna. Hovoříme o běžných lékařských vyšetřeních jako například krevní obraz. Studium těchto indikátorů má přesah do dalších vědních oborů jako jsou chemie, geologie nebo astrobiologie, ve kterých má ovšem trochu jiný význam. Tyto obory využívají biomarkery při pátrání po živých organismech nebo jejich produktech, kterými mohou být například kapalné uhlovodíky. V oboru astrobiologie se na povrchu cizích kosmických těles nejčastěji vyhledávají látky jako metan, organické pigmenty, oxaláty, aminokyseliny, proteiny, uhlík, kyslík nebo síra (Edwards et al, 2014). Část z nich je rozvedena níže.

2.3.1 Organolity

Jako první samostatnou složkou biomarkerů jsou organolity. Můžeme skupinu rozdělit mezi dvě podskupiny, biominerály a organické minerály. Biominerály mají svůj původ v činnosti živých organismů, například činností enzymů nebo bakterií. Obě skupiny mají krystalickou strukturu a organické minerály navíc obsahují organický uhlík. Nejrozšířenějšími zástupci organolitů jsou soli organických kyselin, mezi které řadíme například whewellit, weddellit, mellit nebo žemčuznikovit (Hazen 2016). Rozšířeným zástupcem organolitů je také štavelan vápenatý, který se vyskytuje v přírodním prostředí jak v rostlinách, lišejnicích tak i například horninách.

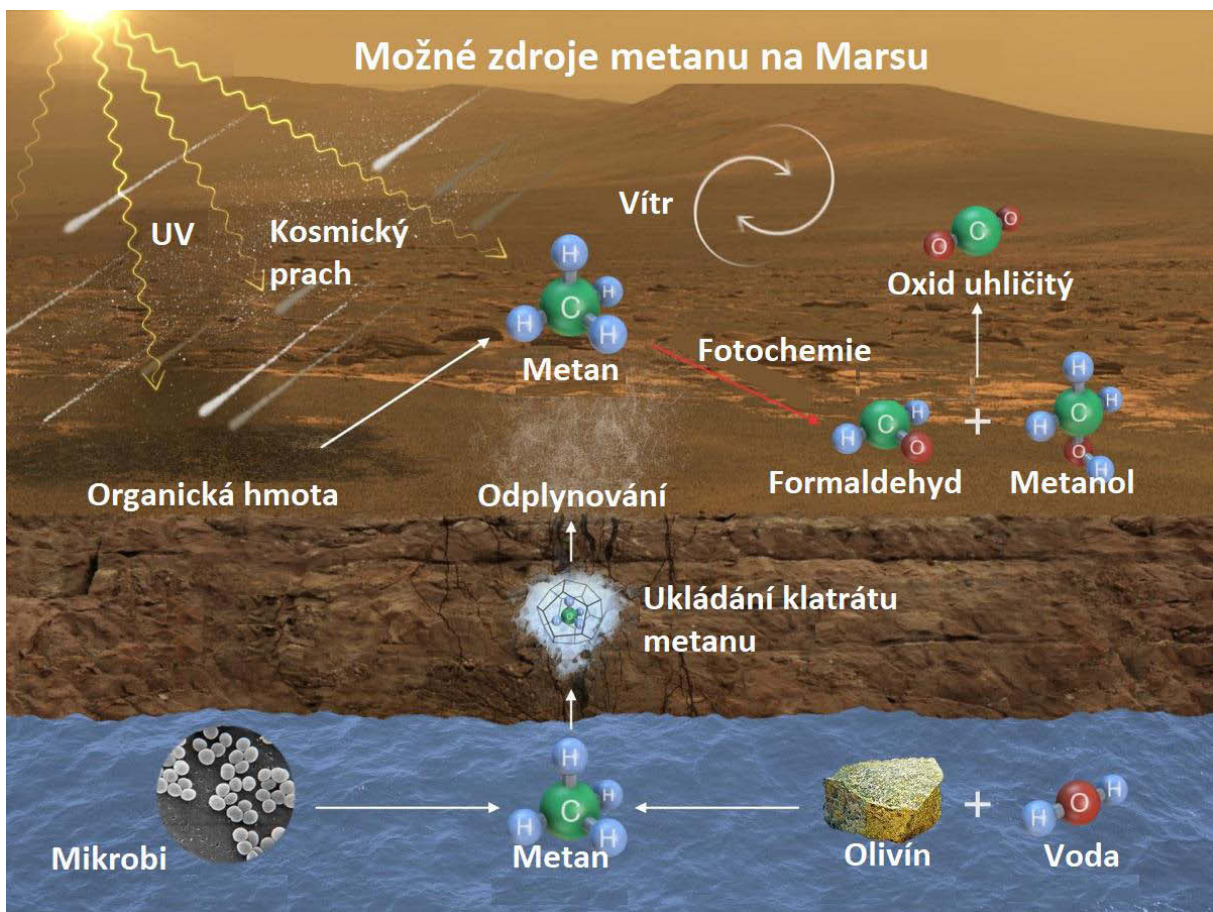
2.3.2 Uhlík

Uhlík se vyskytuje v přírodě ve své biogenní a abiogenní formě. Abiogenní forma se vyznačuje svojí přítomností v atmosféře jako například CO_2 vznikající při dýchání živých organismů nebo CO vznikající při spalování fosilních paliv. V přírodním prostředí se setkáváme s abiogenními formami karbonátových hornin vzniklých vlivem odpařování solanek, usazování schránek mořských organismů nebo hydrotermálními ději (Petránek, 2016). Mezi tyto sloučeniny můžeme zařadit například kalcit a aragonit (CaCO_3), dolomit ($\text{MgCa}(\text{CO}_3)_2$) nebo malachit ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$). Biogenní forma uhlíku souvisí s působením živých organismů, a proto funguje jako vynikající ukazatel jejich aktivity. Řadit do této kategorie můžeme například kapalně uhlovodíky, polycyklické uhlovodíky nebo alkoholy. Mikroorganismy svým působením v půdě, vodě nebo v metabolismu produkují organické látky, které při zachování mohou svým složením napovědět o minulé přítomnosti života. Rovněž i pletiva a tkáně odumřelých živých organismů podléhají vlivem času a tlaku změnám. Vznikají tak kapalně uhlovodíky nebo kaustobiolity. Edwards (2014) tvrdí, že současným přístrojovým vybavením roverů a sond nelze na povrchu jiných těles než je Země jednoznačně rozlišit biogenní a abiogenní formu, tudíž uhlík nelze považovat za skutečný biomarker.

2.3.3 Metan

Zhruba 90 % metanu na planetě Zemi je biogenního původu, nicméně i zde se setkáváme s biogenním a abiogenním původem biomarkeru (Bebout et al., 2010). Vznikat může rozkladem biologického materiálu, v metabolismu živočichů nebo průmyslově lidskou činností. Je rovněž součástí kapalných uhlovodíků, jmenovitě ropy nebo zemního plynu. Syntéza může probíhat metanogenezí, kdy anaerobní dýchání mikroorganismů (*například rod Archaea*) přeměňují v půdách oxid uhličitý a vodík na metan (Dean et al., 2018). Tvořit se může také Fischer-Tropsch syntézou s účastí vodíku a oxidu uhelnatého na metan a vodu. V zemské kůře vzniká metan rozpadem organické hmoty vlivem zvýšené teploty, zpravidla v sedimentárních profilech. Tento termogenetický metan je největším zdrojem zemního plynu (Etiope a Lollar, 2013). Dalším typem vzniku v nitru země je například serpentinizace (viz obr. 4). V případě ostatních těles ve Sluneční soustavě a mimo ni je metan také poměrně častou sloučeninou. Pro americkou kosmickou společnost NASA je metan dokonce klíčový pro hledání mimozemského života a stanovila si kritérium, při jakých podmínkách může s jistotou určit jeho biogenní původ (Bebout et al., 2010). NASA využívá poměr (metan/(etan + propan), kde je popsán stabilní izotopový záznam metanu, který obsahuje uhlík a vodík, a také jeho poměr k ostatním nízkomolekulárním uhlovodíkům. Metan jakožto biomarker na Marsu může být přítomen

v rozlehlých oblastech s výskytem chloridů, což může značit evaporitické solné pláně (Bebout et al., 2010). Vozítka Spirit a Opportunity z mise Mars Exploration Rover v okolí svého působení našly oblasti s výskytem evaporitických minerálů, například síranů. Prostředí podobná těmto marsovským hypersalinním oblastem jsou například poušť Atacama v Chile, nebo Baja California v Sanfranciském zálivu. V těchto oblastech byla naměřena největší lokální produkce metanu (20 nmol/g/den) v místech sádrovcových krust s výskytem společenstev endolitických mikrobiálních organismů (Bebout et al., 2010). Je proto možné, že i v případě Marsu může atmosférický metan odkazovat na minulé mikrobiální kolonie, které působily v aridních hypersalinních prostředích evaporitických pánví. Obsahy metanu se stanovují především dálkovými spektrálními metodami z orbity Marsu.



Obrázek 4: Schéma zdrojů metanu na Marsu a jeho produkce. Zdroj: upraveno podle: NASA/JPL-Caltech/SAM-GSFC/Univ. of Michigan.

2.3.4 Pigmenty

Naproti tomu fosilní organické pigmenty lze nalézt v celé škále prostředí jako například sedimenty nebo evapority (Vítek et al., 2008). Existuje celá řada druhů pigmentů, mezi které řadíme například zelená barviva-chlorofyly, oranžová barviva-karoteny nebo žlutá barviva-

xantofyly. Pro potřeby astrobiologie jsou vhodné karotenoidy, protože slouží jako výborný indikátor mikrobiální aktivity vystavené vlivu extrémnímu prostředí. Komplexní struktura pigmentu má celou řadu vlastností, které mohou využívat vědecké analytické metody. Například konjugovaná dvojná vazba v pigmentech ze skupiny karotenoidů zesiluje Ramanovský signál při detekci, díky tomu, že vlnové délky v rozmezí cca 400 - 550 nm jsou zároveň v oblasti absorpčních maxim těchto pigmentů. Rozlišovat můžeme mezi primárními karotenoidy jako součástí fotokomplexu, které umožňují fotosyntézu, a sekundární karotenoidy, které slouží jako obrana před zvýšeným UV zářením nebo oxidačním činidlem typu volných radikálů. Druhá skupina se v přírodních podmínkách vyskytuje ve větší koncentraci než primární. Z pozemských podmínek víme, že jsou karotenoidy náchylné k oxidaci a fotolýze během stárnutí. I tak se ale dokáží zachovat v prostředích bez slunečního svitu a přístupu kyslíku (Vítek et al., 2014). Karotenoidy zachovalé v geologickém prostředí mohou poukazovat na přítomnost nebo minulou přítomnost heterotrofních nebo autotrofních druhů bakterií. Heterotrofní organismy, jmenovitě například bakterie rod *Oceanithermus* získávají organický materiál z jiných zdrojů, protože nejsou schopni vlastní syntézy. Karotenoidy zde fungují jako druhotný metabolit, který heterotrofním bakteriím pomáhá ochraňovat buňky před UV zářením, oxidačním poškozením a podílejí se na mechanismech membránové fluidity (Vila et al., 2019). Autotrofní organismy se vyznačují schopností přeměňovat anorganické sloučeniny na organické. Mezi tento typ organismů můžeme zařadit například druh bakterií *Trebouxia*, který využívá primární karotenoidy a chlorofyly hlavně k získávání energie ze slunce a následné syntéze organických sloučenin (Erokhina et al., 2004).

2.3.5 Komplikace při studiu biomarkerů

Nevýhodou při detekci chemických látek a indikátorů ovšem mohou být exogenní podmínky na povrchu planety nebo jiného studovaného objektu. Povětrnostní vlivy, taktéž jako například erozní činnost vody nebo sesuvy, mohou zabránit detekci biomarkerů, popřípadě hledané vzorky přímo zničit. Podílejí se také na přirozené degradaci materiálu. Stejně tak jako velké množství ultrafialového záření dopadající na povrch, které může rozrušit strukturu studované sloučeniny. Dalším problémem, se kterým se setkáváme, je možnost tvorby biomarkerů abiogeneticky. Typicky metan, karbonáty, uhlík nebo polycyklické uhlovodíky mohou být tvořeny taktéž geologickými ději (Edwards et al, 2014). V astrobiologii v současné době může být také limitem přístrojové vybavení planetárních roverů nebo sond. Příkladem mohou být nedostatečné rozlišení detekčních přístrojů, nedostatečný rozsah vrtných souprav pro získávání

vzorků hornin, malá pohyblivost a dostup planetárních roverů, popřípadě kontaminace odebraných vzorků.

3. GEOLOGIE MARSU A BIOMARKERY V MARSOVSKÝCH HORNINÁCH

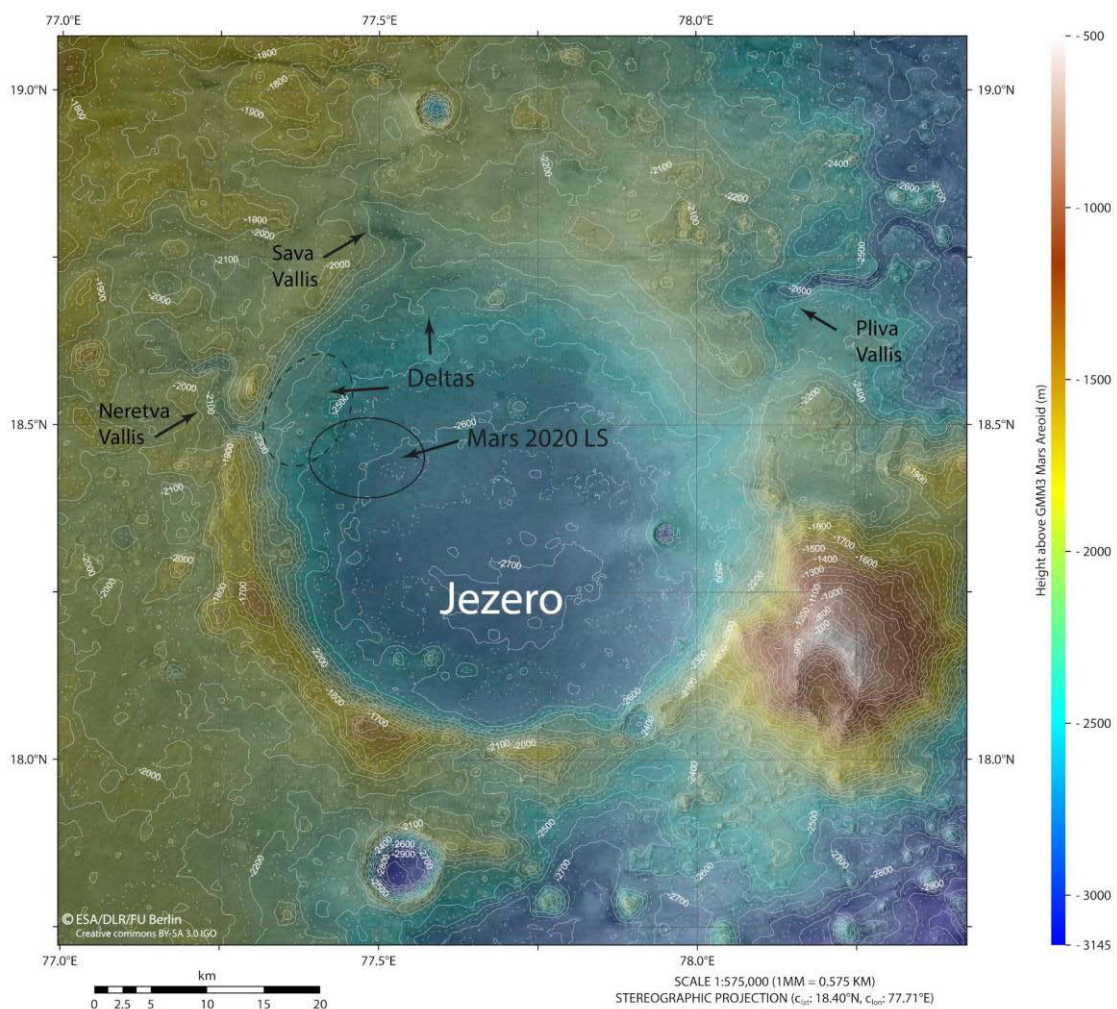
3.1 Vznik Marsu a endogenní procesy

Mars je terestrická planeta podobná Zemi, se zhruba čtvrtinovou celkovou plochou povrchu. Jedná se o čtvrtou planetu od Slunce, se dvěma měsíci Phobos a Deimos. Stejně jako Země vznikl před 4.6 miliardami let akrecí z oblaku plynu a prachu nazývaného sluneční nebo protoplanetární mlhovina. Rotace prachu způsobila postupné nabalování zrnek a zvětšování objemu nového tělesa, čemuž navíc pomohl i odpor plynu. Po následném utvoření objektu s průměrem nad 1 kilometr, hovoříme o planetesimále (Barlow, 2008). Toto těleso má již dostatečnou gravitaci, aby k sobě mohlo přitáhnout více materiálu a zvětšovat tím svůj objem na velikost protoplanety, která má průměr několik jednotek tisíc kilometrů. Takto vytvořený prvotní Mars byl nadále vystaven impaktnímu bombardování, které mohlo navíc planetu obohatit o volatilní sloučeniny. Avšak nízké koncentrace těchto sloučenin a malá velikost Marsu napovídá o tom, že k impaktům nedocházelo ve velké míře, což lze vysvětlit gravitačním působením právě formujícího se Jupiteru (Barlow, 2008). Takto utvořený Mars má 24 až 72 kilometrů silnou kůru a je velice pravděpodobně nabohacená o radioaktivní prvky, které prohřívají tuto vrstvu (Knapmeyer-Endrun et al., 2021). Mars dále nemá deskovou tektoniku tak jako Země, avšak určitá forma deskové tektoniky nejspíše figurovala v minulosti. Stopami pro toto tvrzení mohou být magnetické anomálie, které mají lineární polaritu, avšak byly sondami pozorovány i oblasti s pozměněnou orientací. Je proto možné, že se jedná například o minulé oblasti mořského dna se středooceánskými hřbety (Vita-Finzi a Fortes, 2013). Plášť Marsu je složením podobný Zemi, ovšem pouze s jednou vrstvou. Bylo tak naměřeno na základě dat z odrazu seismických vln mise InSight, kdy bylo zároveň stanoveno jádro planety, které je tekuté a má zhruba 1830 kilometrů průměru. Hustota jádra byla odvozena na hodnoty od 5,7 do 6,3 g/cm³ s rozpuštěnými lehkými prvky v jádru tvořeném převážně železem a niklem (Stahler et al., 2021).

V současné době probíhá průzkum atmosféry, povrchu a kůry Marsu pomocí roverů (například Spirit) nebo družic na oběžné dráze planety (například družice Mars Reconnaissance Orbiter). Díky detailnímu snímkování fotografiemi s vysokým rozlišením máme k dispozici podrobnou topografii povrchu Marsu včetně impaktních kráterů, sedimentárních pánví, pohoří či údolí. Bombardování materiálem sluneční soustavy postihovalo planetu převážně v prvotních

obdobích Pre-Noachian a Noachian, čili zhruba před 4,1 miliardami let (Tanaka, 1986). Zanechalo za sebou několik stovek kráterů s průměry od řádově několika stovek metrů až po tisíce kilometrů. Jednou z největších impaktních pánví je *Hellas Planitia* na jižní polokouli Marsu, která má v průměru 2,300 kilometrů a 9 kilometrů do hloubky. Je možné, že vznikla po dopadu menší protoplanety na povrch Marsu (Acuna, 1999). Na rozdíl od menších kráterů, které mají tzv. *central peak* (centrální vrchol), kráter Hellas rozvinutou prstencovou strukturu v centrálním bodě kráteru. Centrální vrchol vzniká při zdvihu podloží po průchodu rázové vlny způsobené impaktem, avšak při událostech většího rozsahu vzniká prstencová struktura díky kolapsu původní vyvýšeniny (Barlow, 2008). Další významnou impaktní pánví je například *Borealis Basin* na severní polokouli Marsu, pokrývající až 40 % povrchu planety (Andrews-Hanna et al., 2008). Impakty většího rozsahu v těchto pánvích mají za následek tavení a popraskání kůry a vytláčení většího množství roztavené horniny do dna kráteru (Ghods a Arkani-Hamed, 2011). Takto zasažené zóny bývají od pohledu tmavého zabarvení a jsou většinou vyplněny bazalty. Tyto jemnozrnné horniny vznikají hlavně vulkanickou činností a obsahují mafické minerály typu olivín ($(\text{Mg,Fe})_2\text{SiO}_4$), pyroxen (ABSi_2O_6) a plagioklas (albit ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$), anortit ($\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$)) (Soderblom a Bell, 2008). Zmapovány jsou vulkanické oblasti, které vznikaly nejvíce v období Noachian a Amazonian, čili cirká před 3,7 miliardami a 1,8 miliardami let. Na severní polokouli planety leží vulkanická oblast *Elysium Planitia*, kde v souvislosti s touto oblastí akademická obec hovoří o nejmladší vulkanické činnosti na Marsu. V oblasti zlomů *Cerberus Fossae*, která leží v této vulkanické oblasti, byla pozorována jednotka vykazující čerstvé toky láv, nízké albedo, vápníkem bohaté pyroxeny a vyvrhovaný materiál je distribuován symetricky okolo jednotky. Takovéto pyroklastické deposity se nacházejí především na Měsíci a Merkuru (Horvath et al., 2021). Ovšem nejvýznačnější vulkanickou oblastí na Marsu, a potažmo v celé Sluneční soustavě, je vulkanická oblast *Tharsis*. Nachází se v oblasti rovníku na západní polokouli a leží zde nejvyšší bod ve Sluneční soustavě, pravděpodobně stále aktivní štítová sopka Olympus Mons. Tento vulkán má výšku 26 kilometrů nad okolní reliéf a vznikl s největší pravděpodobností nad horkou skvrnou v důsledku zvýšeného toku geotermální energie. Vulkanismus se zde projevuje pahoehoe bazaltickým vulkanismem, který se vlivem nízké gravitace a malou viskozitou materiálu roztekl do enormního plošného rozsahu (Barlow, 2008). Kromě této sopky se v okolí nacházejí další čtyři významné vulkány, a to: Pavonis Mons, Ascraeus Mons, Arsia Mons a Tharsis Tholus. Co se týká samotné oblasti *Tharsis*, jedná se o jednu z nejmladších oblastí, kdy bylo podle kráterů zjištěno, že vulkanismus fungoval v této oblasti v recentní době (Hartmann et al., 1999, Neukum et al., 2004). Původní modely vzniku naznačovaly, že zdvih celé oblasti je výsledkem

konvekce z podloží, avšak na základě měření z Mars Orbiter Laser Altimeter (MOLA) je pravděpodobnější, že šlo o akumulaci sopečného materiálu v průběhu celé historie Marsu (Barlow, 2008). Toto pnutí mělo za následky popraskání kůry, vytvoření zlomových zón a taktéž přispět k utváření komplexu kaňonů a údolí *Valles Marineris*. Tento komplex se nachází na východ od *Tharsis*, a na délku měří přes 4000 kilometrů se šířkou 200 až 500 kilometrů. Dno kaňonu může být až v hloubce 10 kilometrů. Část zdrojů udává jako genezi erozi vodou, proudy magmatu, nebo jako termokras, kdy docházelo střídavě k rozmrzání a mrznutí vody. Nejpravděpodobnější teorií v dnešní době je ale tvorba *Valles Marineris* riftem. V nedávné studii bylo pozorováno pomocí sondy Mars Reconnaissance Orbiter několik kuželovitých útvarů, pravděpodobně tufové a sypané kužele, které by mohly svědčit o vulkanické aktivitě v oblasti. Studie také zmiňuje přítomnost křemíkem bohaté minerály a opál, který může značit hydrotermální aktivitu, a potažmo tak i příhodné podmínky pro mikroorganismy (Brož et al., 2017).



Obrázek 5: Výřez mapy zobrazující lokalitu kráteru Jezero s vyznačenou lokalitou přistání mise Mars 2020. Zdroj: ESA/DLR/FU Berlin, CC BY-SA 3.0 IGO

3.2 Exogenní procesy

Hydrotermální aktivita ani tekoucí voda ovšem v současnosti není pozorována na povrchu planety, avšak velké množství vody je uloženo jako vodní pára v atmosféře a v oblastech pólů, kde je voda uložena jako led spolu se suchým ledem tvořeným CO_2 . Průměr severního tělesa je cirká 1000 kilometrů a mocnost 1-3 kilometry. Průměr jižního tělesa je cirká 350 kilometrů. Tyto polární pokrývky podléhají sezonnímu vlivům, kdy na severním pólu s příchodem jara rozmrzá až 30 % sněhové pokrývky a voda se následně uvolňuje do atmosféry. S příchodem zimy opět zamrzá (Souness a Hubbard, 2012). Na jižním pólu, kde je vrchní část sněhové čepice tvořeno suchým ledem, dochází v zimě k tvorbě až metr silných bloků suchého ledu, který se s příchodem jara opět sublimací uvolní do atmosféry jako CO_2 (Kieffer et al., 2006). Takto mohou ledová tělesa fungovat na povrchu Marsu především díky nízkým teplotám a tlaku, které na Marsu panují (Barlow, 2008, str. 147). Nicméně existuje velké množství důkazů, že voda v kapalném skupenství na planetě skutečně existovala. Těmito důkazy mohou být mimo jiné například hydrotermální alterace, chemicky zvětralé minerály, eroze způsobená tokem vody nebo pozorované delty (Carr, 2006). Ehlmann a kolektiv (2010) popsali v práci serpentinit, který byl pozorován pomocí sondy Mars Reconnaissance Orbiter. V oblastech *Nili Fossae*, *Claritas Rise*, v oblasti větší jednotky tvořené olivínem nedaleko pánve *Isidis* a několika menších impaktních kráterů hovoří o možné hydrotermální alteraci ultramafických minerálů sekundárně přeměněných na serpentinit během éry Noachian. K tomuto jevu by docházelo při kontaktu horniny s hydrotermálními fluidy dosahujícími teploty až ke 400°C . Byly by zde přítomny mimo tvorby metanu i vhodné vodné podmínky pro mikroorganismy (Ehlmann et al., 2010). Avšak nejenom u olivínu jsou pozorovány chemické a mechanické zvětrávací procesy. Hlavní regiony jsou tvořeny převážně bazaltem a silikátové minerály, které jsou ve větší hloubce v rovnováze, jsou na povrchu náchylnější k narušení struktury vlivem vody nebo plynů. Právě vodu mohou některé minerály začlenit do své krystalové struktury. Vznikají tak například jílové minerály jako například kaolinit ($\text{Al}_4(\text{OH})_8\text{Si}_4\text{O}_{10}$). Dalšími příklady sekundárních minerálů mohou být hydroxidy, kde se tvoří například goethit ($x\text{-FeO}(\text{OH})$), nebo i karbonáty, sulfáty a chloridy (Carr, 2006, str 254). Častým produktem oxidace sulfidů železa je rovněž jarosit ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$), který byl například pozorován roverem Opportunity v oblasti *Burns Formation* (McLennan et al., 2005). Nejenom chemickým působením se však projevovala voda v kapalném stavu v marsovské minulosti. Zanechala za sebou také komplexy údolí, které bylo utvořeno erozní činností tekoucí vody. Ta mohla unášet i pevný materiál, který zvyšoval účinnost eroze. Většinou se tyto komplexy nacházejí častěji v jednotkách utvořených

v období Noachian, avšak novější údolí se nacházejí v okolí svahů sopek a *Valles Marineris* (Barlow, 2008, str. 150). Tyto novější komplexy mohly být utvořeny lokálními srážkami, hydrotermální aktivitou, nebo roztátým sněhem, přičemž poslední možnost mohlo způsobit tání okolního sněhu po explozi vulkánu nebo impaktu tělesa na povrch Marsu. Tyto novější komplexy jsou nejčastěji z období Hesperian nebo Amazonian (Barlow, 2008, str. 150). Příklady oblastí, kde vyhloubení údolí vodou probíhalo, může být například *Valles Marineris*, *Kasei Valles* nebo *Ares Vallis*. Toky, které s sebou unášely jemný sediment nebo jiný materiál, mohly následně tvořit deltové systémy u ústí do větších vodních ploch, kterými mohly být vyplněné impaktní krátery vodou, jezera, nebo pravděpodobně i marsovské oceány (Wezel a Baioni, 2010). Jednu takovou deltu zkoumá i planetární rover Perseverance v kráteru Jezero (viz obr. 5), z důvodu minulých ideálních podmínek k životu mikroorganismů (Mangold et al., 2021). Pro tuto práci jsou ovšem stěžejní oblasti evaporitů a solanek, které mohly v minulosti poskytovat vhodné podmínky pro rozličné druhy mikrobiálního života (například bakterie rodu *Archea*, sinice atd.). Na zemi se ve velkém množství případů podařilo těmto organismům přizpůsobit nízkému pH vodného prostředí, což naznačuje, že mohly podobné druhy života existovat i v marsovském prostředí (Knoll et al., 2005). Na Marsu se evapority vyskytují například v oblastech *Tithonium Chasma* v *Valles Marineris*, *Meridiani Planum* v *Burns Formation* nebo impaktním kráteru *Gusev* (Wezel a Baioni, 2010, McLennan et al., 2005, Carr, 2006). Jsou to lokality, kde došlo k odpaření vody ze zpravidla slaných roztoků a následné krystalizaci sedimentárních hornin, které označujeme jako evapority. Sekundárně ve zdejších podmínkách vznikaly například jarosity, anhydrity (CaSO_4), sádrovec ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), epsomit ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) nebo pentahydráty síranů. Sírany a oxidy železa mají výbornou schopnost zaznamenávat geochemickou a enviromentální minulost, navíc v nich často nalézáme i mikrofosílie a chemické stopy původní aktivity živých organismů (Knoll et al., 2005).

3.3 Biomarkery v horninách na Marsu

Mezi lokalitami na Marsu, které by mohly být cílem astrobiologického výzkumu, patří například již zmíněný *Meridiani Planum*, kde Knoll a kol. (2005) navrhli jako vhodnou oblast vzorkování možných důkazů o existenci minulého života díky hojnému výskytu síranů a oxidů železa. Bohužel McLennan a kol. (2005) hovoří o značné diagenetické minulosti místních, původně bazaltických hornin, které prodělaly epizody rekrystalizace včetně možné alterace podzemní vodou. Je proto možné, že nezachovaly žádné původní stopy po živých organismech. Další lokalitou, kde se již v současné době provádí výzkum, je oblast kráteru *Jezero* (viz obr. 5). Planetární rover Perseverance zde pátrá po známkách života v lakustrinní oblasti delty, kde

s největší pravděpodobností v minulosti vtékal vodní tok do větší vodní plochy. Lokalita se vyznačuje množstvím jílových minerálů a silikátů (zdroj: NASA). Lokalitou číslo tři v této podkapitole je impaktní kráter *Gale*. Byl blíže prozkoumáván vozítkem Curiosity. Kráter se vyznačuje větším zaznamenaným množstvím metanu, hypotéza je vznik biogenním způsobem, avšak pravděpodobnější je původ abiogenní, například chemismem mezi horninami a vodou (Webster et al., 2018). Metan se zde vyskytuje epizodicky, v létě a za teplejšího počasí více, a v zimě jeho koncentrace zase klesají. Významný je rovněž výskyt uhlíku v této oblasti. Sloučeniny pozorované v této lokalitě obsahují mimo jiné i propan, butan nebo toluen. Snad je to dáno minulou přítomností velké vodní plochy během éry Noachian v těchto místech, avšak přesvědčivé důkazy chybějí. Nicméně výzkumný tým House a kol. (2022) se v této oblasti zaměřil na metan ochuzený o izotop uhlíku ^{13}C a nabízí se zde i možnost fotolýzy stávajícího metanu nebo fotoredukce atmosférického CO_2 .

V práci vědeckého týmu Vítka a kol. (2014) byly zkoumány marsovské analogy hornin na Zemi pro zapojení Ramanovy spektroskopie ve výzkumu biomarkerů. Jako ideální podmínky pro simulaci prostředí Marsu posloužily chilská poušť Atacama a poušť Mojave, kde se v aridním prostředí daří nalézt dostatek známek i živého života. Konkrétně byly pozorovány lišejníky, sinice nebo řasy. Pomocí přenosného Ramanova spektrometru byly na vlnové délce 532 nm naměřeny velmi dobře pigmenty, konkrétně karotenoidy, které mají dobře patrný Ramanovský rozptyl. Na vlnové délce 785 nm již nebyl zaznamenán žádný organický materiál.

4. METODIKA A INSTRUMENTACE

4.1 Používané přístroje, chemikálie a PC programy

Příprava experimentu a substrátu, obě fáze ozařování, měření a následné zpracování probíhalo na půdě Ústavu geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů Přírodovědecké fakulty UK na pražském Albertově 6. Zpracování ozářených vzorků a peletování probíhalo v budově chemie v ulici Hlavova. Pro potřeby experimentu bylo vybráno laboratorní vybavení pro manipulaci se substrátem, pigmentem a peletami, které zahrnovalo nerezové pinzety, skalpely hrotnaté, laboratorní špachtle a lžičky na práškový materiál. Skladovacím materiálem byly malé znovu uzavíratelné mikrotenové sáčky s popisem a skleněné lahvičky. Dalším vybavením byly hygienické potřeby, mezi které patří mýdlo, stříčka s etanolem, nitrilové jednorázové rukavice, respirátor, ochranné brýle a alobal. Mezi samotné chemické sloučeniny patří analyticky čisté produkty značky Sigma-Aldrich, Lachema N.P. a Orbitec (viz obr. 6). První jmenovaná společnost je výrobcem produktu Magnesium Sulfate Heptahydrate (Epsom salts) dosahující

analytické čistoty 99% epsomitu, s molekulární hmotností 246,47 g/mol a kódem 63140-1KG-F. Dalším produktem firmy je Calcium Sulfate Dihydrate s obsahem 99% sádrovce. Molekulární hmotnost výrobku je 172,17 g/mol a kód je C3771-1KG. Třetím produktem je β -Carotene s analytickou čistotou 97% betakarotenu s molekulární hmotností 536,87 g/mol a kódem 22040-5G-F. Od druhého výrobce byl použit chloristan hořečnatý, bezvodý, čistý. Jako posledním je k dispozici simulant marsovské půdy nebo regolitu od firmy Orbitec, s kódovým označením JSC MARS-1A. Zdrojem suroviny je palagonitová tefra ze sypaného kužele Pu'u Nene z Havaje. Velikost zrn je menší než 1 mm a zbarvení je dáno především oxidy. Jako nádoby pro namíchaný substrát posloužily krystalizační misky bez výlevky s průměrem 70 mm a hloubkou 40 mm od společnosti Simax v počtu šesti kusů.

V průběhu experimentu byly využívány k naměření přesných dávek sloučenin laboratorní váhy značek Mettler Toledo na předvážku a Sartorius pro přesné měření navážek betakarotenu. Přesnost těchto vah je setina gramu a desetitisícina gramu. K homogenizaci substrátu čítající epsomit, sádrovec a chloristan pak byl využit kulový mlýn značky Fritsch, schopný pojmout až čtyři achátové misky se vzorkem. Tento kulový mlýn je vybaven časovačem, s maximální dobou nastavení 1 hodiny, a módem otáček deseti různých stupňů. K ruční homogenizaci substrátu s pigmentem byly pak využity achátové třecí misky a laboratorní hmoždír. K oběma fázím ozařování pak byla využita stolní lampa s UV zářivkou OSRAM Puritec HNS S 11W, s garantovanou životností 8000 hodin svícení s maximem výkonu na vlnové délce 254 nm. Pro průběh experimentu byl navíc vyroben box s vrstvou alobalu pro eliminaci vnějších vlivů a také pro ochranu před UVC zářením. Pro ohřev kontrolních vzorku na teplotu 38 °C byla použita laboratorní sušička Binder FED 53. Pro následnou výrobu pelet byl použit lis od firmy Trystom Olomouc, model H-62, spolu s vakuovou vývěvou.

Přenosný Ramanovský spektrometr používaný v tomto experimentu nese označení Enspectr RaPort využívající k excitaci Ramanovských spekter vlnovou délku 532 nm. Spektrální rozsah přístroje činní 100 a 4000 cm^{-1} , v této práci byl využit rozsah přibližně 150 až 1800 cm^{-1} . Energie laseru byla nastavena na cca 40 mW pro všechny analýzy. Spektrometr váží zhruba 2 kg je vybaven baterií s dobou výdrže cca 8 hodin. Může být používán v manuálním (detailní nastavení měřících podmínek uživatelem) i AUTO režimu, spolu se zabudovaným tabletem značky Samsung, ale využívá i počítačový software Enspectr Professional. Jako standard jsme použili benzonitril. Pro následnou úpravu výsledných spekter byl aplikován program GRAMS/AI verze 8.0 od společnosti Thermo Scientific. Pro grafickou úpravu až po finální výstupy obrázků byl použit program Inkscape verze 1.1.2.



Obrázek 6: Hlavní chemické složky tohoto experimentu. Horní řada zleva: simulant marsovského regolitu, betakaroten, sádrovec. Spodní řada zleva: epsomit, chloristan.

4.2 Postup experimentu

4.2.1 Příprava substrátu

Před samotným začátkem přípravy substrátu byly rozpočítány hmotnostní poměry sádrovce, epsomitu a chloristanu. Obsahy pigmentu jsou velmi malé, proto se do výsledného poměru nezapočítávaly. Vycházelo se z předpokladu, že je cílem experimentu ozařovat dvě replikace vzorků o dvou koncentracích betakarotenu a následně určit dopad UV záření a působení chloristanu na rozpad tohoto pigmentu. Pro jednodušší navážení byly vybrány koncentrace betakarotenu v hodnotách 10 ppm a 100 ppm. Dopředu se počítalo jak s ozařovanými vzorky, tak s kontrolními, navíc pro lepší simulaci marsovského prostředí byly vybrány i vzorky se simulantem marsovského regolitu JSC MARS-1A na povrchu. Vzorky byly rozděleny do tří vrstev, na dně s obsahem pigmentu, prostřední obsahující pouze čistý substrát a vrchní vrstvu, opět s obsahem pigmentu. Celý experiment je rozdělen mezi dva bloky, čtyřdenní ozařování a osmidenní ozařování. Tyto dvě etapy mají za cíl porovnat dvě rozdílné expozice betakarotenu UV záření a následně rozdíly zhodnotit.

V prvotní fázi bylo rozhodnuto namíchat substrát z epsomitu a sádrovce v poměru 50:50. V marsovském prostředí se v půdě navíc vyskytují soli kyseliny chloristé v obsahu zhruba 0,5

až 1 %, a proto bylo 1 % chloristanu započítáno do navážky substrátu. Jedna vrstva substrátu u krystalizační misky vychází na 40 g materiálu, proto bylo celkem naváženo 1440 g materiálu, kde bylo uplatněno 14,4 g chloristanu, 712,8 g sádrovce a 712,8 g epsomitu. Takto připravený substrát se nejprve prvotně promíchal v laboratorním hmoždíři, z důvodu lepšího promísení chloristanu se zbytkem materiálu. Následně byl substrát umístěn do achátových misek kulového mlýnu Fritsch (viz obr. 7), kde byl materiál 8 minut homogenizován na stupeň 5.

Všechny následující kroky byly následně provedeny u čtyřdenního i osmidenního ozařování.



Obrázek 7: V levé části je zobrazen kulový mlýn s achátovou miskou, sloužící ke snazší homogenizaci substrátu. V pravé části je zobrazena fáze vrstvení pigmentové a čisté vrstvy substrátu do krystalizační misky. Patrné alobalové půlkruhy sloužící k oddělení vrstev substrátu.

Pro takto připravený substrát byl následně navážen pigment ve formě tří dávek 0,008 g betakarotenu pro první 100 ppm trojici misek. Pro druhou trojici misek byl pigment v namíchaném substrátu naředěn desetkrát na koncentraci 10 ppm. Obsahy pigmentu a substrátu se následně v achátových třecích miskách homogenizovaly na jednolitý materiál. Mohlo tedy probíhat vrstvení do krystalizačních misek, vždy za patřičného stlačení a zarovnání materiálu s ryskou na stěně misky. Pro lepší přehlednost byly vrstvy odděleny vždy dvěma alobalovými mezikružími (viz obr. 7). Takto oddělené vrstvy byly stále nekryté vůči UV záření, avšak dobře rozeznatelné při odebrání jednotlivých vrstev u dalšího zpracování.

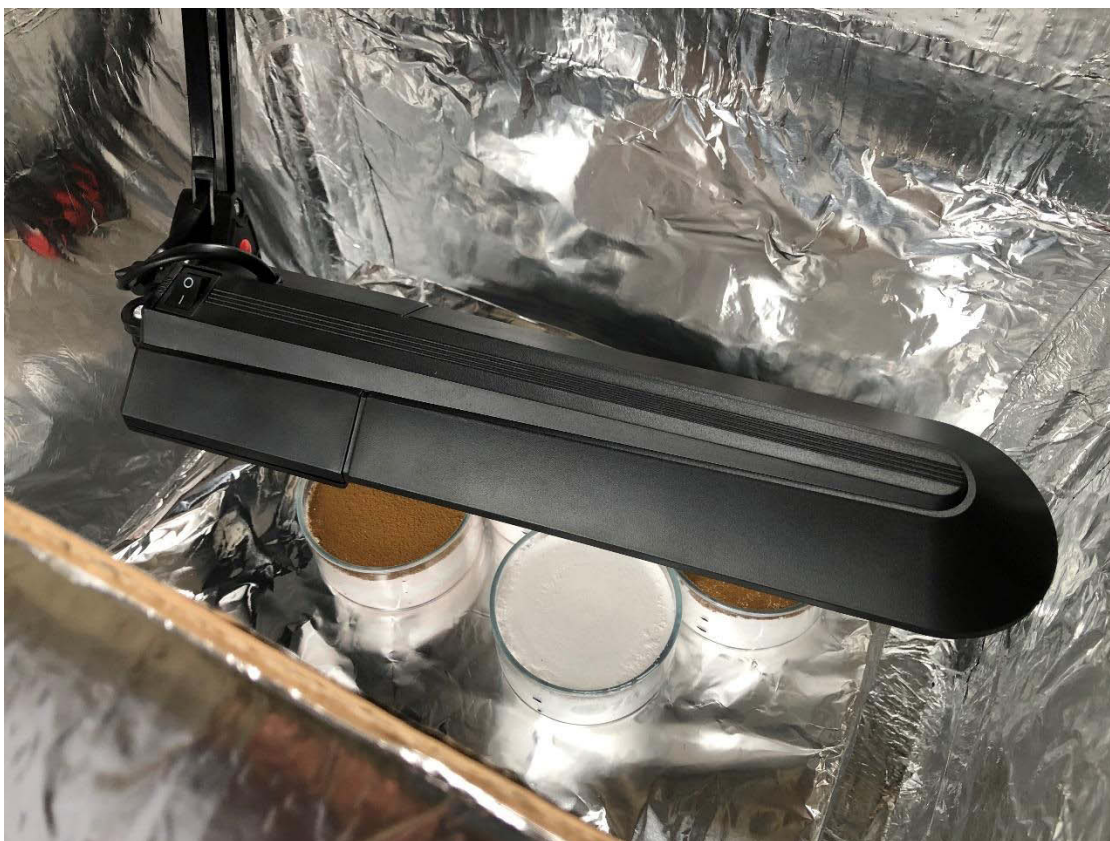
U konkrétních vzorků by následně povrch posypán cca 1 mm silnou vrstvou simulantu marsové půdy (viz obr. 8).



Obrázek 8: Připravené vzorky pro spuštění fáze ozařování. Zleva: kontrolní vzorky, vzorky pro ozařování bez vrstvy marsového simulantu, poslední dvojice je určena pro ozařování, ale s vrstvou simulantu marsové půdy na povrchu. Vrstva je silná cca 1mm.

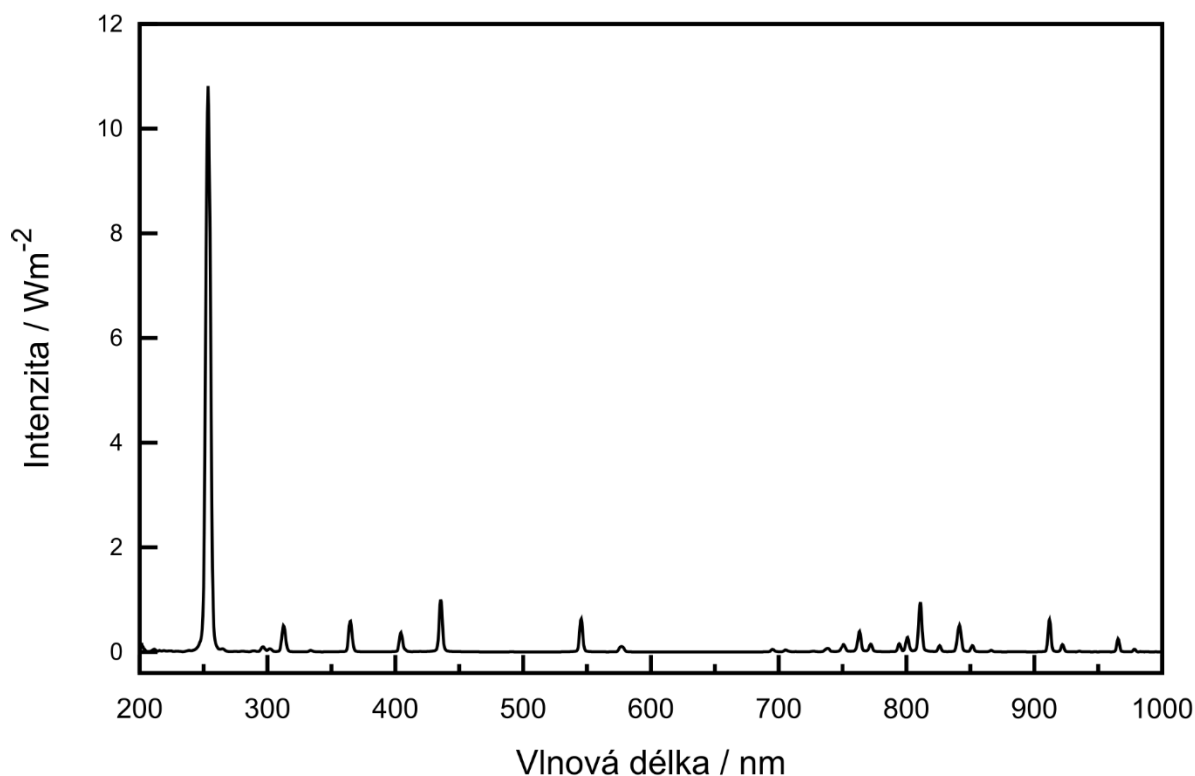
4.2.2 Ozařování vzorků zdrojem UV záření

Takto hotové vzorky byly připraveny pro další fázi experimentu ozařování, kdy byl jako hlavní prostor experimentu zvolen uzavíratelný kartonový box s vnitřní vrstvou alobalu pro minimalizaci vnějších vlivů a zároveň úniku UV záření z lampy. Do tohoto boxu bylo vloženo rameno stolní lampy s UV zářivkou OSRAM (viz obr. 9).



Obrázek 9: Prostor experimentu s uloženými vzorky připravenými k fázi ozařování UV zářivkou. Stejná konfigurace platila pro čtyřdenní i osmidenní etapu.

V prostředí Marsu je za ideálních podmínek záření ve škále vlnové délky 200–400 nm cca od 2 do 55 W/m² (Rouquette et al., 2020). V případě tohoto experimentu byla využita UV zářivka OSRAM Puritec HNS S 11W, která po výpočtu záření z 5 cm výšky na vzorky dosahovala o cca 10% menší účinnosti než při kontaktní vzdálenosti. Z 5 cm tak ve škále 200–400 nm dosahovala 50 W/m² a v hlavním spektru UVC 254 nm, které má největší účinnost na rozpad betakarotenu, zhruba 45 W/m² (viz obr. 10). Po ukončení ozařování byla zjištěna zvýšená teplota uvnitř experimentálního prostoru, proto byl pomocí bezkontaktního infračerveného teploměru Omega změřen povrch vzorků. Byla naměřena teplota 36–40°C. Spolu s ozařovanými vzorky byly po jednom kusu vzorku 100 ppm a 10 ppm umístěny do laboratorní sušárny značky Binder, kde byl testována reakce pigmentu na dlouhodobě zvýšenou teplotu. Zde bylo nastaveno sušení na dobu neurčitou při teplotě 38 °C. Stejně jako ozařování UV zářivkou, i zde byly zvoleny dvě etapy, čtyřdenní a osmidenní.



Obrázek 10: Výřez elektromagnetického spektra produkovaného zářivkou OSRAM Puritec HNS S 11 W a změřeno přístroje

4.2.3 Příprava pelet

Vzorky po ukončení fáze ozařování byly vzorky přeneseny do laboratoře Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty UK, kde byly dále zpracovány do podoby malých pelet (tablet) s průměrem 1 centimetr. Postup při procesu výroby pelety byl v několika krocích. Jako první bylo podstatné odebrání vrstvy po vrstvě z krystalizační misky, aby mohly být rozděleny na svrchní (1V) a spodní (2V) vrstvu. Prostřední vrstva čistého substrátu nebyla uplatněna, stejně jako svrchní vrstva marsovského simulantu u určitých vzorků. Vše za častého čištění pomůcek etanolem, jako prevence proti kontaminaci. Tyto vrstvy byly následně nasypany do malých Petriho misek jako příprava k lisování do pelet. Tyto pelety jsou vyztuženy malým polypropylenovým kroužkem, který drží stabilitu pelety proti zlomení nebo rozpadu. Vkládá se do otvoru pístu lisu jako první, následovaný cca polovinou laboratorní lžičky na práškový materiál z Petriho misky. Po vložení pístu se celý vzorek aretuje v lisu (viz obr. 11) a vakuovou vývěvou se cca 15 sekund odčerpává vzduch. Následně se pákou lisu lisuje peleta na tlak 45 kN. Po vytlačení pelety pístem je uložena do označeného mikrotenového sáčku a zbytek vzorku z Petriho misky nasypan do označené lahvičky. Tento postup se uplatnil pro všech šest vzorků.



Obrázek 11: Příklad na lisování pelet na půdě Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty UK. Zde je již píst naplněn substrátem a připraven k lisování.

4.2.4 Měření vzorků přenosným Ramanovským spektrometrem

Již zhotovené pelety byly přeneseny zpět na půdu ÚGMNZ, kde probíhalo měření přenosným spektrometrem Enspectr RaPort. Před každým uvedením přístroje do provozu je nutno změřit standard (v případě tohoto experimentu benzonitrilu) pro zkontrolování správnosti spektra měření. Následně byly pelety od nižší koncentrace pigmentu (10 ppm) měřeny AUTO režimem postupně na deseti náhodných bodech. Těchto 10 měření má zajistit dostatek komplexních informací pro další krok průměrování při počítačovém zpracování. Měření probíhalo se zakrytým vstupem, aby se zabránilo nechtěnému vlivu světla a také z bezpečnostních důvodů. Na obrázku (obr. 12) je stínidlo odkryto při vkládání nové pelety na měření. Takto změřené

spektrum bylo ukládáno do složky spolu s označení koncentrace pigmentu (10 ppm, 100 ppm), provedením vzorku (kontrolní, ozářený bez použití simulantu, ozářený s vrstvou simulantu) a označení vrstvy (1V, 2V). Tento postup se opakoval pro všech dvanáct pelet. Následně byla data vyexportována do programu GRAMS/AI.



Obrázek 12: Přenosný Ramanovský spektrometr Enspectr RaPort s peletou přiloženou přímo na snímací zařízení. Takto probíhalo měření každé pelety v 10 náhodných bodech. Stínítko laseru sejmuto z důvodu pořízení fotografie.

4.2.5 Zpracování naměřených dat v PC programech

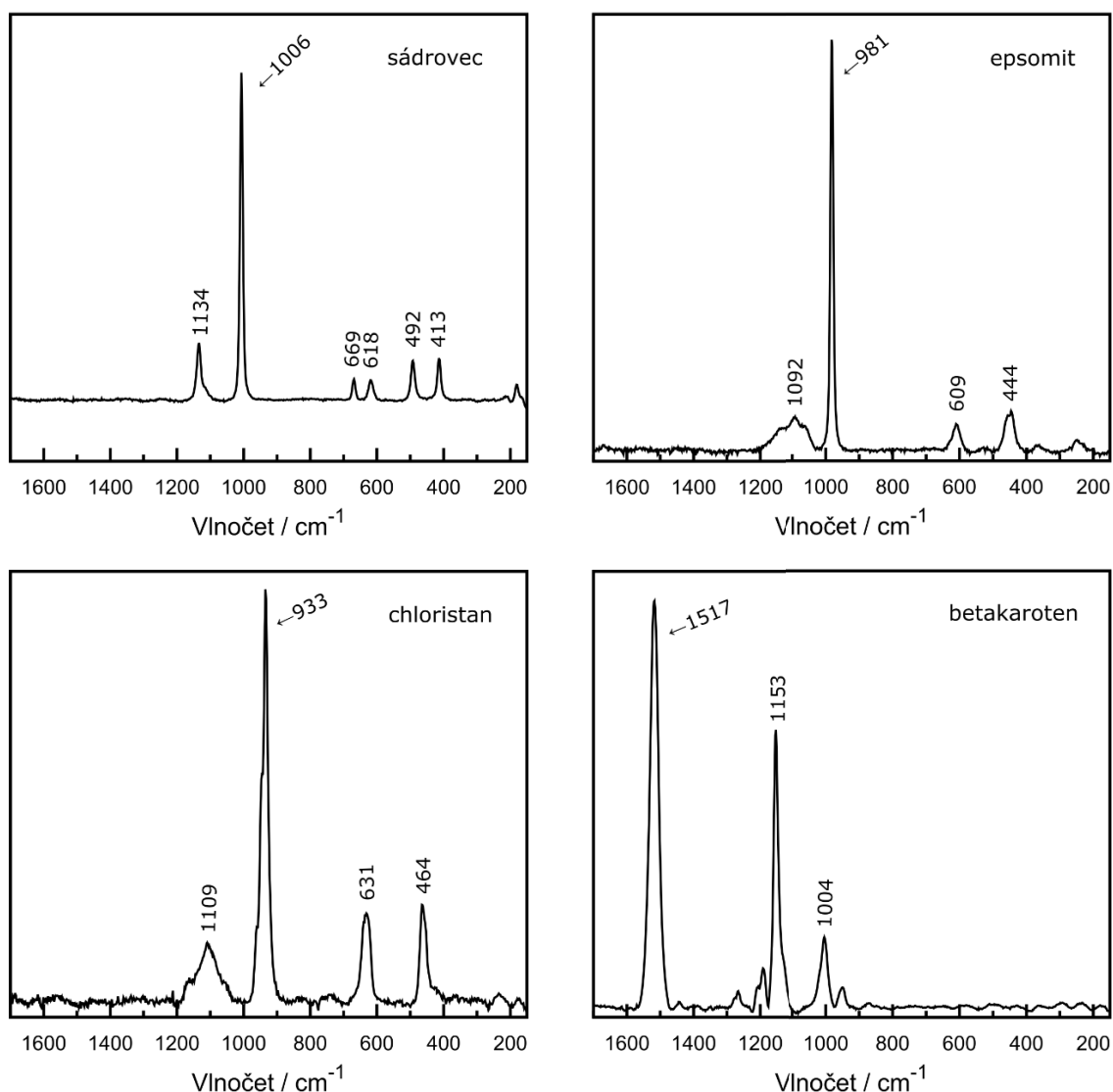
V PC programu GRAMS/AI byla data nejprve překonvertována do formátu SPC a následně funkcí *Baseline Correction* ručně opravena hodnota pozadí pro znázornění požadovaných hodnot. Takto byla provedená funkce u všech měření. V ojedinělých případech anomálního spektra, kterým může být například kontaminace, bylo toto spektrum vyřazeno z datasetu a

nebylo zahrnuto do následného kroku průměrování (*Average*). Takto průměrná spektra byla vytvořena pro všechny měřené vrstvy a zahrnuta do kapitoly 5.2. Finální spektra byla v posledním kroku zpracována do podoby ilustračních obrázků v grafickém programu Inkscape. Přidány byly popisky os, popřípadě označení maxim Ramanovských pásů. Data byla následně vyexportována do formátu PNG.

5. VÝSLEDKY MĚŘENÍ

5.1 Popis spekter čistých látek

Laboratorní chemikálie využity v tomto experimentu byly zvláště změřeny jako čisté látky pro kontrolní účely. Ramanovská spektra na obrázku (obr. 13) zahrnují sádrovec, epsomit, chloristan a betakaroten v rozsahu od 1800 do 100 cm^{-1} . Na prvním spektru sádrovce je možno označit maximum Ramanovského pásu 1136, který znázorňuje ν_3 antisymetrickou valenční vibraci ν_3 (SO_4). Vrcholy 671 a 620 lze označit jako ν_4 antisymetrické deformační vibrace SO_4 . Maximum 1008 označuje s největší pravděpodobností ν_1 symetrickou valenční vibraci SO_4 . Maxima 494 a 415 označují ν_2 symetrickou deformační vibraci taktéž SO_4 (Liu et al., 2009). U epsomitu, jakožto dalšího síranu, jsou maxima ve velmi podobných polohách, kdy maximum Ramanovského pásu 1094 označuje ν_3 antisymetrickou valenční vibraci SO_4 . Maximum 983 označuje ν_1 symetrickou valenční vibraci SO_4 . Maximum Ramanovského pásu 611 je ν_4 antisymetrické deformační vibrace SO_4 . Hodnota 444 pak označuje ν_2 symetrickou deformační vibraci SO_4 (Wang et al., 2006). Spektrum chloristanu zobrazuje dvě hlavní maxima 1111 a 935, kdy první znázorňuje ν_3 asymetrickou valenční vibraci ClO_4 a druhý pak ν_1 symetrickou valenční vibraci ClO_4 . Maxima 633 a 466 pak označují ν_4 antisymetrickou deformační vibraci a ν_2 symetrickou deformační vibraci ClO_4 (Wu et al., 2015). U spektra betakarotenu hlavní maximum 1519 označuje C=C valenční vibraci a 1155 označuje C-C valenční vibraci v konjugovaném řetězci pigmentu (Pilát et al., 2011). Maximum Ramanovského pásu 1006 označuje $\rho(\text{CH}_3)$ a anglicky se označuje *rocking vibration*. U intenzit v této kapitole bylo k hodnotám přidáno 2 cm^{-1} , jako oprava po kontrole měření funkcí standardem benzonitrilu.



Obrázek 13: Ramanovská spektra čistých látek popsána v kapitole 5.1. Horní řada zleva: sádrovec a epsomit. Spodní řada zleva: chloristan a betakaroten.

5.2 Popis spekter a interpretace výsledků měření

5.2.1 Výsledky čtyřdenního ozařování

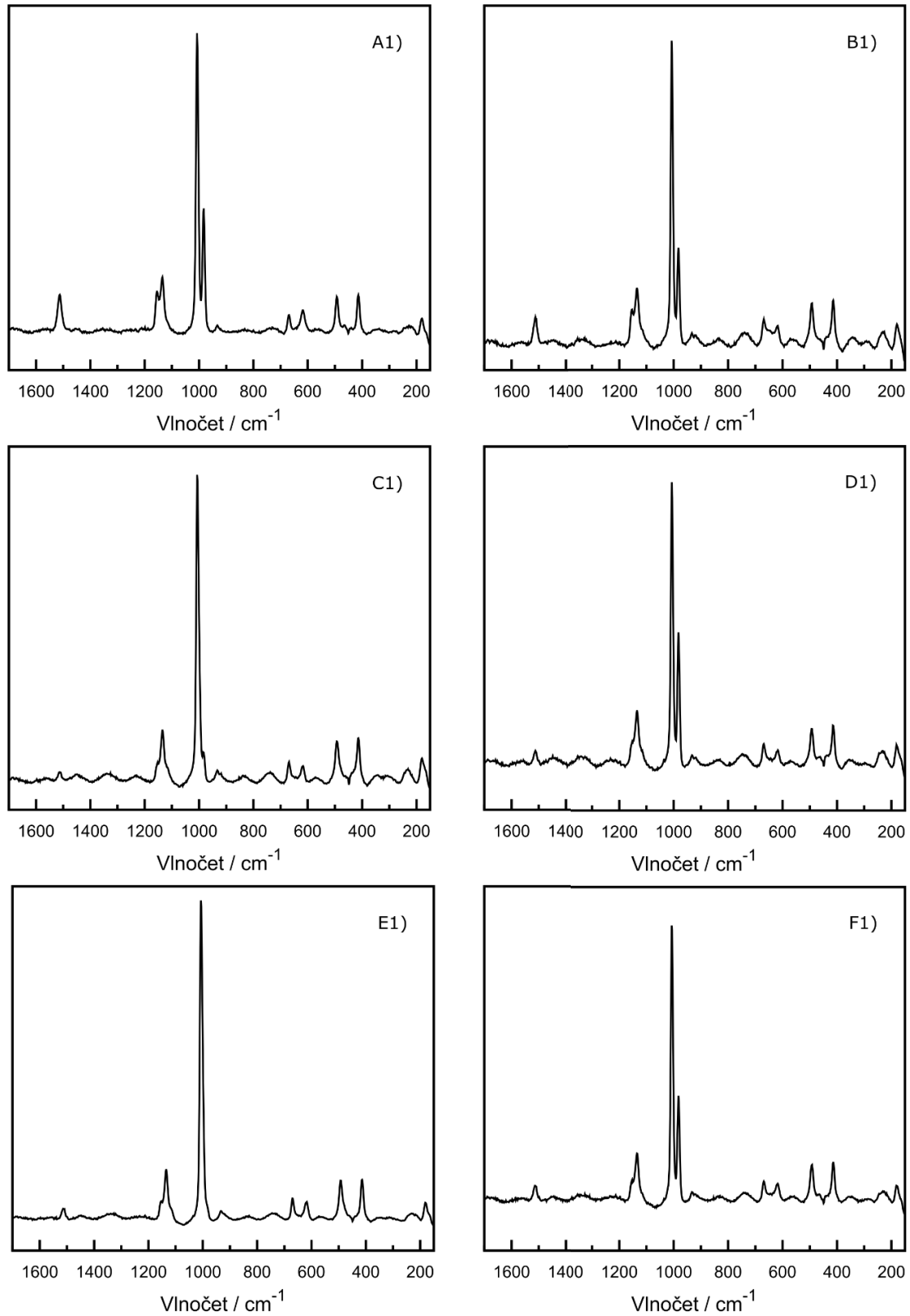
Na obrázcích (viz obr. 14 a 15) jsou zobrazeny detailní výsledky z první, čtyřdenní, fáze ozařování. Na obrázku (viz obr. 14) je shrnuta první várka zahrnující vzorky s koncentrací pigmentu 10 ppm. Horní řada, zobrazující zleva svrchní a pak spodní vrstvu kontrolního vzorku, obsahuje v obou případech zřetelně vyšší maximum Ramanovského pásu betakarotenu ν_1 , než je tomu v případě dolních dvou řad. Prostřední řada obsahuje zleva svrchní a spodní vrstvu ozařovaných vzorků bez marsovského simulantu. Spodní řada pak obsahuje zleva svrchní a spodní vrstvu vzorku s použitím JSC MARS-1A, simulantu marsovského regolitu. V obou ozařovaných vzorcích je také rozdílná hodnota ν_1 epsomitu. Intenzita ν_1 Ramanovského pásu

sádrovce je ve všech případech koncentrace 10 ppm podobná, stejně jako hodnoty ν_2 a ν_4 SO_4 a ClO_4 .

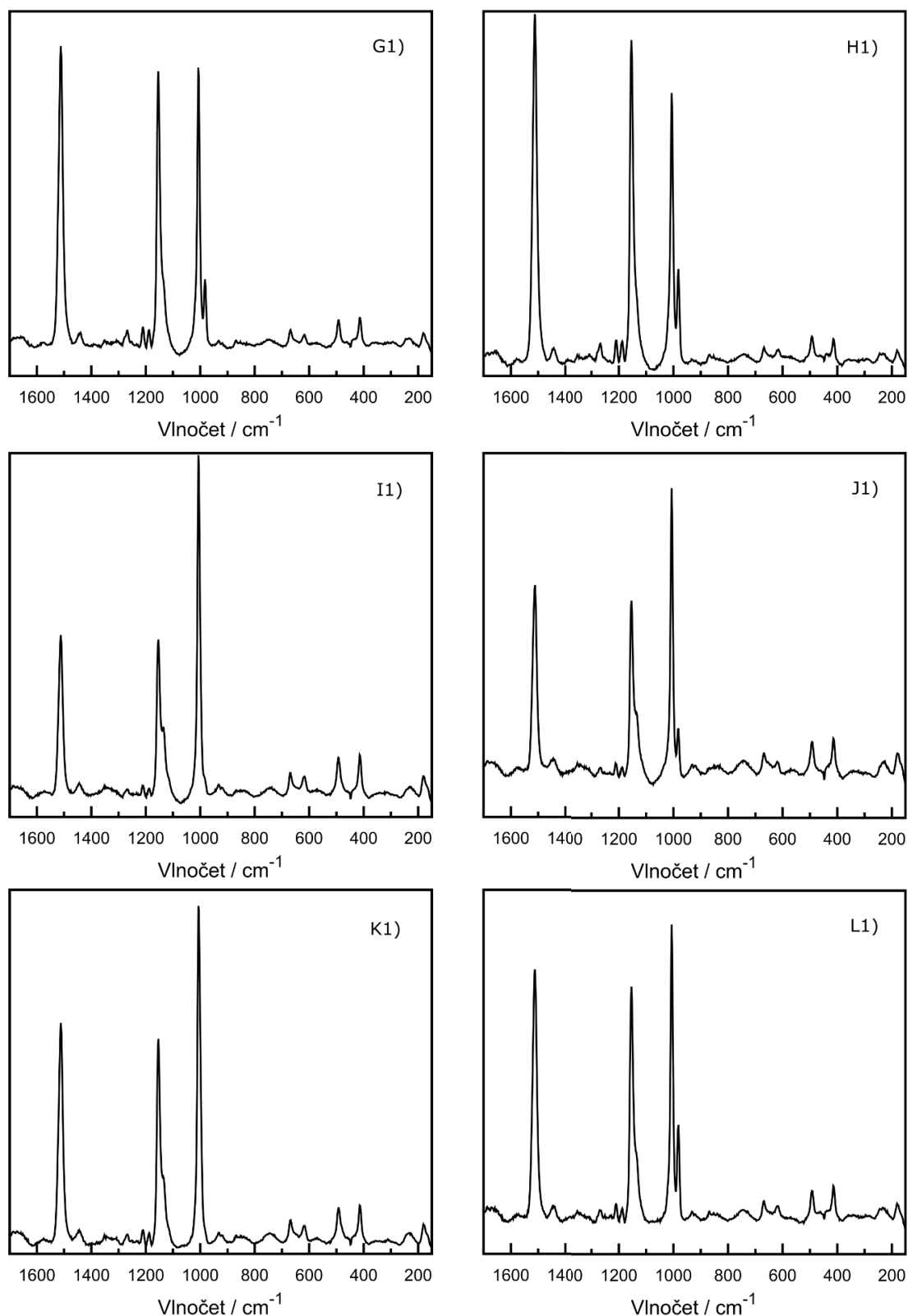
Na obrázku (viz obr. 15) jsou pak zobrazeny výsledky vzorku obsahující koncentraci 100 ppm z první etapy ozařování. Rozložení řad je stejné jako u předchozího obrázku: svrchní řada kontrolní, prostřední řada ozařované bez vrstvy simulantu a spodní řada ozařované s použitím simulantu. Stejně jako u předchozí koncentrace, i zde je u kontrolních vzorků patrné poměrově zvýšená intenzita ν_1 pásu pigmentu, což může být zapříčiněno absencí UVC záření a zvýšené teploty produkované zářivkou. I zde je patrný rozdíl v hodnotách ν_1 SO_4 epsomitu. Intenzity ν_2 Ramanovského pásu a ν_4 SO_4 a ClO_4 jsou i zde ve všech případech podobné.

Hodnota poměru intenzit ν_1 karotenoidového pásu a ν_1 pásu sádrovce je brána jako základní charakteristika vzorku v této práci. Poměry (viz tab. 1) jasně ukazují, o kolik se liší změny koncentrace betakarotenu mezi kontrolními (KO) a ozařovanými (NR-bez použití simulantu, REG-s použitím simulantu) vzorky. Změny jsou rovněž patrné mezi horní (1V) a spodní (2V) vrstvou, stejně tak mezi koncentracemi 10 ppm a 100ppm. Poměry mezi jednotlivými vzorky 10 ppm koncentrace ukazují, že k největšímu úbytku koncentrace betakarotenu došlo u ozařovaných vzorků, navíc ještě s větším důrazem u prvních vrstev. U koncentrace 10 ppm prvních vrstev je poměr u KO 0,12, u NR 0,03 a u REG 0,03, což značí úbytek o cca 75%. U koncentrace 10 ppm druhých vrstev je poměr u KO 0,09, u NR 0,05, u REG 0,05, což značí úbytek o cca 40%. U koncentrace 100 ppm prvních vrstev je poměr u KO 1,07, u NR 0,47 a u REG 0,65, což značí úbytky o cca 60% a cca 40%. U koncentrace 100 ppm druhých vrstev je poměr u KO 1,29, u NR 0,66 a u REG 0,84, což značí úbytky o cca 50% a cca 30%.

Zvláštní postavení pak zauímají poslední dva řádky v tabulce (viz tab. 1), kde vzorky označují kontrolní měření substrátu a pigmentu vystaveným zvýšené teplotě. Zde nebylo přítomno UVC záření, pouze zde probíhalo otestování citlivosti pigmentu na teplotu 38°C. Poměr u koncentrace 10 ppm je 0,03 a u koncentrace 100 ppm je 0,76. Úbytek pigmentu je tak cca 75% a cca 25% přičemž vliv teploty je diskutován v kapitole 6.2.



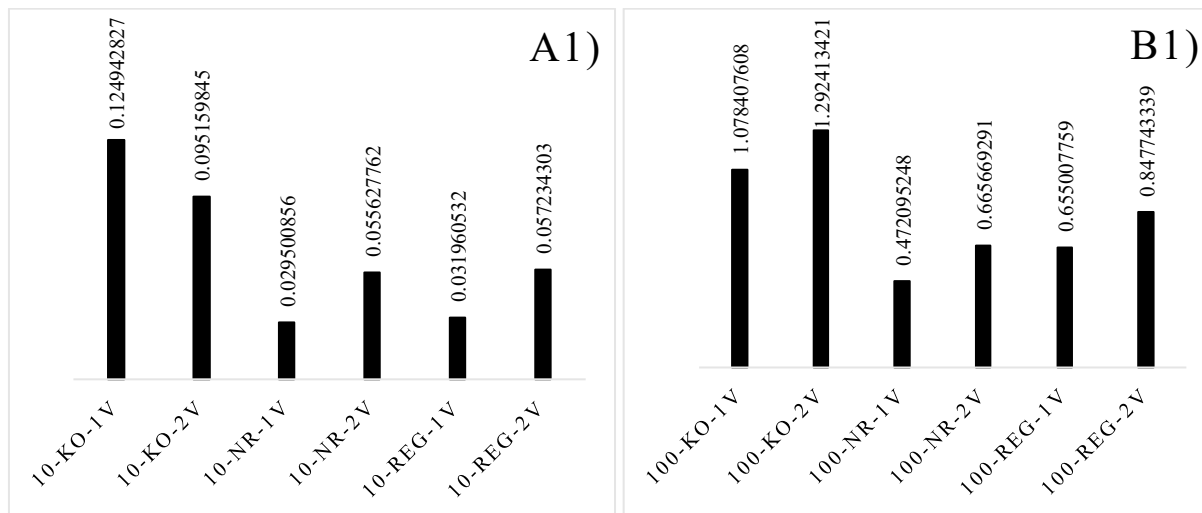
Obrázek 14: Ramanovská spektra vzorků s koncentrací 10 ppm po čtyřdenním ozařování. Horní řada zleva: svrchní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 10 ppm. Prostřední vrstva zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 10 ppm. Dolní řada zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 10 ppm.



Obrázek 15: Ramanovská spektra vzorků s koncentrací 100 ppm po čtyřdenním ozařování. Horní řada zleva: svrchní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 100 ppm. Prostřední vrstva zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 100 ppm. Dolní řada zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 100 ppm.

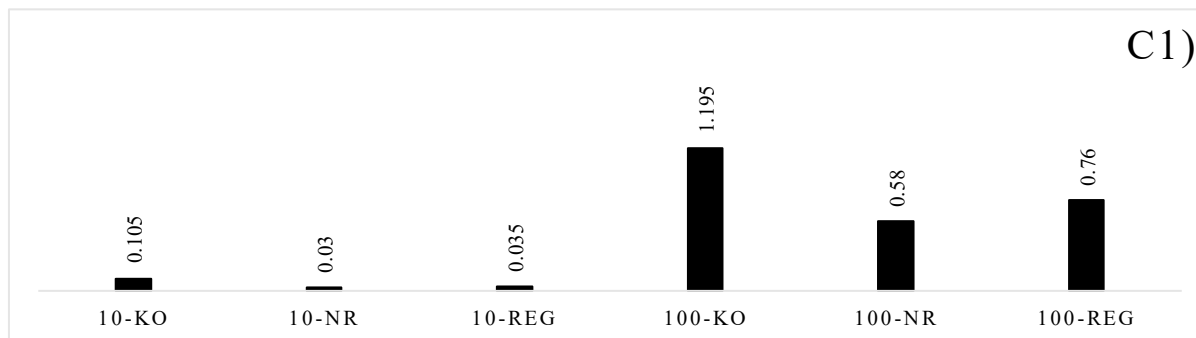
	Intenzita v(C=C) karotenoidů	Intenzita v(C-C) karotenoidů	Sádrovec	Epsomit	Poměr v/gyps	Průměr jedné kádinky
10-KO-1V	1639	1808	13118	5423	0,12	0,110
10-KO-2V	637	801	6694	2154	0,09	
10-NR-1V	224	469	7593	716	0,03	0,043
10-NR-2V	428	706	7694	3694	0,05	
10-REG-1V	447	776	13986	-	0,03	0,045
10-REG-2V	608	821	10623	4053	0,05	
100-KO-1V	11567	10591	10726	2614	1,07	1,185
100-KO-2V	9591	8878	7421	2596	1,29	
100-NR-1V	4441	4326	9407	484	0,47	0,569
100-NR-2V	4227	3884	6350	1071	0,66	
100-REG-1V	5487	5093	8377	290	0,65	0,751
100-REG-2V	6236	5825	7356	2390	0,84	
Sus_4d_10	642	1130	22611	3995	0,03	
Sus_4d_100	10119	9251	13156	2422	0,76	

Tabulka 1: Výsledné hodnoty intenzit Ramanovských pásů ve vzorcích 10 ppm, 100 ppm po čtyřdenním ozařování a kontrolní vzorky po vystavení čtyřdennímu zvýšení teploty na 38°C.



Graf 1: Graf A1 označuje poměr v/gyps u vrstev koncentrace 10 ppm čtyřdenního ozařování. KO-kontrolní, NR-bez silulantu, REG- se simulantem na povrchu, SUS- vzorky vystavené zvýšené teplotě

Graf 2: Graf B1 označuje poměr v/gyps u vrstev koncentrace 100 ppm čtyřdenního ozařování. KO-kontrolní, NR-bez silulantu, REG- se simulantem na povrchu, SUS- vzorky vystavené zvýšené teplotě



Graf 3: Průměrné hodnoty poměru v/gyps obou vrstev vzorku po čtyřdenním ozařování.

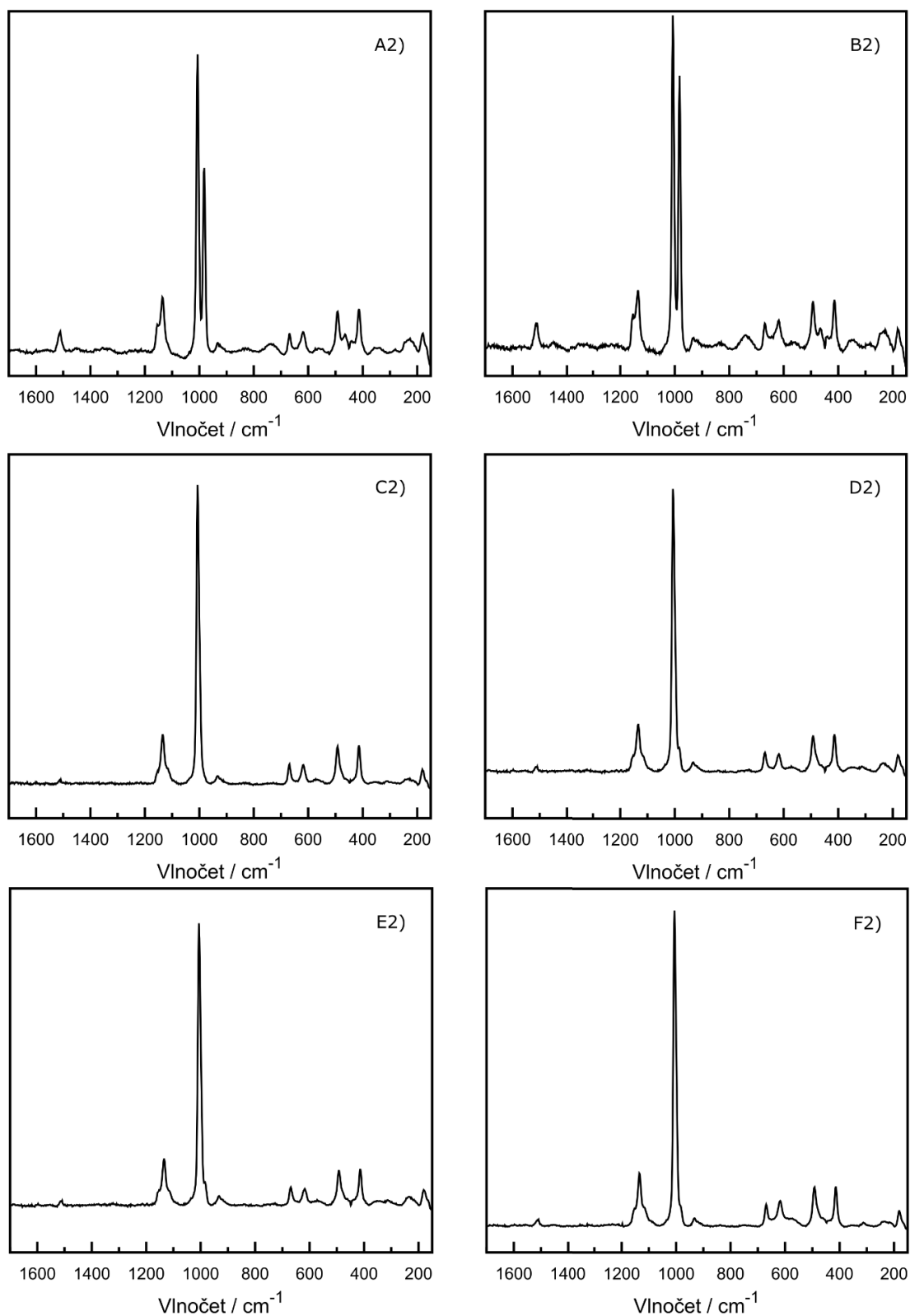
5.2.2 Výsledky osmidenního ozařování

Ramanovská spektra (viz obr. 16 a 17) označují druhou, osmidenní fázi ozařování. Rozložení obrázku je stejné jako u předchozího čtyřdenního ozařování. I zde, u koncentrací 10 ppm (viz obr. 16), jsou patrné změny intenzit u ν_1 betakarotenu u kontrolních a ozařovaných vzorků. U kontrolních vzorků jsou koncentrace pigmentu viditelně vyšší, což může být opět zapříčiněno absencí UVC záření a zvýšené teplotě produkované zářivkou. Vzorky vystaveny byly pouze laboratorní teplotě cca 25°C. Opět sledujeme rozdílné intenzity ν_1 epsomitu. Intenzita ν_1 Ramanovského pásu sádrovce je ve všech případech koncentrace 10 ppm podobná, stejně jako hodnoty ν_2 a ν_4 SO_4 a ClO_4 .

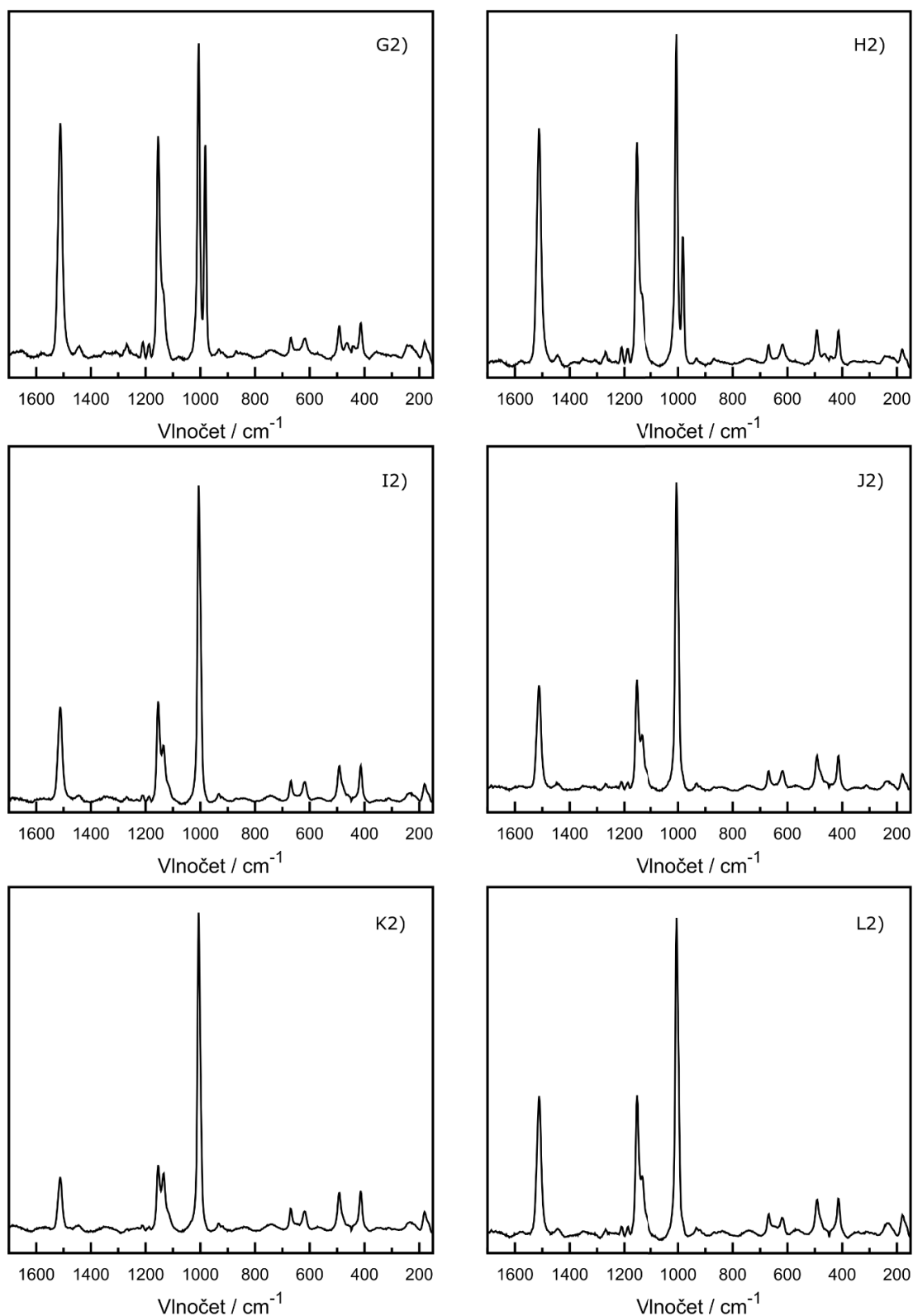
I u koncentrací 100 ppm (viz obr. 17) je rozložení řad stejné. Pozorujeme rozdílné koncentrace pigmentu mezi kontrolními a ozařovanými vzorky, stejně tak mezi první a druhou vrstvou. Intenzity ν_2 Ramanovského pásu a ν_4 SO_4 a ClO_4 jsou i zde ve všech případech podobné.

I zde jsou hodnoty poměru intenzit ν_1 karotenoidového pásu a ν_1 pásu sádrovce brány jako základní charakteristiky vzorků (viz tab. 2). U koncentrace 10 ppm prvních vrstev je poměr u KO 0,06, u NR 0,01 a u REG 0,01, což značí úbytek o cca 80%. U koncentrace 10 ppm druhých vrstev je poměr u KO 0,08, u NR 0,01, u REG 0,02, což značí úbytky o cca 85% a o cca 75%. U koncentrace 100 ppm prvních vrstev je poměr u KO 0,74, u NR 0,29 a u REG 0,17, což značí úbytky o cca 60% a o cca 80%. U koncentrace 100 ppm druhých vrstev je poměr u KO 0,71, u NR 0,33 a u REG 0,44, což značí úbytky o cca 55% a o cca 40%.

U vzorků určených k testu zvýšenou teplotou dochází k úbytku koncentrace betakarotenu. Poměr u koncentrace 10 ppm je 0,014 a u koncentrace 100 ppm je 0,63. Úbytek pigmentu je cca 80% a 10%.



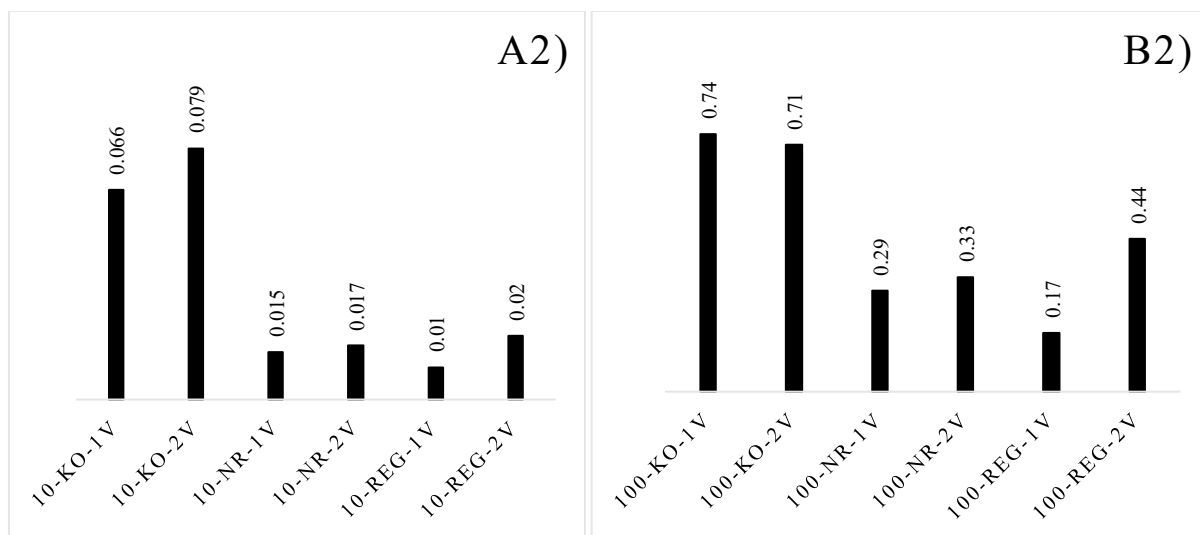
Obrázek 16: Ramanovská spektra vzorků s koncentrací 10 ppm po osmidenním ozařování. Horní řada zleva: svrchní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 10 ppm. Prostřední vrstva zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 10 ppm. Dolní řada zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 10 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 10 ppm.



Obrázek 17: Ramanovská spektra vzorků s koncentrací 100 ppm po osmidenním ozařování. Horní řada zleva: svrchní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva kontrolního vzorku s koncentrací pigmentu 100 ppm. Prostřední vrstva zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku bez vrstvy simulantu s koncentrací pigmentu 100 ppm. Dolní řada zleva: svrchní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 100 ppm, spodní vrstva ozařovaného vzorku s vrstvou marsovského simulantu na povrchu s koncentrací pigmentu 100 ppm.

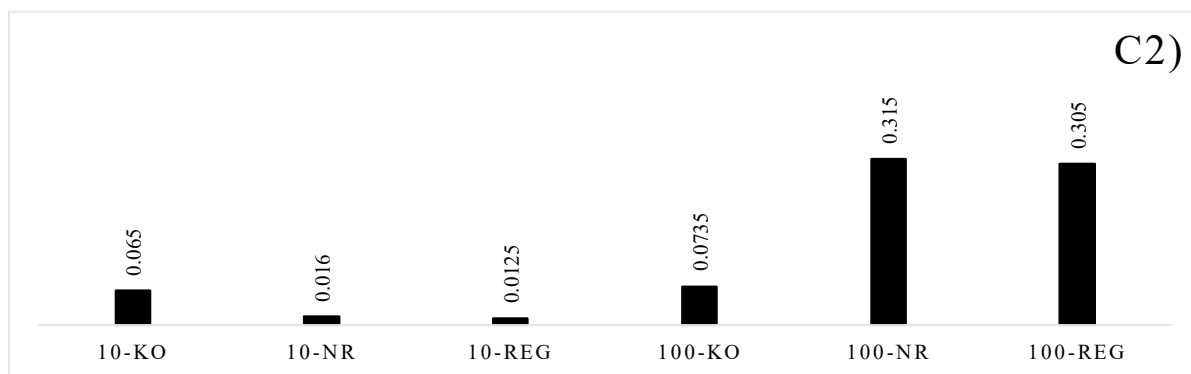
	Intenzita v(C=C) karotenoidů	Intenzita v(C-C) karotenoidů	Sádrovec	Epsomit	Poměr v/gyps	Průměr jedné kádinky
10-KO-1V	645	867	9763	9763	0,06	0,0725
10-KO-2V	655	873	8227	6740	0,08	
10-NR-1V	277	831	18098	-	0,01	0,016
10-NR-2V	221	728	12422	1080	0,01	
10-REG-1V	158	996	21415	-	0,01	0,015
10-REG-2V	396	1077	19092	1264	0,02	
100-KO-1V	7694	7273	10307	6677	0,74	0,725
100-KO-2V	11627	10941	16255	6307	0,71	
100-NR-1V	4135	4371	13792	-	0,29	0,31
100-NR-2V	4493	4750	13361	-	0,33	
100-REG-1V	2368	2891	13893	-	0,17	0,305
100-REG-2V	4595	4624	10424	-	0,44	
Sus_8d_10	265	775	17709	-	0,01	
Sus_8d_100	9950	9323	15558	-	0,63	

Tabulka 2: Výsledné hodnoty intenzit Ramanovských pásů ve vzorcích 10 ppm, 100 ppm po osmidenním ozařování a kontrolní vzorky po vystavení osmidennímu zvýšení teploty na 38°C.



Graf 4: Graf A2 označuje poměr v/gyps u vrstev koncentrace 10 ppm osmidenního ozařování. KO-kontrolní, NR-bez silulantu, REG- se simulantom na povrchu, SUS- vzorky vystavené zvýšené teplotě

Graf 5: Graf B2 označuje poměr v/gyps u vrstev koncentrace 100 ppm osmidenního ozařování. KO-kontrolní, NR-bez silulantu, REG- se simulantom na povrchu, SUS- vzorky vystavené zvýšené teplotě



Graf 6: Průměrné hodnoty poměru v/gyps obou vrstev vzorku po osmidenním ozařování.

6. DISKUZE

6.1 Vliv UV záření a chloristanu na připravený substrát

Chloristany (ang. *perchlorates*) jsou soli kyseliny chloristé. Obsahují aniont ClO_4^- a jsou to bezbarvé sloučeniny rozpustné ve vodě. Aniont se tvoří disociací kyseliny chloristé po jejím rozpuštění ve vodě, avšak naprostá většina používaných chloristanů je průmyslově vyrobená (Kucharzyk 2009). V běžném životě nalézají uplatnění v přístrojích kontrolující statickou elektřinu, obalech jídla nebo pyrotechnice. Chloristany jsou toxické pro lidské tělo, konkrétně pro štítnou žlázu a plíce. Toxicita chloristanů spočívá v jejich působení jako silného oxidačního činidla. Dříve sloužily k léčení hypertyreózy díky schopnosti chloristanů inhibovat korespondér sodíku/jodidu. Avšak moderní výzkumy potvrdily zásadní vliv chloristanů na inhibici hormonů štítné žlázy (Benjamin et al., 2006). V přírodním prostředí se chloristany vyskytují v evaporitických prostředích, například v poušti Atacama v Chile. Významnější prostředí výskytu je ovšem mimo Zemi, a to marsovská půda, někdy označována jako marsovský regolit. Zde obsahuje půda koncentrace chloristanů v rozmezí 0,5 až 1%, což je koncentrace, která byla využita i v této diplomové práci. V tomto experimentu měl chloristan úlohu oxidačního činidla, které je schopno rozrušovat chemické vazby pigmentu na jednodušší organické sloučeniny.

Původní hypotéza počítala s poklesem koncentrace pigmentu betakarotenu v základním substrátu vlivem UV záření a působením chloristanu. S delší expozicí záření by měla koncentrace klesat ještě více. V průběhu experimentu se nicméně objevil další faktor, a to vliv zvýšené teploty na rozpad, který je diskutován v kapitole 6.2. Na základě výsledků (viz tab. 3 a 4) je patrné, že se trend klesání koncentrace pigmentu potvrdil. U kontrolních vzorků, které nebyly vystaveny UV záření a zvýšené teplotě produkované zářivkou, jsou koncentrace pigmentu znatelně vyšší, než u ozařovaných vzorků. Tento trend se potvrzuje jak obou koncentrací 10 ppm a 100 ppm, tak u obou etap měření které zahrnoval čtyřdenní a osmidenní fáze (viz tab. 3 a 4). Vyšší poměry koncentrací pigmentu jsou rovněž pozorovány v prvních vrstvách vzorků (viz tab. 3 a 4).

Rozdíly koncentrací betakarotenu mezi koncentracemi 10 ppm a 100 ppm po ozařování (vždy ve stejně čtyřdenní nebo osmidenní etapě) lze vysvětlit efektivnější chemickou reakcí chloristanu s pigmentem o nižší koncentraci v substrátu. V případě koncentrace 10 ppm jsou molekuly pigmentu vystaveny větším relativním koncentracím chloristanu, který může reagovat s pigmentem, a štěpit ho na jednodušší organické sloučeniny. V případě 100 ppm je ve vzorku mnohem více organického pigmentu a relativní úbytek koncentrace pigmentu je tedy nižší.

Rozdíly koncentrací betakarotenu mezi čtyřdenním a osmidenním měřením lze vysvětlit délkou expozice ozařováním zdrojem UVC (potažmo vystavením déle vyšší teplotě). V této fázi hraje roli fotosenzitivita pigmentu, kdy záření kratších vlnových délek působí větší mírou na molekuly pigmentu. Pigment vstřebává UVC záření díky konjugaci dvojných vazeb a degradace tak probíhá efektivněji. Na stejném principu funguje využití sekundárních karotenoidových pigmentů extrémofilními organismy. Například halofilové využívají stejného principu interakce v pigmentu karotenoidu jako ochrany před UV zářením (viz kap. 2.3.4). Kontinuálně produkují sekundární pigmenty, které slouží jako buffer UV záření. Z dlouhodobého hlediska se chloristan podílí na snížení koncentrace pigmentu v menší míře než UVC záření. Rozdíly mezi svrchní a spodní vrstvou má vysvětlení v prostupnosti materiálu UV zářením. Svrchní vrstva je vystavena expozici záření celou svou plochou povrchu. Vzhledem k relativně nízké celkové hustotě vzorku dochází k průniku určité části UVC záření i do spodní vrstvy s pigmentem.

	Kontrola 10 ppm 1. vrstva	Kontrola 10 ppm 2. vrstva	Bez regolitu 10 ppm 1. vrstva	Bez regolitu 10 ppm 2. vrstva	S regolitem 10 ppm 1. vrstva	S regolitem 10 ppm 2. vrstva	Zahřívání v sušárně na 38° C 10 ppm
4 denní experiment	0,12	0,09	0,03	0,05	0,03	0,05	0,03
8 denní experiment	0,06	0,08	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01

Tabulka 3: Poměr intenzit Ramanovských pásů ν_1 (C=C) a ν_1 (SO₄) pro experiment s koncentrací betakarotenu 10 ppm

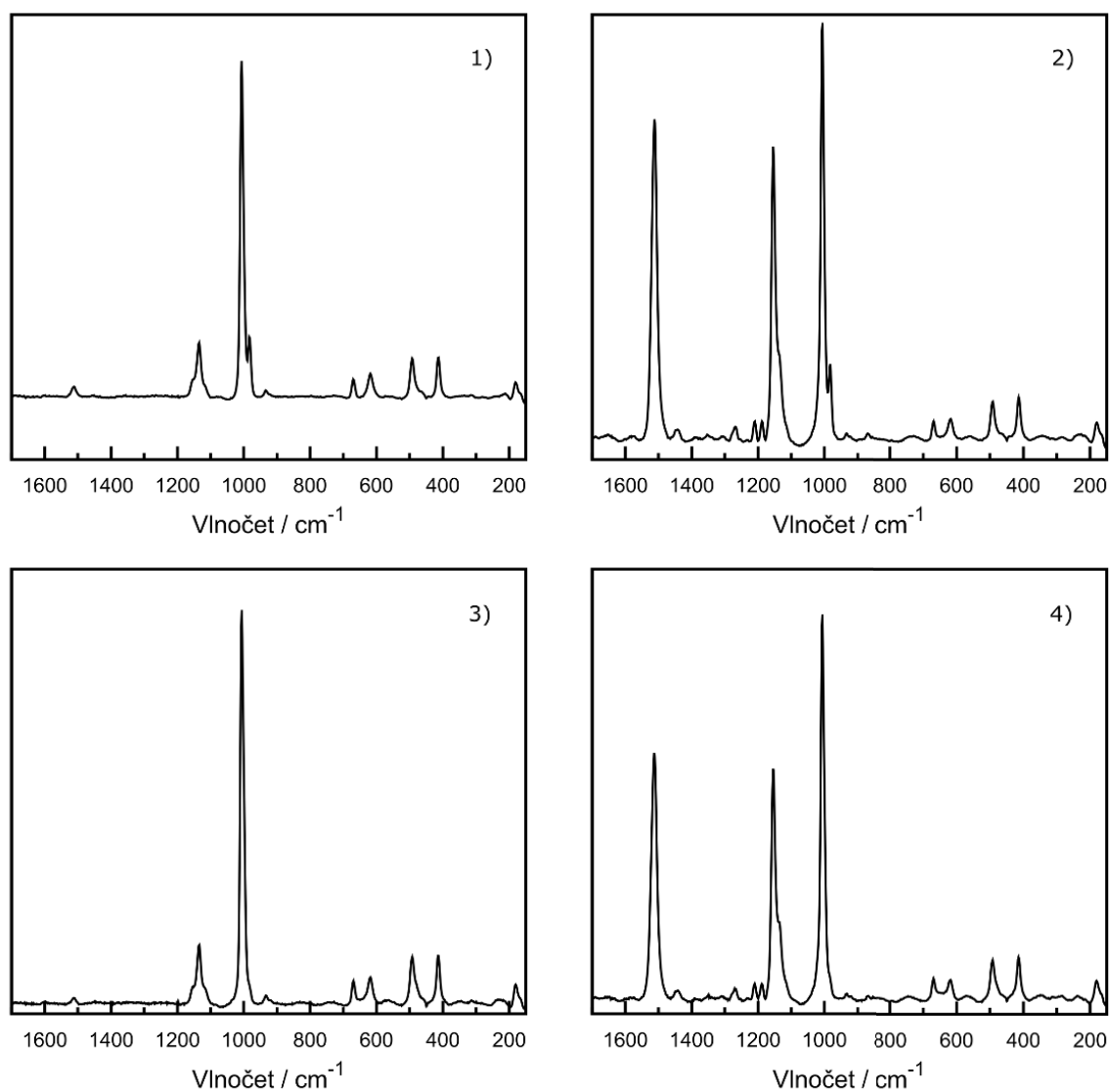
	Kontrola 100 ppm 1. vrstva	Kontrola 100 ppm 2. vrstva	Bez regolitu 100 ppm 1. vrstva	Bez regolitu 100 ppm 2. vrstva	S regolitem 100 ppm 1. vrstva	S regolitem 100 ppm 2. vrstva	Zahřívání v sušárně na 38° C 100 ppm
4 denní experiment	1,07	1,29	0,47	0,66	0,65	0,84	0,76
8 denní experiment	0,74	0,71	0,29	0,33	0,17	0,44	0,63

Tabulka 4: Poměr intenzit Ramanovských pásů ν_1 (C=C) a ν_1 (SO₄) pro experiment s koncentrací betakarotenu 100 ppm

6.2 Vliv teploty na připravený substrát

Jak již bylo zmíněno v kapitole 4.2.2, byla po první etapě ozařování naměřena v prostoru experimentu zvýšená teplota 36 – 40°C. Z důvodu vlivu zvýšené teploty na chemickou reakci oxidace bylo rozhodnuto změřit kontrolní vzorky koncentrací 10 ppm a 100 ppm ve stejných čtyřdenních a osmidenních etapách. Pro experiment byla vybrána sušička Binder FED 53, kde byly vzorky vystaveny zvýšené teplotě 38°C. Podle hypotézy by měl pigment vzhledem ke své přirozené citlivosti na teplotu i světlo prokázat úbytek své koncentrace. Vliv zvýšené teploty měl podle předpokladu vliv na chemickou reakci chloristanu s betakarotenem, navíc více, než se předpokládalo (viz obr. 18). Po čtyřdenním vystavení zvýšené teplotě poklesla koncentrace

pigmentu u 10 ppm o cca 75%, u 100 ppm o cca 25% a po osmidenním vystavení o cca 80% a 10% (viz tab. 3 a 4). Samozřejmě je potřeba brát v potaz podmínky na povrchu Marsu, kde panují průměrné hodnoty teploty v rozmezí -10 až -90°C. Aby bylo možné dosáhnout optimálních výsledků, bylo by potřeba provést experiment v prostředí s výrazně nižší teplotou, než byly dostupné v prostorách univerzity. Z tohoto důvodu se betakaroten se skladuje v mrazáku při teplotě -28°C. Ve výsledku ovšem nemá vliv teploty na rozpad betakarotenu takový vliv jako UVC záření, které bylo popsáno v kapitole výše.



Obrázek 18: Výsledná Ramanovská spektra vzorků, které byly vystavené zvýšené teplotě. Horní řada zleva: vzorky 10 ppm a 100 ppm po čtyřdenním vystavení zvýšené teplotě. Spodní řada zleva: vzorky 10 ppm a 100 ppm po osmidenním vystavení zvýšené teplotě.

6.3 Analogie experimentu k prostředí a lokalitám na Marsu

Experiment uvedený v této diplomové práci představil studium biomarkerů (v tomto případě pigmentu betakarotenu) formou odebrání vzorku ze zdroje a upravení do podoby, ve které bude vzorek lépe měřitelný. Konkrétně šlo o substrát tvořený směsí síranů, které mohou simulovat marsovské prostředí evaporitů nebo deltových systémů. V této směsi byl dále přítomen chloristan, který se běžně vyskytuje v marsovské půdě (regolitu). Klíčovou složku ovšem tvořil betakaroten, který by v přírodním prostředí značil mikrobiální aktivitu a potvrzoval by tak výskyt živých organismů. Přímo na povrchu Marsu by mohly být přítomny tyto typy biomarkerů v několika kategoriích lokalit. Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.2, na Marsu se nachází několik oblastí, které mohou být tvořeny erozní činností tekoucí vody. Konkrétně se jedná o oblasti *Valles Marineris*, *Kasei Valles* nebo *Ares Vallis*. Tyto oblasti jsou charakteristické svým údolním spádem a mohly tvořit deltové systémy u svého ústí. Tyto delty by byly ideálním prostředím pro život mikroorganismů z důvodu dostatečného přísunu minerálních látek, kyslíku a světla. Hypotéza vzniku a vývoje života na Marsu počítá s částečnými obsahy kyslíku v atmosféře. Po možném vyschnutí toku a uchování pozůstatků živých organismů v půdě, by bylo možné tyto biomarkery analyzovat bližším zkoumáním *in situ*. Evapority se nacházejí například v oblastech *Tithonium Chasma* v *Valles Marineris*, *Meridiani Planum* v *Burns Formation* nebo impaktním kráteru *Gusev*, jak již bylo zmíněno. Dalším typem lokality by mohly být oblasti pólů, kde sezónně zamrzají a rozmrzají ledové čepice. Stejně tak jako u možných vodních toků, která tvoří údolí v předešlých lokalitách, i zde by v případě vody v kapalném stavu panovaly dobré podmínky pro minulou existenci živých organismů. V případě severního pólu by mohly být přítomny halofilní mikroorganismy jako například řasy, sinice nebo bakterie, protože v tomto místě je čepice z větší části tvořena ledem. V případě jižního pólu, kde tvoří ledovou čepici převážně suchý led, mohly by existovat zástupci halofilních organismů. Ovšem překážkou v obou případech může být velmi nízká teplota během většiny marsovského roku. Třetím typem lokalit, kde by mohly v minulosti, nebo s velmi malou pravděpodobností i v současnosti existovat organismy zanechávající pigmenty jako biomarkery, je podzemní voda. Studie (Orosei et al., 2018) navrhuje, že by se v okolí jižního pólu Marsu mohly vyskytovat podzemní rezervoáry vody. Tento fenomén byl zjištěn sondou Mars Express pomocí radarového přístroje The Mars Advanced Radar for Subsurface and Ionosphere Sounding (MARSIS). Detekována byla 20 kilometrů široká anomálie v hloubce cca 1,5 kilometru, která by mohla představovat i například podzemní jezero. I tato oblast by mohla teoreticky vykazovat známky halofilních organismů. Na místě byly také přístrojem

Phoenix Lander's Wet Chemistry Lab (WCL) rovněž zjištěny zvýšené koncentrace hořečnatých, vápenatých a sodných chloristanů. Ty na jednu stranu snižují teplotu tání vody až na -70°C a mohly by představovat tenkou krustu na povrchu kapalné vody, ovšem opět představují riziko pro živé organismy z důvodu své toxicity (Orosei et al., 2018). Riziko může všeobecně představovat i UVC záření, z důvodu řidší atmosféry Marsu.

V recentní době byl jako primární cíl analýza biomarkerů a pátrání po životě mimo Zemi pro tři mise: Mars Science Laboratory s planetárním roverem Curiosity, Mars 2020 s roverem Perseverance a mise ExoMars s roverem Rosalind Franklin. Rover Curiosity v současné době zkoumá impaktní kráter Gale, který může být i vyschlým marsovským jezerem. Zdejší podmínky by mohly indikovat minulé vhodné podmínky pro existenci života, mezi které mohly patřit jak autotrofní, tak heterotrofní organismy. Nachází se zde jak množství jílových minerálů, tak síranů. Minerální asociace zahrnují fylosilikáty (skupinu smektitů nebo slídy, Valerie et., 2021) přičemž různé organismy mohly/mohou v různých sedimentárních faciích. Rovněž zde byly detekovány i toxické perchloráty. Curiosity ke studiu těchto horniny využívá mimo jiné spektroskopii a pomáhá si k odstranění svrchní oxidační vrstvy abrazivním vrtákem. V lokalitě kráteru Jezero, kterou zkoumá Rover Perseverance naproti tomu využívá techniku jádrového vrtání a následné ukládání do kapslí. Tato lokalita, která může představovat říční deltu, se opět vyznačuje převážně jílovými minerály, které mohou indikovat kapalnou vodu v minulosti. Opět zde můžeme zmínit minulé působení heterotrofních i autotrofních, popřípadě halofilních živých organismů. Pro vyzvednutí shromážděných vzorků zamýšlí úřad NASA misi Mars Sample Return, která by dovezla budoucí vzorky sesbírané roverem Perseverance a dalšími zpět na Zemi. Nicméně systémem ke kterému se tato diplomová práce nejvíce přibližuje je plánovaná mise ExoMars. Rosalind Franklin rover je vybaven vrtnou soustavou a peletovacím zařízením, pro snazší analýzu Ramanovou spektroskopií, infračervenou spektroskopií a GS-MS chromatografií. Před samotným peletováním probíhá základní dokumentace pomocí obrazového snímkování. Přistání roveru je plánováno do oblasti *Oxia Planum*, které je opět z větší části tvořeno jílovými minerály. Některé z výše popsaných metod však mohou mít problémy při analýze vzorků obsahující jílové minerály (Ramanova spektroskopie, která může vykazovat zvýšené fluorescenční pozadí při analýze těchto vzorků). S vědomím tohoto jevu nebyly v tomto v experimentu použity jílové minerály. I ve výše uvedených lokalitách, které zahrnovaly oblasti pólů nebo možných říčních koryt, by se v budoucích misích dala využívat technika sběru a úpravu vzorků *in situ*. Využívat by se daly pokročilé vrtné soustavy zaměřené na jádrové vrtání s možností zkoumat vrtné jádro v celém svém rozsahu. Roversy vyslané

v budoucích misích by ovšem musely mít upraveny parametry, pro schopnost nést uvedené vybavení včetně pokročilých analytických přístrojů. K návratu vzorků zpět na zemský povrch by sloužily rakety schopné opětovného startu a přistání, navíc schopné úspěšného průletu atmosférou. Tyto rakety v praxi využívá americká společnost SpaceX a v budoucnu je plánuje i americký úřad NASA přímo na Marsu v rámci mise Mars Sample Return. V další fázi průzkumu Marsu by mise využívající dálkově řízené rovery a sondy byly doplněné o pilotované mise. Na povrchu Marsu by ovšem byl člověk vystaven působení karcinogenního UVC záření, stejně jako zvýšeným koncentracím chloristanů. Možnou ochranou by mohly být speciální skafandry s filtry, popřípadě manipulace v otevřeném prostoru pomocí robotických ramen. Zdaleka největším rizikem je ovšem v současné době velmi vysoké kosmické záření, kterému by byl člověk vystaven při dlouhém letu v meziplanetárním prostoru.



Obrázek 19: Vizualizace mise Mars Sample Return, která počítá s návratem shromážděných vzorků roverem Perseverance zpět na Zemi. Zdroj: převzato z <https://www.jpl.nasa.gov/missions/mars-sample-return-msr>

7. ZÁVĚR

V této diplomové práci byl popsán experiment, zaměřený na sledování změny koncentrace pigmentu betakarotenu, během vystavení zvýšenému záření UVC a působení chloristanu. Záření UVC je na Marsu (k této planetě je experiment vztahován) mnohem intenzivnější z důvodu řidší atmosféry a chybějící ozonové vrstvy. Chloristan zde působí jako silné oxidační činidlo a zároveň se hojně vyskytuje v marsovské půdě. Nejprve bylo připraveno několik typů vzorků, se substrátem tvořeným směsí sádrovce, epsomitu a chloristanu. Tyto typy zahrnovaly vzorky kontrolní, vzorky se svrchní vrstvou simulantu marsovského regolitu i vzorky bez svrchní vrstvy simulantu. Všechny tři typy v koncentracích pigmentu 10 ppm a 100 ppm, a také ve vrstevnatém složení. Tyto vzorky byly následně ozařovány ve dvou etapách, čtyřdenní a osmidenní. Po čtyřdenním ozařování byla ovšem pozorována zvýšená teplota v místě experimentu, proto byly zhotoveny také vzorky pro vystavení zvýšené teplotě 38°C, kvůli vyhodnocení vlivu této teploty na pigment. Výsledné ozářené vzorky byly zpracovány do podoby pelet. Koncentrace betakarotenu byly následně změřeny přenosným Ramanovským spektrometrem a zpracována k vyhodnocení.

Potvrdila se počáteční hypotéza, která počítala se snižováním koncentrace betakarotenu s délkou expozice UVC záření. Vzorky 10 ppm i 100 ppm měřené po čtyřdenní etapě ozařování vykazovaly větší koncentrace betakarotenu než vzorky 10 ppm i 100 ppm u osmidenní etapy. Důvodem je s největší pravděpodobností délka expozice UVC záření a působení chloristanu. Zároveň ale u obou fází ozařování vykazují větší snížení koncentrace vzorky 10 ppm než 100 ppm, kde může být vysvětlením více volného prostoru kolem molekul pigmentu, kdy má chloristan více volné plochy k chemickým štěpením. Třetí změny koncentrací byly zaznamenány mezi jednotlivými vrstvami vzorků. Tato změna je největší pravděpodobností dána prostupností UV zářením. Na svrchní vrstvu dopadá záření v celém jejím povrchu, kdežto do spodní prostoupí jen určitá část. Nutno také podotknout, že větší úbytek pigmentu nastal v ozařovaných vzorcích bez vrstvy simulantu marsovské půdy, která působila do určité míry jako ochranná vrstva. Co se týká vlivu teploty, nebyly zde změny srovnatelné se změnami vlivem UV záření a chloristanu. Pro větší přesnost výsledků by bylo ovšem vhodnější místo experimentu přiblížit podmínkám na Marsu, kde panují teploty v rozmezí -10 až -90°C.

8. POUŽITÁ LITERATURA

- Acuña, M.H., Connerney, J.E., Ness, N.F., Lin, R.P., Mitchell, D., Carlson, C.W., McFadden, J., Anderson, K.A., Reme, H., Mazelle, C., Vignes, D., Wasilewski, P., Cloutier, C., 1999. Global Distribution of Crustal Magnetization Discovery by the Mars Global Surveyor MAG/ER Experiment. *Science*, 284(5415):790-3
- Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2013. Ecological Biomarkers. *CRC Press*, 464 str.
- Andrews-Hanna, J.C., Zuber, M.T., Banerdt, W.B., 2008. The Borealis basin and the origin of the Martian crustal dichotomy. *Nature*. 453(7199): 1212–1215
- Barlow, N., 2009. Mars: An Introduction to its Interior, Surface and Atmosphere. *Cambridge University Press*, 1 edice, 286 str.
- Bebout, B., Tazaz, A., Kelley, C.A., Poole, J.A., Davila, A., Chanton, J., 2010. Methane as a biomarker in the search for extraterrestrial life: Lessons learned from Mars analog hypersaline environments. *American Geophysical Union, Fall Meeting 2010*
- Brož, P., Hauber, E., Wray, J., Michael, G. 2017. Amazonian volcanism inside Valles Marineris on Mars. *Earth and Planetary Science Letters*, 473: 122–130
- Carr, M.H., 2007. The Surface of Mars. *Cambridge University Press*, 1 edice, 322 str.
- Crocombe, R.A., Leary, P.E., Kammarath, B.W., 2021. Spectroscopy and Spectrometry, Volume 1, Technologies and Instrumentation. *Wiley*, 608 str.
- Dean, J.F., Middelburg, J.J., Röckmann, T., Aerts, R., Blauw, L.G., Egger, M., Jetten, M.S.M., de Jong, A.E.E., Meisel, O.H., 2018. Methane Feedbacks to the Global Climate System in a Warmer World. *Reviews of Geophysics*, 56(1): 207-250
- Edwards, H.G.M., Hutchinson, I.B., Ingley, R., Parnell, J., Vitek, P., Jehlička, J., 2013. Raman Spectroscopic Analysis of Geological and Biogeological Specimens of Relevance to the ExoMars Mission. *Astrobiology*, 13(6): 543-9
- Edwards, H.G.M., Hutchinson, I.B., Ingley, Richard., Jehlička, J., 2014. Biomarkers and their Ramanspectroscopic signatures: a spectral challenge for analytical astrobiology. *Philos. Trans A. Math. Phys. Eng.*
- Ehlmann, B.L., Mustard, J.F., Murchie, S.L., 2010. Geologic setting of serpentine deposits on Mars. *Geophys. Res. Letters*, 37(6)
- Erokhina, L.G., Shatilovich, A.V., Kaminskaya, O.P., Gilichinskii, D.A., 2004. Spectral Properties of the Green Alga *Trebouxia*, a Phycobiont of Cryptoendolithic Lichens in the Antarctic Dry Valley. *Microbiology. Microbiology*, 73(4): 420-424
- Etioppe, G., Lollar, B.S., 2013. Abiotic Methane on Earth. *Reviews of Geophysics*. 51 (2): 276–299

- Foster, I.S., King, P.L., Hyde, B.C., Southam, G., 2010. Characterization of halophiles in natural MgSO₄ salts and laboratory enrichment samples: Astrobiological implications for Mars. *Planetary and Space Science* 58 (4) 599-615
- Ghods, A., Arkani-Hamed, J., 2011. Effects of the Borealis impact on the mantle dynamics of Mars. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, 188(1): 37-46
- Gromov, V., Kemurdijan, A., Bogatchev, A.N., Koutcherenko, V., Malenkov, M., Matrossov, S., Vladykin, S., Petriga, V., Khakhanov, Y., 2003. Lunokhod 2 - A retrospective Glance after 30 Years. *EGS - AGU - EUG Joint Assembly, Abstracts from the meeting held in Nice*
- Hartmann, W.K., Malin, M., McEwen, A., Carr, M., Soderblom, L., Thomas, P., Danielson, E., James, P., Veverka, J., 1999. Evidence for recent volcanism on Mars from crater counts. *Nature*, 397: 586-589
- Hazen, R.M., Hummer, D.R., Hystad, G., Downs, R.T., Golden, J.J., 2015. Carbon mineral ecology: Predicting the undiscovered minerals of carbon. *American Mineralogist*, Volume 101: 889-906
- Horvath, D.G., Moitra, P., Hamilton, C.W., Craddock, R., Andrews-Hanna, J.C., 2021. Evidence for geologically recent explosive volcanism in Elysium Planitia, Mars. *Icarus*. 365: 114499
- House, C.H., Wong, G.M., Webster, C.R., Flesch, G.J., Franz, H.B., Stern, J.C., Pavlov, A., Atreya, S.K., Eigenbrode, J.L., Gilbert, A., Hofmann, A.E. Milland, M., Steele, A., Glavin, D.P., Malespin, C.A., Mahaffy, P.R., 2021. Depleted carbon isotope compositions observed at Gale crater, Mars. *PNAS*, 119(4)
- Jones, R.R., Hooper D.C., Zhang, L., Wolverson, D., Valev, V.K., 2019. Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers. *Nanoscale Res. Letters*, 14
- Kieffer, H.H., Christensen, P.R., Titus, T.N., 2006. CO₂ jets formed by sublimation beneath translucent slab ice in Mars' seasonal south polar ice cap. *Nature*, 442: 793-796
- Knapmeyer-Endrun, B., Panning, M.P., Bissig, F., Joshi, R., 2021. Thickness and structure of the martian crust from InSight seismic data. *Science*, 373(6553): 438-443
- Knoll, A.H., Carr, M., Clark, B., Des Marais, D.J., Farmer, J.D., Fischer, W.W., Grotzinger, J.P., McLennan, S.M., Malin, M., Schroder, C., Squyres, S., Tosca, N.J., Wdowiak, T., 2005. An astrobiological perspective on Meridiani Planum. *Earth and Planetary Science Letters* 240: 179 – 189
- Kucharzyk, K., Crawford, R.L., Cosens, B., Hess, T.F., 2009. Development of drinking water standards for perchlorate in the United States. *Journal of Environmental Management*, 91(2): 303-310

- Liu, Y., Wang, A., Freeman, J.J., 2009. Raman, Mir, And Nir Spectroscopic Study Of Calcium Sulfates: Gypsum, Bassanite, And Anhydrite. 40th Lunar and Planetary Science Conference
- Mangold, N., Gupta, S., Gasnault, O., et al. 2021. Perseverance rover reveals an ancient delta-lake system and flood deposits at Jezero crater, Mars. *Science*, 374(6568): 711-717
- Matsumoto, T., Niioka, H., Kmamoto, Y., Sato, J., Inamori, O., Nakao, R., Harada, Y., Konishi, E., Otsuji, E., Tanaka, H., Miyake J., Takamatsu, T., 2019. *Scientific Reports*, 9(1)
- McCreery, R.L., 2000. Raman spectroscopy for chemical analysis. *Wiley-Interscience*, 1 edice, 448 str.
- McLennan, S.M., Bell III, J.F., Calvin, W.M., Christensen, P.R., Clark, B.C., de Souza P.A., Farmer, J., Farrand, W.H., Fike, D.A. Gellert, R., Ghosh, A., Glotch T.D., Grotzinger, J.P., Hahn, B., Herkenhoff, K.E., Hurowitz, J.A., Johnson, J.R., S.S. Johnson, S.S., Jolliff, B., Klingelhofer, G., Knoll, A.H., Learner, Z., Malin, M.C., McSween Jr., H.Y., Pockock, J., Ruff, S.W., Soderblom, L.A., Squyres, S.W., Tosca, N.J., Wattersi, W.A., Wyatt, M.B., Yen, A. 2005. Provenance and diagenesis of the evaporite bearing Burns formation, Meridiani Planum, Mars. *Earth and Planetary Science Letters* 240: 95 – 121
- Moeller, R.C., Jandura, L., Rosette, K., Robinson, M., Samuels, J., Silverman, M., Brown, K., Duffy, E., Yazzie, A., Jens, E., Brockie, I., White, L., Goreva, Y., Zorn, T., Okon, A., Lin J., Frost, M., Collins, C., Williams, J.B., Steltzner, A., Chen, F., Biesiadecki, J., 2020. The Sampling and Caching Subsystem (SCS) for the Scientific Exploration of Jezero Crater by the Mars 2020 Perseverance Rover. *Space Sci Rev* 217: 5
- Neukum, G., Jaumann, R., Hoffmann, H., Hauber, E., Head, J.W., Basilevsky, A.T., Ivanov, B.A., Werner, S.C., van Gasselt, S., Murray, J.B., McCord, T., 2004. Recent and episodic volcanic and glacial activity on Mars revealed by the High Resolution Stereo Camera. *Nature*, 432: 971–979
- Orosei, R., Lauro, S.E., Pettinelli, E., Cicchetti, A., Coradini, M., Cosciotti, B., Di Paolo, F., Flamini, E., Mattei, E., Pajola, M., Soldovieri, F., Cartacci, M., Cassenti, F., Frigeri, A., Giuppi, S., Martufi, R., Masdea, A., Mitri, G., Nenna, C., Noschese, R., Restano, M., Seu, R., 2018. Radar evidence of subglacial liquid water on Mars. *Science*, 361: 490-493
- Petránek, J., 2016. Encyklopedie geologie. *Česká geologická služba*. 349 str.
- Pilát, Z., Bernatová, S., Ježek, J., Šerý, M., Samek, O., Zemánek, P., Nedbal, L., Trtílek, M., 2012. Raman microspectroscopy of algal lipid bodies: β -carotene quantification. *J. Applied Phycology*, 24: 541-546
- Rouquette, L., Stalport, F., Cottin, H., Colas, C., Georgelin, T., Chaouche-Mechidal, N., Lasne, J., Mahfouf, S., Raulin, F., Selliez L., Szopa, C., Coll, P., 2020. Dimerization of Uracil in a Simulated Mars-like UV Radiation Environment. *Astrobiology*, 20(11): 1363
- Schmid, T., Dariz, P., 2019. Raman Microspectroscopic Imaging of Binder Remnants in Historical Mortars Reveals Processing Conditions. *Heritage*, 2: 1662-1683

- Soderblom, L.A., Exploration of the Martian surface: 1992-2007: kapitola v Bell, J., 2009. The surface of Mars. *Cambridge University Press*, 688 str.
- Souness, C., Hubbard, B., 2012. Mid-latitude glaciation on Mars. *Progress in Phys. Geography*, 36(2): 238-261
- Stahler, S.C., Khan, A., Banerdt, W.B., Lognonné, P., et al. 2021. Seismic detection of the martian core. *Science*, 373(6553): 443-448
- Tanaka, K.L., 1986. The stratigraphy of Mars. *J. Geophys. Res.* 91, B13: E139-E158
- Valerie, M.T., Rampe, E.B., Bristow, T.F., Thorpe, M.T., Clark, J.V., Castle, N., Fraeman, A.A., Edgar L.A., McAdam, A., Bedford, C., Achilles C.N., Blake, D., Chipera, S.J., Craig P.I., Des Marais, D.J., Downs, G.W., Downs, R.T., Fox, V., Grotzinger, J.P., Hazen, R.M., Ming, D.W., Morris, R.V., Morrison, S.M., Pavri, B., Eigenbrode, J., Peretyazhko, T.S., Sarazzin, P.C., Sutter, B., Treiman, A.H., Vaniman, D.T., Vasavada, A.R., Yen, A.S., Bridges, J.C., 2021. A Review of the Phyllosilicates in Gale Crater as Detected by the CheMin Instrument on the Mars Science Laboratory, Curiosity Rover. *Minerals*, 11(8): 847
- Vila, E., Hornero-Mendez, D., Azziz, G., Lareo, C., Saravia, V., 2019. Carotenoids from heterotrophic bacteria isolated from Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Biotechnology Reports*, 21
- Vita-Finzi, C., Fortes, A.D., 2013. Planetary Geology: An Introduction. *Edinburgh: Dunedin Academic Press*, 2 edice, 176 str.
- Vítek, P., Osterrothová, K., Jehlička, J., 2009. Beta-carotene—A possible biomarker in the Martian evaporitic environment: Raman micro-spectroscopic study. *Planetary and Space Science*, 57(4), 454-459.
- Wang, A., Freeman, J.J., Jolliff, B.L., Chou, I., 2006. Sulfates on Mars: A systematic Raman spectroscopic study of hydration states of magnesium sulfates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70: 6118–6135
- Webster, C.R., Mahaffy, P.R., Atreya, S.K., Moores, J.E., et al. 2018. Background levels of methane in Mars' atmosphere show strong seasonal variations. *Science*, 360(6393): 1093-1096
- Welch, R., Limonadi, D., Manning, R., 2013. Systems Engineering the Curiosity Rover: A Retrospective. *8th International Conference on System of Systems Engineering*
- Wu, Z., Wang, A., Ling, Z., Zhang, J., Li, B., Ni, Y., 2015. Identification And Detection Limits Of Perchlorate-Chlorate In Mixtures By Vibrational Spectroscopy. 46th Lunar and Planetary Science Conference