

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
LOUIS PASTEUR DE STRASBOURG**

par

Pauline BURGER

**CARACTERISATION MOLECULAIRE DE RESINES
VEGETALES ARCHEOLOGIQUES ET ACTUELLES :
ETUDE DE RESINES DE DIPTEROCARPACEAE**

soutenue publiquement le 26 novembre 2008 devant la commission d'examen composée de :

Pierre ALBRECHT

Directeur de thèse

Eric MARCHIONI

Rapporteur Interne

Catherine VIEILLESZAZES

Rapporteur Externe

Walter MICHAELIS

Rapporteur Externe

Armelle CHARRIE

Examineur

Jacques CONNAN

Examineur

*On ne voit en passant par les Landes désertes,
Vrai Sahara français, poudré de sable blanc,
Surgir de l'herbe sèche et des flaques d'eaux vertes
D'autre arbre que le pin avec sa plaie au flanc ;*

*Car, pour lui dérober ses larmes de résine,
L'homme, avare bourreau de la création,
Qui ne vit qu'aux dépens de ceux qu'il assassine,
Dans son tronc douloureux ouvre un large sillon !*

*Sans regretter son sang qui coule goutte à goutte,
Le pin verse son baume et sa sève qui bout,
Et se tient toujours droit sur le bord de la route,
Comme un soldat blessé qui veut mourir debout.*

*Le poète est ainsi dans les Landes du monde :
Lorsqu'il est sans blessure, il garde son trésor.
Il faut qu'il ait au cœur une entaille profonde
Pour épancher ses vers, divines larmes d'or !*

Théophile Gauthier, 1840, Le Pin des Landes

Je tiens à remercier Mr Pierre Albrecht, Directeur de recherche du CNRS et directeur du laboratoire de Géochimie Bioorganique, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour avoir dirigé ce travail.

Je remercie les Docteurs Armelle Charrié et Pierre Albrecht, les professeurs Catherine Vieillescazes, Eric Marchioni et Walter Michaelis ainsi que le Docteur Jacques Connan, expert international des bitumes antiques, de me faire l'honneur de juger ce travail.

Je remercie la Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), la Deutsch-Französische Hochschule / Université Franco-Allemande (DFH/UFA) ainsi que le Ministère Français de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MENESR) pour le soutien financier apporté par l'intermédiaire du GRK 532 (International Research Training Group 532). Grâce aux séminaires et workshops organisés tout au long de ces trois années, le GRK m'a permis d'élargir mes horizons scientifiques ainsi que de rencontrer de nombreux chimistes appartenant à des domaines très particuliers.

Je souhaite par ailleurs remercier toutes les personnes qui ont mis à ma disposition les précieux échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail : Michel L'Hour (DRASSM, France) et Nathalie Huet (Arc'Antique, France) pour les échantillons d'une épave du Brunei, Mickael Flecker (Maritime Exploration, Singapour) pour les échantillons de l'épave de Malacca et de celle de Belitung, ainsi que Bérénice Bellina (CNRS, UMR 7528 « Mondes Iranien et Indien », France) pour les échantillons de Khao Sam Kaeo. Je remercie également Michel Girard et Bui Thi Mai (Laboratoire de Palynologie, CEPAM, France) pour la sélection de résines fraîches, ainsi que pour les informations palynologiques qu'ils m'ont fournies.

Je remercie Mme Armelle Charrié qui m'a encadrée durant ces trois années de thèse. Je la remercie pour la formation de chercheur qu'elle m'a permis d'acquérir, ainsi que pour son aide précieuse au quotidien : elle a su m'écouter et me conseiller au jour le jour.

Ma reconnaissance s'adresse également à Mr Jacques Connan, qui a assuré le relais entre les archéologues et moi, pour sa collaboration à ce travail. Je tiens à le remercier pour son enthousiasme sans faille et pour avoir bien voulu partager avec moi ses connaissances archéochimiques.

Que soient remerciés tous les membres du laboratoire pour leur accueil chaleureux au sein de l'équipe. Merci à Pierre Adam et Philippe Schaeffer, toujours prêts à partager leurs connaissances. Merci à Estelle Motsch pour son initiation à la spectrométrie de masse mais aussi pour sa disponibilité et sa bonne humeur. Merci à Agnès Schmitt de m'avoir guidée dans les méandres de l'administration, ainsi que pour le café et les croissants du matin, nécessaires pour bien démarrer la journée. Merci à Jean-Michel Trendel de m'avoir fait profiter de ses connaissances sur les triterpènes mais également merci pour les solutions des grilles de mots-croisés incomplètes et les discussions axées mycologie ou B.D. autour d'un café. Merci également à Ruben Ocampo pour sa sympathie. Enfin, un merci tout particulier à Gaby Schmitt pour sa gentillesse, son écoute attentive et ses conseils avisés aussi bien scientifiques que personnels, en un mot, pour son amitié. Tous ont participé à l'ambiance studieuse et sympathique qui a régné au laboratoire durant ces trois années.

Je remercie également Michel Schmitt (Université Louis Pasteur, Strasbourg, France) pour mon unique RMN et pour toutes les soirées brésiliennes auxquelles nous avons participé.

Mes remerciements vont aussi à tous les étudiants rencontrés au laboratoire : Pierre Le Metayer et Sabine Méhay, les anciens, qui m'ont accueillie au laboratoire et qui ont guidé mes premiers pas de thésarde, Aurélie Loison avec qui j'ai passé d'agréables moments à la paillasse en musique et qui m'a vraiment épaulée tout au long de ces trois années passées ensemble, et Claire Bastien, la relève, à qui je lègue ma paillasse et la plante verte qui va avec.

Merci également à Julien Célérier, qui a bien voulu partager sa sagesse de post-doc et sa zenitude avec moi ; merci pour ta musique et pour tes précieux conseils scientifiques et informatiques (j'essaierai d'en faire bon usage).

Enfin, merci à ceux qui n'étaient que de passage dans le bureau, mais avec qui j'ai passé de très bons moments au labo, comme en dehors : Julien Dalvai (pour ton soutien, même depuis la Grèce) et Aurélie Même (pour nos dimanches soirs chocolatés et pour tous celles et ceux que tu m'as permis de rencontrer au cours de nos soirées : Thomas, bien sûr, mais aussi Oliv' et Mary, Gilles, Claire, Olivia, Alain, ...)!

Merci à tous mes camarades masters, thésards et post-doc rencontrés au hasard des couloirs et des soirées avec qui j'ai passé trois années très agréables et plutôt internationales à Strasbourg : Bénédicte, Viky, Alex, Leticia, Naima, Rafa G., Baptiste, Vincent, Julien C., Katia, Julien I., Cyril, Yunhui, Inès, Sandra, Carmen, David, Lina, Bertrand. Merci particulièrement à Rafa B. pour ses théories farfelues sur tout et n'importe quoi, ainsi que pour son soutien et son énergie incroyable (qui sait, Rafa, la fin du monde est peut être pour ce soir).

Mais je voudrais surtout remercier « les filles » Carolina, Laurence et Irene, sans qui cette dernière année n'aurait pas été la même ! Merci d'avoir supporté mes exubérances et mes humeurs (surtout vers la fin) et d'avoir eu les vôtres (je me sentais moins seule). Merci pour vos bons petits plats (un jour, je m'y mettrai à la cuisine, si si), vos encouragements et votre soutien inconditionnel. Je vous adore !!!

Je souhaite également remercier Jean-Marc, qui malgré ses nombreux voyages autour du monde, a toujours trouvé le temps de m'appeler ou de me faire une petite visite au cours de ces trois ans. Merci pour ta confiance en moi et ton amitié.

Je tiens aussi à remercier Bruno Chatton qui m'a encadrée au cours de mon D.E.A. et sans qui je ne me serais sûrement jamais aventurée dans ce périple qu'est la thèse : merci pour tes conseils et tes encouragements.

Je veux également remercier tous les « tuffeux » de Caours et particulièrement Jean-Luc Locht, qui m'ont permis de découvrir l'envers du décor au cours des campagnes de fouilles 2006 et 2007. La vie, une truelle à la main, j'ai adoré !!

Enfin, je ne saurais terminer ces remerciements sans ajouter un grand merci à ma famille, et en particulier à mes parents à qui je dédie cette thèse, pour leurs encouragements et leur soutien indéfectible tout au long de mes études.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES TABLEAUX	9
ABREVIATIONS	11
CONVENTIONS	13
CHAPITRE 1 INTRODUCTION GENERALE	15
CHAPITRE 2 RESINES VEGETALES : DIVERSITE, BIOSYNTHESE, PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET USAGES	23
1 Diversité des exsudats végétaux à travers le monde	25
1.1 Résines terpéniques	26
1.2 Résines phénoliques	26
1.3 Gommages	26
1.4 Latex	27
1.5 Mucilages	28
2 Résines terpéniques	28
2.1 Biosynthèse des terpènes	28
2.2 Composition des résines terpéniques	35
2.3 Résines diterpéniques	38
2.4 Résines triterpéniques	39
2.5 Importance historique des résines terpéniques	42
3 Résines de Dipterocarpaceae	44
3.1 Famille des Dipterocarpaceae	44
3.2 Chimie des dammars	49
3.3 Gemmage des dammars	51
3.4 Usages particuliers des dammars	54
3.4.1 Calfatage	54
3.4.2 Vernis et liants	57
3.4.3 Usages médicaux	58
3.4.4 Enduits de céramiques	58
3.4.5 Autres usages	60
3.5 Valeur économique des dammars	60
4 Echantillonnage	61
4.1 Dammars actuelles	61
4.2 Echantillons organiques archéologiques	65

CHAPITRE 3 CARACTERISATION DE LA NATURE ET DE L'ORIGINE DES ECHANTILLONS 72

1	Procédures d'étude des résines végétales	74
1.1	Palynologie.....	74
1.1.1	Les grains de pollens, généralités.....	74
1.1.2	Archéopalynologie	76
1.1.3	Analyses polliniques des échantillons actuels étudiés	77
1.2	Analyses chimiques et géochimiques.....	80
1.2.1	Analyses globales.....	81
1.2.2	Analyses séparatives	83
2	Analyses isotopiques du carbone.....	85
2.1	Isotopie d'éléments stables.....	85
2.2	Expression de la composition isotopique du carbone	86
2.3	Isotopie des résines végétales.....	86
2.3.1	Données bibliographiques	86
2.3.2	Données expérimentales.....	88
2.3.3	Perspectives à l'étude isotopique de résines	90
3	Nature et origine des échantillons : nouveaux outils d'identification des dammars	90
3.1	Nature des échantillons actuels et archéologiques.....	92
3.2	Nouveaux critères d'identification taxonomique des dammars	102
3.2.1	Critère d'identification des dammars	102
3.2.2	Critère d'identification générique	108
3.2.2.1	Bétulonal.....	108
3.2.2.2	Les sesquiterpènes	111
3.2.3	Critère d'identification spécifique.....	113
3.3	Particularités de certains échantillons	118
3.3.1	Technique de gemmage.....	118
3.3.2	Présence de soufre.....	120
4	Echantillons composites	120
4.1	Présence de poix.....	120
4.2	Présence de bitume.....	122
5	Conclusions.....	127

CHAPITRE 4 ETUDE DES PROCESSUS D'ALTERATION DES RESINES DE DIPTEROCARPACEAE 130

1	Effets de l'irradiation lumineuse et du traitement thermique	132
1.1	Etude bibliographique	132
1.1.1	Traitement thermique	134
1.1.2	Irradiation lumineuse.....	134
1.2	Données expérimentales.....	136
1.2.1	Traitement thermique	136

1.2.2	Irradiation lumineuse.....	138
1.3	Echantillons archéologiques.....	144
1.4	Conclusions	150
2	Biodégradation.....	151
2.1	Les des-A-triterpénoïdes	153
2.1.1	Etude bibliographique	153
2.1.2	Données expérimentales.....	156
2.1.3	Discussion	162
2.2	Les triterpènes pentacycliques aromatiques.....	163
2.2.1	Etude bibliographique	164
2.2.2	Données expérimentales.....	165
2.2.3	Discussion	167
2.3	Les $\Delta^{2,n}$ -triterpènes	168
2.4	Conclusions	170
3	Deshydratation : formation de A-<i>neo</i>-triterpènes.....	172
3.1	Données expérimentales.....	172
3.2	Discussion	174
4	Evaporation et lessivage.....	175
5	Conclusions.....	176
CHAPITRE 5 CONCLUSION GENERALE		178
PARTIE EXPERIMENTALE.....		186
1	Observation des échantillons	188
2	Analyses isotopiques.....	188
3	Analyses géochimiques.....	189
3.1	Précautions particulières	189
3.2	Préparation des extraits organiques.....	189
3.3	Fractionnement des extraits organiques	189
4	Techniques chromatographiques.....	190
4.1	Chromatographie sur couche mince (CCM)	190
4.2	Chromatographie sur colonne de silice (CC)	192
4.3	Chromatographie en phase gazeuse (CG).....	192
5	Mesures physiques.....	193
5.1	Spectrométrie de masse (SM)	193
5.2	Résonance magnétique nucléaire (RMN)	194
6	Désulfuration.....	194
7	Dérivations	194

7.1	Acétylation	194
7.2	Méthylation	195
8	Synthèse du bétulonol.....	196
9	Expériences de simulation	197
9.1	Simulation d'altération photochimique	197
9.1.1	Protocole.....	197
9.1.2	Analyses	198
9.2	Simulation d'altération thermique.....	199
9.2.1	Protocole.....	199
9.2.2	Analyses	199
10	Synthèse de A-<i>neo</i>-triterpènes	200
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	202
	ANNEXES	220
	ANNEXE 1 : QUANTIFICATION	222
	ANNEXE 2 : STRUCTURES DITERPENIQUES	230
	ANNEXE 4 : STRUCTURES DES PRODUITS PYROLYTIQUES	232
	ANNEXE 3 : STRUCTURES DES TRITERPENES	233

Liste des Figures

Chapitre 2

Figure 2.1 Principaux composants des résines, gommés, mucilages et latex (Langenheim, 2003).	28
Figure 2.2 Unité isoprène ou isopentényle (C ₅ H ₈).	29
Figure 2.3 Formation d'isopentyle pyrophosphate (IPP) et de son isomère, le diméthylallyle pyrophosphate (DMAPP), à partir de l'acide mévalonique.	30
Figure 2.4 Compartimentation des voies de biosynthèse des terpènes (d'après McCaskill and Croteau, 1998).	31
Figure 2.5 Voie de biosynthèse des terpénoïdes (Peters et al., 2005).	34
Figure 2.6 Principales familles résineuses citées dans ce manuscrit.	36
Figure 2.7 Principales structures de base des diterpènes constituant les résines de Conifères.	38
Figure 2.8 Principales structures de base des triterpènes constituant les résines d'Angiospermes.	39
Figure 2.9 Principales structures de base des sesquiterpènes identifiés dans les dammars. ..	50
Figure 2.10 Gemmage de <i>Shorea javanica</i> , Sumatra, Indonésie : les entailles antérieures servent de prises de pieds au gemmeur (photo : Mien Kaomini, site web www.fao.org). 51	
Figure 2.11 Calfatage de <i>thuyên thúng</i> , petites embarcations de pêcheurs encore construites de nos jours au Vietnam (photos : Marco Casiraghi).	55
Figure 2.12 Exsudation naturelle d'un tronc de <i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teysm (photo : Michel Girard).	63
Figure 2.13 Entaille de gemmage et collecte de résine (photos : Michel Girard).	63
Figure 2.14 Feu de ravivage et extinction (photos : Michel Girard).	64
Figure 2.15 Provenance des échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.	65
Figure 2.16 Echantillons de dammars fraîches.	70
Figure 2.17 Echantillons organiques archéologiques.	71
Figure 3.1 Fleur de <i>Dipterocarpus alatus</i> (photo : http://forum.ctu.edu.vn).	79
Figure 3.2 Pollens de <i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teysm (A) et de <i>Shorea guiso</i> Blume (B) (photos : Michel Girard).	79
Figure 3.3 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions des cétones des dammars fraîches 1880, 1882, 1884, 1885, 1886 et 1888 ainsi que du calfatage 1894.	93
Figure 3.4 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions des cétones des échantillons archéologiques 1873, 1874, 2307, 2308, 2036S, 2036C, 2037, 2038 et 2039.	94

Figure 3.5 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons de résines fraîches.	96
Figure 3.6 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.	99
Figure 3.7 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées des échantillons actuels.	103
Figure 3.8 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées des échantillons archéologiques.	104
Figure 3.9 Spectres de masse obtenus pour les composés T45 et T46 ; structures des acides correspondants.	106
Figure 3.10 Spectres de masse obtenus pour les composés T47 et T48 ; structures proposées.	107
Figure 3.11 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées de dammar (2036S) et de mastic archéologiques.	108
Figure 3.12 Spectre de masse du bétulonol T34 identifié dans l'échantillon frais de <i>Dipterocarpus cf. dyeri</i> (1884).	109
Figure 3.13 Fragmentation du bétulonol T34.	110
Figure 3.14 Division du genre <i>Dipterocarpus</i> en 6 groupes (d'après Bisset et al., 1966). ...	112
Figure 3.15 Quantification relative des cétones triterpéniques des échantillons actuels.	116
Figure 3.16 Quantification relative des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.	1
Figure 3.17 Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction apolaire F1 de l'échantillon 2307.	119
Figure 3.18 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions dérivées des acides des échantillons 2037 et 2038.	121
Figure 3.19 Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.	122
Figure 3.20 Structure des stéranes.	123
Figure 3.21 Fragmentogramme de masse m/z 217 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.	124
Figure 3.22 Fragmentogramme de masse m/z 217 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038 représentant les stéranes à chaîne latérale longue.	124
Figure 3.23 Structure des hopanes.	125
Figure 3.24 Fragmentogramme de masse m/z 191 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.	126
Figure 3.25 Provenance du bitume détecté dans l'échantillon 2038.	126

Chapitre 4

Figure 4.1 <i>Quantification relative des cétones triterpéniques de vernis frais et après traitement thermique de 9h à 200°C et 300°C.</i>	137
Figure 4.2 <i>Mécanisme d'oxydation radicalaire des composés organiques (d'après Dietemann, 2003).</i>	139
Figure 4.3 <i>Quantification relative des cétones triterpéniques des dammars 1880 et 1884 fraîches et après irradiation de 360h et 790h.</i>	141
Figure 4.4 <i>Réaction d'autooxydation initiée au niveau d'un groupement cétone (d'après Zumbühl et al., 1998).</i>	142
Figure 4.5 <i>Formation de cétones et d'acides à partir de radicaux alkoxy (d'après de la Rie, 1988a).</i>	142
Figure 4.6 <i>Mécanisme proposé pour la formation des oléana-9(11),12-dièn-3-one T23 et ursa-9(11),12-dièn-3-one T24.</i>	144
Figure 4.7 <i>Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce Shorea guiso Blume et des échantillons archéologiques supposés contenir de la dammar de cette espèce.</i> .	145
Figure 4.8 <i>Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce Dipterocarpus cf. dyer et des échantillons archéologiques supposés contenir de la dammar de cette espèce.</i>	147
Figure 4.9 <i>Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce Dipterocarpus intricatus Dyer et de l'échantillon archéologique supposé contenir de la dammar de cette espèce.</i>	149
Figure 4.10 <i>Voies de biodégradation des triterpènes pentacycliques de végétaux supérieurs (d'après Stout, 1992). Les composés dont les masses sont soulignées ont été détectés dans nos échantillons.</i>	152
Figure 4.11 <i>Triterpènes tétracycliques caractérisés par Spyckerelle et al. (1977a).</i>	154
Figure 4.12 <i>Structures des di- et triméthylchrysènes, termes de la voie de dégradation des des-A-triterpènes (d'après Spyckerelle, 1975; Spyckerelle et al., 1977a; Spyckerelle et al., 1977b).</i>	155
Figure 4.13 <i>Fragmentation des oléan-12-ène et urs-12-ène.</i>	157
Figure 4.14 <i>Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des des-A-triterpénoïdes des échantillons 1873, 1874 (épave du Brunei) et 2036S (épave MIJ, Malacca).</i>	158
Figure 4.15 <i>Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des des-A-triterpénoïdes des échantillons 2036C, 2037 et 2038 (épave MIJ, Malacca).</i>	159
Figure 4.16 <i>Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des triterpènes pentacycliques aromatiques des fractions apolaires des prélèvements de cœur et de surface de l'échantillon 2036 (épave de Malacca).</i>	163
Figure 4.17 <i>Aromatisation du cycle A de triterpènes oxygénés en position 3 sous l'influence de micro-organismes (d'après Lohmann, 1988; Trendel et al., 1989).</i>	164
Figure 4.18 <i>Structures des di- et triméthylpicènes, termes de l'aromatisation progressive des triterpènes pentacycliques (d'après Spyckerelle, 1975; Spyckerelle et al., 1977a; Spyckerelle et al., 1977b).</i>	165

Figure 4.19	<i>Fragmentation du 24,25-disnoroléana-1,3,5(10),12-tétraène</i>	166
Figure 4.20	<i>Spectres de masse des composés T21 et T22 détectés dans l'échantillon 2038</i> .	168
Figure 4.21	<i>Fragmentation du cycle A des $\Delta^{2,n}$-triterpènes par réaction de retro Diels-Alder initiée par la double liaison située en position 2</i> .	169
Figure 4.22	<i>Acides 3,4-seco-triterpéniques recherchés spécifiquement dans nos échantillons archéologiques</i> .	171
Figure 4.23	<i>Chromatogrammes en phase gazeuse de la fraction apolaire F1 de l'échantillon 2038</i>	172
Figure 4.24	<i>Spectre de masse du A-neo-oléana-3(5),12-diène T19 identifié dans l'échantillon archéologique de l'épave MIJ, Malacca (2038)</i> .	173
Figure 4.25	<i>Fragmentations caractéristiques de la partie droite de triterpènes insaturés en position 12 (d'après Budzikiewicz et al., 1963, Assimopoulou and Papageorgiou, 2004)</i> .	174
Figure 4.26	<i>Mécanisme proposé pour la formation de l'espèce d (d'après Elgamal et al., 1969)</i> .	174
Figure 4.27	<i>Schéma d'évolution des triterpènes oxygénés en position 3 (d'après Ten Haven et al., 1992)</i> .	175

Chapitre 5

Figure 5. 1	<i>Récapitulatif des résultats</i>	185
-------------	--	-----

Partie expérimentale

Figure E.1	<i>Protocole analytique</i> .	190
Figure E.2	<i>Schéma de fractionnement de la fraction F1 par CCM (élution au cyclohexane)</i> .	191
Figure E.3	<i>Schéma de fractionnement de la fraction F2 par CCM (élution au dichlorométhane)</i> .	191
Figure E.4	<i>Réaction d'acétylation des fonctions hydroxyles</i> .	195
Figure E.5	<i>Synthèse de diazométhane à partir de diazald</i> .	195
Figure E.6	<i>Méthylation des groupements carboxyliques par application de diazométhane</i> .	196
Figure E.7	<i>Synthèse de bétulonol à partir de bétuline</i> .	196
Figure E.8	<i>Vernis de dammar (Dipterocarpus cf. dyeri et Shorea guiso Blume)</i>	197
Figure E.9	<i>Schéma de fractionnement de vernis par CCM (élution au dichlorométhane)</i> ...	198

Liste des Tableaux

Chapitre 2

Tableau 2.1 <i>Les différentes classes de terpénoïdes.</i>	32
Tableau 2.2 <i>Arbre phylogénétique de la famille des Dipterocarpaceae (d'après Appanah et al., 1998).</i>	44
Tableau 2.3 <i>Utilisation du terme dammar dans les noms communs de résines et espèces auxquelles se réfèrent ces noms (d'après Lampert, 2003). Les espèces surlignées n'appartiennent pas à la famille des Dipterocarpaceae.</i>	45
Tableau 2.4 <i>Liste des dénominations taxonomiques et des noms vernaculaires de dammars (d'après Appanah et al., 1998; Lampert, 2003; Langenheim, 2003; Millet, 2003).</i>	46
Tableau 2.5 <i>Echantillons de dammars fraîches analysés dans le cadre de cette étude.</i>	62
Tableau 2.6 <i>Echantillons archéologiques à base de dammars étudiés dans le cadre de ce travail.</i>	67

Chapitre 3

Tableau 3.1 <i>Données polliniques des résines actuelles étudiées au laboratoire (d'après Bui Thi Mai and Girard, 2008).</i>	78
Tableau 3.2 <i>Abondances terrestres standardisées des isotopes du carbone (Peters et al., 2005).</i>	85
Tableau 3.3 <i>Valeurs isotopiques des dammars actuelles et archéologiques étudiées lors de ce travail et données de la littérature ([*] Murray et al., 1998; Stout, 1995).</i>	89
Tableau 3.4 <i>Caractéristiques des dammars fraîches selon les espèces.</i>	114
Tableau 3.5 <i>Paramètres moléculaires du bitume détecté dans l'échantillon 2038.</i>	125

Chapitre 4

Tableau 4.1 <i>Récapitulatif des produits de biodégradation identifiés dans les échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.</i>	170
--	-----

Abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle

CC : Chromatographie liquide sur colonne de silice

CCM : Chromatographie liquide sur couche mince de silice

CG : Chromatographie en phase gazeuse

CG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

δ : Déplacement chimique (RMN)

d : Doublet (RMN)

DCM : Dichlorométhane

dd : Doublet de doublet (RMN)

dt : Doublet de triplet (RMN)

DIF : Détecteur à ionisation de flamme

HC : Hydrocarbures

IC : Ionisation chimique (SM)

ID : Introduction directe (SM)

IE : Impact électronique (SM)

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

J : Constante de couplage (RMN)

m : Multiplet (RMN)

MeOH : Méthanol

m/z : Rapport masse sur charge (SM)

PDC : Dichromate de pyridinium

RIC : Chromatogramme d'ions reconstruit

R_f : Facteur de rétention (CCM)

RMN : Résonance magnétique nucléaire

s : Singulet (RMN)

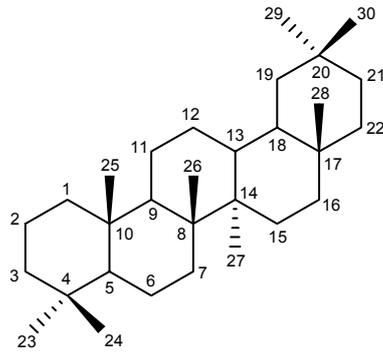
SM : Spectrométrie de masse

SM-SM : Spectrométrie de masse portant sur des ions sélectionnés

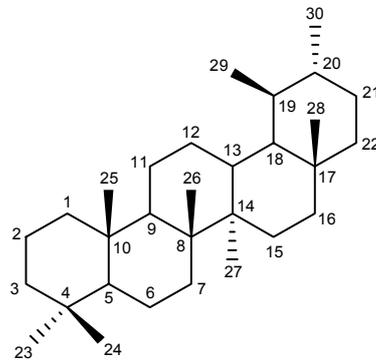
t_R : Temps de rétention (CG ou CG-MS)

Conventions

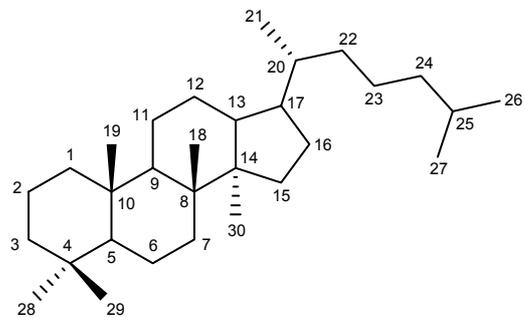
Numérotation des dérivés de l'oléanane :



Numérotation des dérivés de l'ursane :



Numérotation des dérivés du dammarane :



Chapitre 1

Introduction générale

Les monuments historiques, les vestiges et objets archéologiques de toutes sortes ainsi que les objets d'art sont autant de témoignages de la culture et du savoir-faire des civilisations passées. L'étude des matériaux utilisés et la caractérisation des techniques employées pour travailler ces derniers fournissent de précieux renseignements aux archéologues, restaurateurs et conservateurs. La contribution de la chimie à l'archéométrie s'avère essentielle, notamment grâce au développement constant de nouvelles techniques d'analyses.

Au cours de l'histoire, de nombreuses substances organiques aux propriétés variées ont été employées par l'homme (Langenheim, 2003). C'est ainsi que l'on retrouve très fréquemment dans et sur des objets archéologiques, des résidus de résines végétales, de graisses animales, de bitume, de cire d'abeilles, etc., plus ou moins dégradés.

L'étude moléculaire de ces substances retrouvées en contexte archéologique fournit en premier lieu, des éléments nécessaires à la caractérisation des matériaux (identification et provenance) présents dans le mélange. Elle procure également des indications sur les processus d'altération naturelle (mécanismes chimiques tels que l'oxydation ou la biodégradation) et anthropique (techniques de transformation des matières premières) qui ont affecté ceux-ci durant leur longue histoire.

Cette étude s'opère par la recherche de marqueurs biologiques ou biomarqueurs dérivant de biomolécules provenant d'organismes vivants. Idéalement, ces marqueurs moléculaires devraient être des composés stables vis-à-vis des processus d'altération. Généralement, ils correspondent plutôt à des produits de dégradation dont les structures ont conservé suffisamment de spécificité pour pouvoir encore être reliées à leurs précurseurs lipidiques fonctionnalisés, eux-mêmes typiques d'organismes biologiques particuliers.

Le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de proposer des outils adaptés à l'étude de ces mélanges complexes, dont certains constituants ne sont présents qu'à de très faibles concentrations dans la matière organique.

Toutes ces données chimiques fournissent *in fine* aux archéologues des informations permettant de reconstituer le savoir-faire et la technologie des civilisations passées, d'établir les réseaux d'échanges commerciaux ou encore de documenter des événements historiques ponctuels (incendie, naufrage, etc.). Grâce à une meilleure compréhension des processus d'altération de certains matériaux, ces études fournissent également des données essentielles en matière de conservation et de restauration des objets archéologiques et autres œuvres d'art.

Les résines végétales occupent une place de premier ordre parmi les matériaux organiques utilisés. Leur abondance à travers le monde et leur accessibilité, mais surtout leurs propriétés physico-chimiques particulières (inflammabilité, insolubilité dans l'eau, adhésivité, etc.) ont fait de ces sous-produits forestiers, les matériaux polyvalents les plus fréquemment employés à l'ère préindustrielle pour des applications diverses, que ce soit tels quels ou après un traitement peu contraignant (Langenheim, 2003). Nombre de ces résines sont encore exploitées de nos jours et ce n'est que depuis la seconde guerre mondiale que leur usage a progressivement été remplacé par celui de résines synthétiques.

Du fait de leur insolubilité dans l'eau, ces résines et particulièrement les dammars produites par les arbres de la famille des Dipterocarpaceae, originaires principalement du Sud-Est asiatique, ont longtemps constitué un matériau de choix pour la préparation d'enduits de calfatage de navires (Aubaile-Sallenave, 1987). Les dammars entraînent également dans la fabrication de matériaux employés dans le domaine de l'art (vernis, liants, ...) ou dans la composition de remèdes utilisés en médecine traditionnelle (Appanah *et al.*, 1998 ; Lampert *et al.*, 2002).

La famille des Dipterocarpaceae est constituée de près de 500 espèces qui produisent presque toutes de la résine en quantité plus ou moins importante (Appanah *et al.*, 1998).

En raison de leur exploitation massive au cours des siècles (avérée depuis le 5^{ème} siècle apr. J.-C.), un important réseau commercial de ces résines s'est développé depuis la Mer de Chine, s'étendant progressivement par delà les frontières des pays exploitants, grâce à l'amélioration des techniques de navigation ainsi qu'à l'essor des grandes expéditions. Il est toutefois important de noter que, bien qu'il soit évident que les résines aient été utilisées par le passé, nous ne disposons d'aucune information quant aux espèces productrices exploitées alors (Chapitre 2).

La composition chimique des dammars est complexe et variable d'une espèce à l'autre au sein d'un même genre ; de plus, au sein d'une même espèce, des variations de composition liées à des différences de climat ou de composition du sol peuvent également être observées. Par ailleurs, au cours du vieillissement d'une résine, sa composition moléculaire se complexifie profondément : un grand nombre de composés est généré par des réactions d'oxydation et plus généralement, par des processus de dégradation de composés initialement présents dans la matière organique fraîche. Il faut par ailleurs garder à l'esprit que les conditions de stockage d'un échantillon après sa découverte ont également un impact sur sa composition chimique.

C'est dans ce cadre que s'inscrivent nos travaux, articulés autour de quatre séries d'échantillons de matière organique supposés contenir de la dammar, en provenance de sites archéologiques asiatiques.

Il s'agit d'y confirmer la présence de dammar, d'en déterminer si possible la taxonomie et de caractériser les éventuelles autres substances présentes dans le mélange initial. Nous cherchons également à établir un profil d'altération de ces échantillons et notamment à rassembler des informations sur les méthodes de collecte et de préparation des résines qu'ils contiennent, ainsi qu'à déterminer les processus d'altération naturelle auxquels celles-ci ont été soumises au cours de leur longue histoire.

La première série d'échantillons archéologiques provient des amphores d'une épave du Brunei (Mer de Chine, 15^{ème} - 16^{ème} siècles apr. J.-C.), la deuxième, de l'épave M1J (déroit de Malacca, 16^{ème} siècle apr. J.-C.), la troisième, de l'épave de Belitung (Indonésie, 9^{ème} siècle apr. J.-C.) et la quatrième, du site d'excavations terrestres de Khao Sam Kaeo (Thaïlande, 4^{ème} - 2^{ème} siècles av. J.-C.).

Nous avons entrepris une étude moléculaire et isotopique de ces échantillons, complétée par l'analyse de résines fraîches de Dipterocarpaceae, au moyen de techniques chromatographiques et de spectrométrie de masse. L'approche chimique employée au laboratoire, dérivant largement de la méthodologie classiquement employée en géochimie, permet d'appréhender la résine dans sa globalité, c'est-à-dire d'en étudier les marqueurs moléculaires dans toute la gamme de polarité. Elle est particulièrement appropriée lorsque la résine est présente en mélange avec d'autres constituants organiques.

Dans un premier temps, nous avons déterminé la nature et l'origine des échantillons (Chapitre 3). La présence de dammars a été confirmée sans ambiguïté dans tous les échantillons grâce à leur distribution caractéristique en sesquiterpènes et surtout, en triterpènes appartenant aux séries du dammarane, de l'oléane et de l'ursane, décrite dans la littérature comme étant le critère diagnostique de la présence de dammar (van der Doelen, 1999). Les dérivés du dammarane étant faiblement représentés dans certaines espèces de cette famille, voire inexistant dans certains échantillons altérés, et les dérivés de l'oléane étant quasiment ubiquistes dans les résines triterpéniques, ce paramètre n'est pas toujours utilisable. Nous avons donc recherché un autre critère diagnostique de la présence de dammar et avons ainsi établi que les fractions des composés polyfonctionnalisés dérivés de dammars, quels que soient leur état de dégradation et leur composition (résine pure ou en mélange), présentaient

toutes un profil chromatographique similaire, bien distinct de ceux d'autres résines triterpéniques.

Au cours de cette étude, nous avons également établi des corrélations entre des cortèges de molécules spécifiques et la taxonomie de certaines résines fraîches à notre disposition. Ainsi, nous avons pu proposer un genre, voire même une espèce pour certains des échantillons archéologiques étudiés. Ceci est particulièrement intéressant puisque la caractérisation des résines par analyses palynologiques s'avère souvent très aléatoire, en raison de l'absence de pollens ou de la contamination des échantillons par les pollens du milieu environnant.

La méthodologie employée nous a également permis la caractérisation des constituants mélangés à la dammar lorsque nous étions en présence de matériaux organiques composites : nous avons ainsi mis en évidence la présence de poix dans deux de nos échantillons ainsi que celle de bitume dans l'un de ces deux derniers. Enfin, il nous a été possible de préciser la technique de gemmage employée pour collecter certaines des dammars étudiées.

Notre procédure d'étude nous a également permis de caractériser certains des processus d'altération subis par les échantillons (Chapitre 4). Nous avons ainsi mis en évidence la présence de composés caractéristiques de la biodégradation des triterpènes constituant ces résines, qui n'ont, à notre connaissance, jamais été cités dans la littérature traitant des dammars. Nous avons détecté dans certains échantillons archéologiques divers produits de biodégradation des triterpènes pentacycliques oxygénés en position 3, typiques des végétaux supérieurs :

- des des-A-triterpénoïdes, composés résultant de la coupure suivie de la perte du cycle A de ces précurseurs, puis de leur aromatisation progressive (Stout, 1992)
- des triterpènes pentacycliques polyaromatiques, composés dont l'aromatisation progressive est initiée par la perte de la fonction oxygénée en position 3 (Laflamme and Hites, 1979)
- des $\Delta^{2,12}$ -triterpadiènes, résultant de la déshydratation de triterpènes 3-hydroxylés (Ten Haven, 1992).

En revanche, ces composés n'ont pas été identifiés dans les résines fraîches. Afin de conforter nos déductions concernant les processus d'altération naturelle subis par ces échantillons, nous avons réalisé des expériences de vieillissement accéléré de dammars fraîches. Ainsi des expériences de simulation d'altération photochimique et thermique nous ont amenés à corréler la présence de certains composés à un mécanisme de dégradation particulier.

Préambule

Avant toute chose, il est important de noter un point essentiel dans l'étude des résines de la famille des Dipterocarpaceae, dont il n'est fait que rarement mention dans la littérature. Françoise Aubaile-Sallenave, dans son ouvrage intitulé « Bois et bateaux du Vietnam », indique que les calfats du Vietnam avaient pour habitude de mélanger les résines de différentes espèces de la famille des Dipterocarpaceae avant de s'en servir pour calfater les coques de navires (Aubaile-Sallenave, 1987). Quelques uns de ces mélanges sont encore connus de nos jours: les calfats associaient généralement de la dammar dite dure, réduite en poudre fine (principalement du genre *Shorea*) avec de l'oléo-résine, plus huileuse, provenant également de la famille des Dipterocarpaceae (essentiellement du genre *Dipterocarpus*). Ainsi, les espèces *Shorea vulgaris* Pierre, *S. thorelli* Pierre, *Dipterocarpus intricatus* Dyeri, *D. alatus* Roxb., *D. tuberculatus* Roxb., *D. jourdanii* Pierre, *D. artocarpifolius* Pierre et *D. insularis* Hance sont comptées au nombre des espèces les plus couramment employées à cet effet (Aubaile-Sallenave, 1987).

A notre connaissance, aucune donnée dans la littérature n'indique que ce genre de mélange n'ait pas été pratiqué dans d'autres pays d'Asie du Sud-Est pour la préparation d'enduits de calfatage ainsi que pour d'autres usages de ces résines. Il est tout à fait concevable que pour des raisons de disponibilité géographique et de propriétés physiques et chimiques, les calfats et autres artisans locaux aient eux aussi procédé à de tels mélanges d'espèces particulières appartenant à d'autres genres de cette famille.

Les résines de la famille des Dipterocarpaceae présentent un cortège moléculaire très fourni, que les processus d'altération tendent à complexifier largement. L'identification de ces substances en contexte archéologique se révèle donc ardue.

A cette complexité s'ajoute, comme nous allons le mentionner dans le chapitre 3 de ce manuscrit, la grande similitude des compositions moléculaires des résines d'un très grand nombre d'espèces de cette famille. L'identification d'une espèce pure se révélant donc déjà particulièrement délicate, il est évident que la pratique de mélanges d'espèces complexifie encore cette caractérisation.

L'existence de tels mélanges et la difficulté à en déterminer la présence sont à conserver à l'esprit tout au long de ce manuscrit. Néanmoins, afin de faciliter l'interprétation de nos résultats, nous avons postulé que les dammars présentes dans les échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail étaient des résines pures et non des mélanges de dammars appartenant à différentes espèces.

*N.B. : toutes les structures mentionnées dans ce manuscrit (notées **Dx**, **Ax** ou **Tx**) sont présentées en annexe.*

Chapitre 2

Résines végétales : diversité, biosynthèse, propriétés physico-chimiques et usages

1 Diversité des exsudats végétaux à travers le monde

Les résines végétales ont souvent été désignées de manière simpliste comme correspondant à des exsudats végétaux, alors que ce terme s'applique à bien des substances végétales d'origine et de nature diverses. Cette définition est souvent complétée par des considérations sur leur aspect (adhésivité, insolubilité dans l'eau ou encore durcissement plus ou moins important lors de leur exposition à l'air), ce qui n'a fait qu'accentuer la confusion avec d'autres exsudats végétaux. En effet, les gommes, les mucilages ou les latex ont souvent été considérés dans la littérature, à tort, comme étant des synonymes du terme résine. De là provient la nécessité de caractériser ces divers exsudats et de redéfinir clairement le terme de résine.

C'est avec l'avancée des techniques de chromatographie et de spectrométrie qu'il a été possible, dès les années 1940-1950, d'appréhender la chimie de ces exsudats et plus particulièrement celle des résines. Par ailleurs, les progrès en microscopie électronique ont joué un rôle majeur dans la compréhension du fonctionnement des structures sécrétrices des résines et de leurs fonctions au sein d'une plante. Les constituants de ces sous-produits forestiers ont alors pu être caractérisés, permettant de ce fait la distinction des résines des autres exsudats végétaux.

Les résines correspondent à des mélanges liposolubles, de terpènes et/ou de composés phénoliques secondaires, sécrétés par des structures spécifiques situées indépendamment à l'intérieur ou en surface d'un végétal (Langenheim, 2003). Ces substances, plus ou moins visqueuses, obtenues par exsudation naturelle ou provoquée, tendent à durcir au contact de l'air, plus ou moins selon les espèces, par évaporation de la fraction volatile et/ou polymérisation oxydative partielle de certains composés (Mills and White, 1977). Ce produit solide ou semi-solide protège la zone blessée du tronc de la plante.

Des blocs de résine exsudée sont parfois ensevelis dans le sol au pied d'un arbre. On parle alors de façon erronée de "résines fossiles" ; la fossilisation des résines se déroulant sur des temps géologiques. Il s'agit en réalité simplement de résine, au même titre que celle qui suinte à la surface de l'écorce d'un végétal : par exsudation, la résine s'accumule à la surface de l'écorce et par l'effet de la gravitation, forme progressivement des stalactites de matière qui, à un moment donné, cassent et tombent à la base de l'arbre.

1.1 Résines terpéniques

Le terme général résine s'applique en réalité aux résines terpéniques, objets de cette étude, qui, comme leur nom l'indique, sont constituées de terpènes (Figure 2.1). La biosynthèse, la chimie et les usages de ces exsudats particuliers sont présentés plus largement dans le paragraphe 2 de ce chapitre.

1.2 Résines phénoliques

Les constituants des résines phénoliques dérivent d'hydrates de carbone produits au cours de la photosynthèse. Diverses voies métaboliques entrent dans la synthèse des composés constituant les résines phénoliques.

Des résines phénoliques sont notamment produites par l'espèce *Myroxylon balsamum* (L.) Harms de la famille des Fabaceae (Amérique Centrale) et par les espèces du genre *Xanthorrhoea* de la famille des Xanthorrhoeaceae (Australie).

Il est à noter que, malgré le fait que la majorité des résines commercialisées soient de nature terpénique, les résines phénoliques constituent une source importante de biomasse pour des fuels et entrent souvent dans la composition de remèdes employés en médecine traditionnelle (Langenheim, 2003).

1.3 Gommages

Les gommages, matières visqueuses, ne sont secrétées que par certaines plantes, notamment des arbres appartenant aux familles des Leguminosae/Fabaceae et des Sterculiaceae. Elles résultent du processus de gommage se produisant suite à des traumatismes tels que la sécheresse, des affections fongiques ou bactériennes, des attaques d'insectes ou encore des blessures mécaniques, telles que des incisions (Fahn, 1979; Whistler, 1993).

La gommage consiste en la transformation de la cellulose et de l'hémicellulose en une matière amorphe après dégradation ou lyse de la membrane pecto-cellulosique des cellules.

Les gommages sont constituées de chaînes complexes de polysaccharides hydrophiles dérivant de l'association de monosaccharides tels que le galactose, le rhamnose ou l'arabinose (Figure

2.1). Il arrive également qu'on y trouve des sels de potassium, de magnésium et de calcium en association à quelques acides aminés.

Ces substances aux usages divers, sont principalement utilisées comme épaississant en confiserie.

La confusion entre gomme et résine provient essentiellement du fait que la gomme exsudée, en entrant en contact avec l'écorce, en absorbe les tanins et prend alors une couleur jaune. A cela s'ajoute sa tendance à durcir et à présenter ainsi, un aspect similaire à celui des résines (Langenheim, 2003).

Il faut noter que certaines plantes produisent à la fois de la gomme et de la résine ; c'est le cas des espèces appartenant au genre *Commiphora*, de la famille des Burseraceae (Bhatt, 1987; Langenheim, 2003).

1.4 Latex

Le latex est produit par des cellules laticifères distribuées dans toutes les structures de l'arbre et circule dans un réseau de vaisseaux distincts des canaux résineux : les canaux laticifères. Le rôle des latex est mal connu mais il a été suggéré qu'il est impliqué dans les mécanismes naturels de défense de l'arbre ; cette action de protection découlerait essentiellement de la présence de composés terpéniques et phénoliques dans sa composition (Langenheim, 2003). Ainsi, comme les résines, les latex suintent lors de blessures de la plante et forment en séchant une barrière protectrice contenant des éléments antimicrobiens luttant contre la pénétration des pathogènes (Langenheim, 2003). Il est collecté par saignées de l'écorce du tronc de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*, famille des Euphorbiaceae), du bananier (famille des Musaceae) et de nombreuses autres plantes appartenant aux familles des Apocynaceae, des Sapotaceae, etc. Certains latex des familles des Euphorbiaceae et des Apocynaceae sont très toxiques, car irritants et caustiques pour les muqueuses.

Le latex, constitué à 55-65% d'eau, correspond au cytoplasme des cellules laticifères, c'est-à-dire à leur contenu liquide. Celui-ci renferme des particules de caoutchouc en suspension représentant 90% de la matière sèche (Torsell, 1997). On y trouve également quelques protéines et sucres (Figure 2.1).

Le latex est un produit brut irremplaçable pour de nombreux usages en raison de ses propriétés particulières : il est collant et flexible, résistant et étirable presque à volonté.

1.5 Mucilages

Les mucilages sont, comme les gommes, constitués de polysaccharides. Ils sont produits par diverses structures chez quasiment toutes les plantes.

En se gorgeant d'eau, les mucilages produisent une substance visqueuse semblable à la gélatine, aux propriétés épaississantes, adhésives et adoucissantes. Ils jouent principalement le rôle de réserve de nourriture ainsi que celui de lieu de rétention d'eau et ce, essentiellement chez les succulentes (appartenant à de très nombreuses familles, notamment les familles des Agavaceae, des Cactaceae, des Crassulaceae, etc.). Ils interviennent également dans la régulation de la germination des graines (Langenheim, 2003).

	Composés
Résines	terpénoïdes
Gommes	polysaccharides
Mucilages	polysaccharides
Latex	terpénoïdes, protéines, hydrates de carbone, composés phénoliques, etc.

Figure 2.1 Principaux composants des résines, gommes, mucilages et latex (Langenheim, 2003).

2 Résines terpéniques

2.1 Biosynthèse des terpènes

Les résines terpéniques sont, comme leur dénomination l'indique, composées de terpénoïdes, qui constituent une classe de molécules polycycliques portant différents groupements fonctionnels.

Ces composés sont ubiquistes dans les organismes vivants mais atteignent leur plus grande diversité fonctionnelle et structurale au sein du règne végétal. Ces terpènes, assurant la fluidité des membranes, le transport d'électrons, la glycosylation des protéines et la régulation

du développement cellulaire, sont essentiels à la croissance, au développement ainsi qu'à la survie de tous les organismes vivants (McCaskill and Croteau, 1998).

On distingue alors les métabolites primaires (terpènes aux rôles physiologiques essentiels), tels que les stéroïdes, constituants des membranes cellulaires, des métabolites secondaires (terpènes aux rôles défensifs primordiaux pour la survie des plantes), qui correspondent à la majorité des près de 30 000 terpènes connus actuellement. En raison de leur importance dans de nombreux processus, des recherches intenses ont été menées afin d'élucider les structures et les propriétés de ces composés extrêmement complexes (Torssell, 1997). Ces travaux ont grandement contribué au développement de la chimie conformationnelle et à la compréhension de mécanismes réactionnels. Ainsi, les chimistes des 19^{ème} et 20^{ème} siècles, reconnaissant la valeur de ces composés pour les humains, les ont baptisés « produits naturels », afin de les distinguer des molécules de synthèse (Langenheim, 2003).

Les termes terpènes et terpénoïdes, employés indifféremment pour signifier la même chose, dérivent de l'allemand "terpentin" signifiant térébenthine. Cette substance est exsudée par le térébinthe ($\tau\epsilon\rho\acute{\epsilon}\beta\iota\nu\theta\omicron\varsigma$, *Pistacia terebinthus*), arbuste méditerranéen dont ont été isolés, pour la première fois, des composés appartenant à cette famille. Grâce au développement des technologies employées couramment en chimie, et notamment de la chromatographie en phase gazeuse (CG) et de la résonance magnétique nucléaire (RMN), les structures de près de 30 000 terpènes ont été élucidées à l'heure actuelle et il en reste probablement autant à découvrir.

Malgré leur grande diversité structurale et leur complexité chimique, ils possèdent une origine biosynthétique commune et sont regroupés en une seule et même famille, du fait de leurs structures toutes basées sur l'assemblage d'un nombre varié d'unité isoprène ou isopentényle C_5H_8 (Figure 2.2). C'est pour cette raison que les terpénoïdes sont souvent nommés isoprénoïdes alors qu'il est avéré depuis plus d'un siècle que l'isoprène ne constitue pas en soi le précurseur de ces composés.

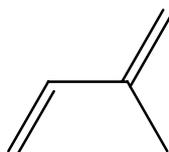


Figure 2.2 Unité isoprène ou isopentényle (C_5H_8).

C'est grâce à la visualisation de la disposition des unités isopréniques dans les composés complexes que sont les terpénoïdes, que les mécanismes d'assemblage de ces derniers ont été compris, et ce malgré les nombreux réarrangements métaboliques subis (Langenheim, 2003; McManus and Pittman, 1973). En effet, la règle isoprénique stipule que les terpènes sont constitués d'unités isopréniques assemblées les unes aux autres la plupart du temps en tête à queue. Partant de là, différents modes de cyclisation sont concevables et mènent à la formation de différents squelettes. Mais il apparaît rapidement que peu de composés obéissent à cette règle : des clivages et réarrangements du squelette original sont en cause (Torssell, 1997).

D'un point de vue purement biosynthétique, le précurseur fondamental de tous les terpénoïdes correspond à l'isopentényle pyrophosphate (ou isopentényle diphosphate ou IPP). Celui-ci résulte de la phosphorylation, la décarboxylation et l'élimination d'un phosphate de l'acide mévalonique (Figure 2.3), dont provient le nom de cette voie de biosynthèse de l'IPP : voie de biosynthèse acétate-mévalonate.

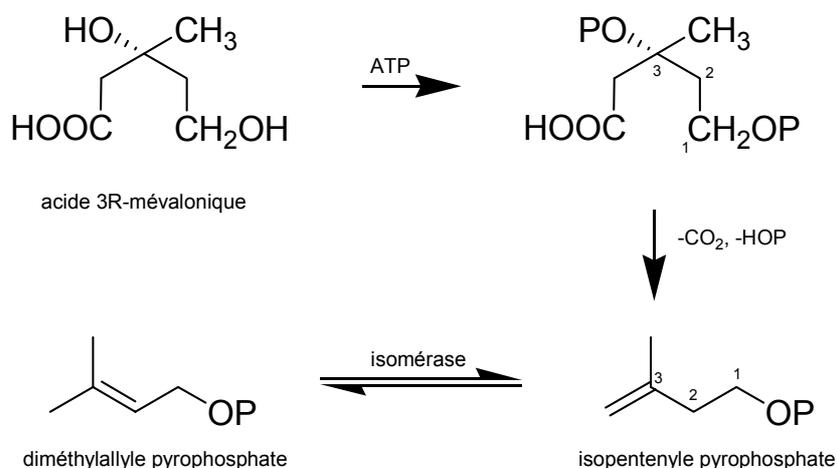


Figure 2.3 Formation d'isopentényle pyrophosphate (IPP) et de son isomère, le diméthylallyle pyrophosphate (DMAPP), à partir de l'acide mévalonique.

Jusqu'à récemment, on supposait à tort que la voie métabolique acétate-mévalonate constituait l'unique source d'IPP, unité isoprène active dans la polymérisation menant à la formation de polyisoprénoïdes. L'existence d'une autre voie, la voie GAP (glycéraldéhyde 3-phosphate) - pyruvate est mise en évidence chez certains micro-organismes (Rohmer *et al.*,

1993). Un an plus tard, Schwarz démontre que ce mécanisme entre dans la biosynthèse des diterpénoïdes de la plante primitive *Gingko biloba* (Schwarz, 1994). Depuis, il a été établi que cette voie est responsable de la biosynthèse de terpénoïdes chez les plantes. Le DMAPP (diméthylallyle pyrophosphate) constitue très probablement le produit final de cette voie métabolique. Celui-ci est potentiellement isomérisé en IPP par une IPP isomérase (McCaskill and Croteau, 1998).

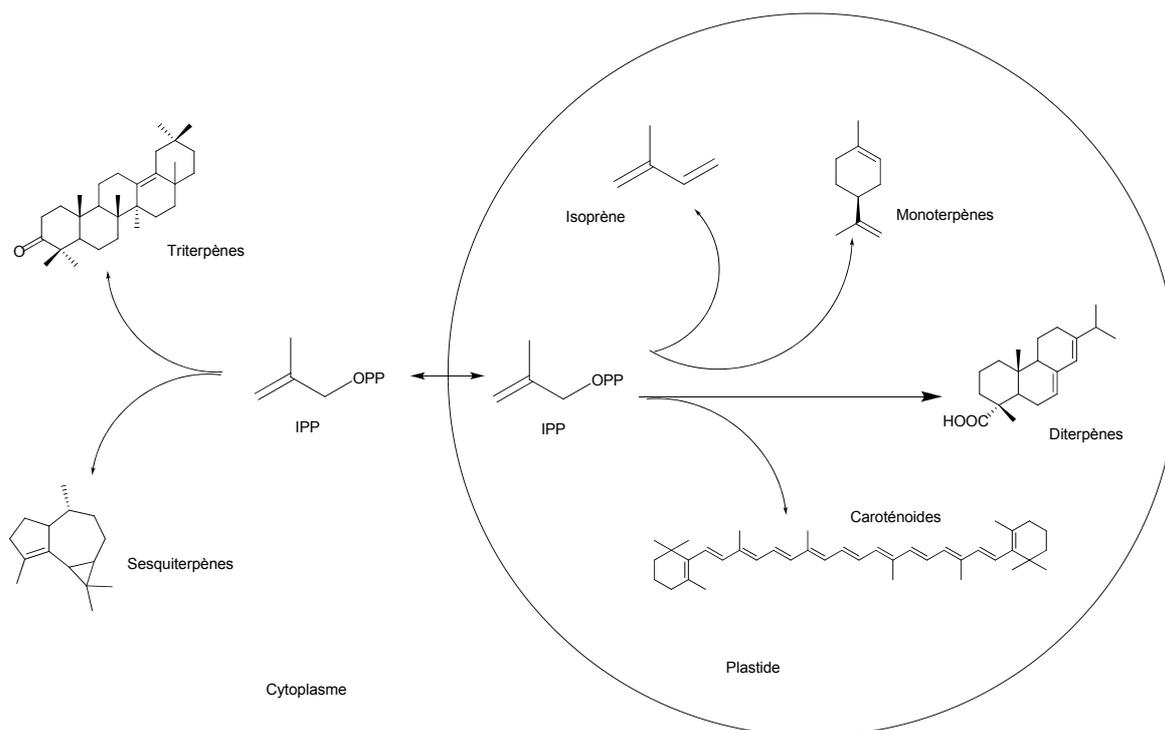


Figure 2.4 *Compartimentation des voies de biosynthèse des terpènes (d'après McCaskill and Croteau, 1998).*

La plupart des enzymes impliquées dans la biosynthèse des terpènes chez les plantes sont codées par des gènes multiples : ainsi, la distribution des différentes isoformes de ces enzymes peut être restreinte à certains compartiments subcellulaires, ce qui permet une régulation subtile mais flexible de la biosynthèse des terpénoïdes. La voie métabolique acétate-mévalonate, responsable de la synthèse des sesquiterpènes et des triterpènes, est cytoplasmique (cytosol et réticulum endoplasmique), tandis que la voie GAP-pyruvate, responsable de la biosynthèse de l'isoprène, des mono- et diterpènes ainsi que des caroténoïdes, prend place dans les plastides. Ces organites, responsables de la photosynthèse, de la synthèse et du stockage de nombreuses classes de composés, ne sont présents que dans

le cytoplasme. Il faut toutefois noter que ce schéma de biosynthèse compartimentée est simpliste, étant donnée l'existence d'échanges de métabolites cytoplasmiques et plastidiens : les voies acétate-mévalonate et GAP-pyruvate sont donc étroitement interconnectées (Croteau *et al.*, 2002; Langenheim, 2003; McCaskill and Croteau, 1998).

La condensation d'une unité DMAPP avec une unité IPP donne lieu à une unité géranyl pyrophosphate GPP, précurseur des monoterpénoïdes (C₁₀) (Figure 2.3 et Figure 2.5). Le farnésyl pyrophosphate FPP, précurseur des sesquiterpénoïdes (C₁₅) provient, quant à lui, de la condensation d'une unité GPP avec une unité IPP. Quelques sesquiterpènes acycliques sont connus, mais la grande majorité d'entre eux sont cyclisés par toutes sortes de réactions impliquant différentes enzymes, menant ainsi à un grand nombre de structures sesquiterpéniques différentes.

C ₅	hemiterpénoïdes	-
C ₁₀	monoterpénoïdes	constituants odorants des essences végétales
C ₁₅	sesquiterpénoïdes	constituants odorants des essences végétales
C ₂₀	diterpénoïdes	constituants de résines
C ₂₅	sesterterpénoïdes	encore rares – constituants de cires d'insectes ou de microorganismes
C ₃₀	triterpénoïdes	constituants de résines
C ₄₀	caroténoïdes/ tétraterpénoïdes	-
C _{5n} (n > 8)	polyprénoïdes	ex: caoutchouc
Substance partiellement terpénique	méroterpénoïdes	ex: chlorophylle (portion diterpénique)

Tableau 2.1 Les différentes classes de terpénoïdes.

Ce procédé de condensation est répété et ainsi l'ajout d'une unité IPP à une unité FPP produit un géranylgéranyl pyrophosphate GGPP, précurseur direct des diterpénoïdes (C₂₀) et précurseur indirect des tétraterpénoïdes (C₄₀). Près de 3 000 structures de diterpénoïdes ont été élucidées à l'heure actuelle, dont la majorité renferme des groupements

oxygénés (Langenheim, 2003). Ces diterpénoïdes peuvent être mono- (rares, ex : le rétinol ou vitamine A, impliqué dans le processus de la vision), di-, tri- ou tétracycliques.

La dimérisation de FPP queue à queue donne lieu à la formation du squalène, isolé pour la première fois dans le foie d'un requin, *Squalus* spp., avant d'apparaître comme distribué de manière ubiquiste (Torssell, 1997). Le squalène peut être replié de différentes manières mais il est généralement époxydé indifféremment sur une des doubles liaisons terminales, en époxyde-2,3 de squalène (Peters *et al.*, 2005). La structure du triterpène formé (nombre de cycles, stéréochimie) est liée à la conformation de son précurseur (squalène ou époxyde-2,3 de squalène) lors de la cyclisation enzymatique et de l'enzyme intervenant. Les triterpènes ainsi obtenus subissent des modifications secondaires dont un certain nombre induit la formation de triterpénoïdes ne contenant plus les 30 carbones originels (Langenheim, 2003). Parmi ces modifications, on peut citer l'introduction de groupes hydroxyles ou oléfiniques additionnels, l'oxydation des fonctions alcools en groupements carbonyles, les dégradations (ouverture de cycles), etc.

Quand la longueur des chaînes augmente, le nombre de cyclisations possibles et de modifications secondaires des composés augmente de manière drastique (Torssell, 1997). La diversité de structures des terpénoïdes est impressionnante, en particulier dans les séries des sesquiterpènes et des diterpènes.

La grande diversité des terpènes est due à la variété des terpènes synthétases existantes. On a isolé à l'heure actuelle, plus de 30 gènes codant pour ces enzymes catalysant la formation des squelettes de base des terpènes. Celles-ci sont encore appelées cyclases puisque les produits des réactions qu'elles catalysent sont généralement cyclisés (Langenheim, 2003).

Les triterpènes sont classés selon la structure de leur squelette carboné, qui peut être tétra- ou pentacyclique. Ces composés tétra- ou pentacycliques portent en général une fonction oxygénée en position 3 (le plus souvent une fonction cétone ou alcool), ainsi que d'autres groupements fonctionnels et/ou doubles liaisons situés dans les cycles et/ou sur leur chaîne latérale.

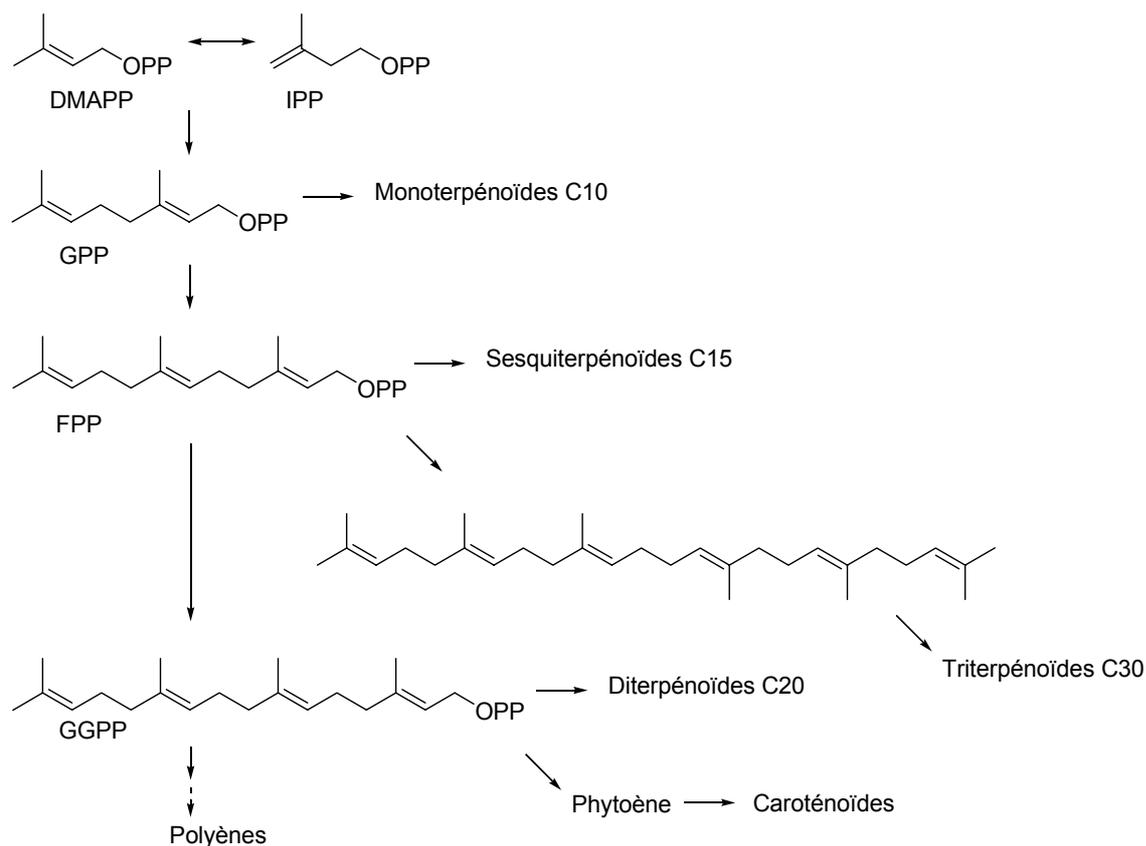


Figure 2.5 Voie de biosynthèse des terpénoïdes (Peters *et al.*, 2005).

Certaines séries de squelettes terpéniques sont caractéristiques de certains taxons, c'est-à-dire de certaines familles, voire même de certains genres particuliers (Langenheim, 2003). C'est pourquoi le squelette carboné de ces terpènes est d'une importance capitale dans l'étude des résines archéologiques, car même si les groupements fonctionnels sont modifiés, voire perdus au cours du temps, la structure carbonée cyclique est préservée et peut être utilisée comme marqueur moléculaire afin de relier une substance dégradée en contexte archéologique à son équivalent dans une résine fraîche (Lampert *et al.*, 2002).

La régularité structurale des terpènes est essentiellement liée à leur rôle fondamental dans la stabilisation des membranes cellulaires. En effet, beaucoup d'entre eux possèdent des structures amphiphiles, c'est-à-dire qu'ils sont constitués d'un groupement hydrophile terminal et d'un squelette hydrocarboné lipophile qui leur permet une insertion optimale dans ces membranes.

Hormis leurs fonctions dans les processus cellulaires basiques, les terpènes assurent également chez les plantes un certain nombre de rôles plus spécifiques tels que celui de toxine défensive (sesqui- et diterpènes), de signaux défensifs volatiles (mono- et sesquiterpènes), d'appât pour les pollinisateurs au niveau des tissus floraux (monoterpènes), etc. (McCaskill and Croteau, 1998).

2.2 Composition des résines terpéniques

Alors que les mono- et sesquiterpènes peuvent être trouvés conjointement dans les résines de Conifères et dans les résines d'un certain nombre d'Angiospermes (Langenheim, 2003), une plante ne peut synthétiser que l'un des deux types de terpènes de haut poids moléculaire. C'est donc sur la base du profil génétique des espèces les produisant que sont classées les résines. Celles-ci sont ainsi réparties en deux larges groupes (Figure 2.6): les résines diterpéniques, essentiellement produites par les arbres appartenant à l'ordre des Conifères et les résines triterpéniques, produites quant à elles par certaines familles du sous-branchement des Angiospermes (familles des Anacardiaceae, des Burseraceae et des Dipterocarpaceae ; Mills and White, 1977).

Remarque : La famille tropicale des Burseraceae (Angiospermes) constitue une exception puisque certains genres appartenant à cette famille renferment à la fois des di- et triterpénoïdes (Langenheim, 2003).

Les résines peuvent être soit physiologiques, c'est-à-dire produites naturellement par des plantes saines (également appelées résines préformées, non-traumatiques ou constitutives), soit pathologiques, c'est-à-dire consécutives à un stress de la plante. Dans ce dernier cas, ces exsudats constituent un moyen de défense du végétal face à une blessure ou une attaque par un agent pathogène (Hovaneissian *et al.*, 2006) : on parle alors de résine induite, traumatique ou de réaction (Lampert, 2003). Selon les espèces, les compositions de ces deux types de résine dépendent de leurs origines botaniques, géographiques ainsi que des conditions climatiques régnant dans leur environnement (Chiavari *et al.*, 1995).

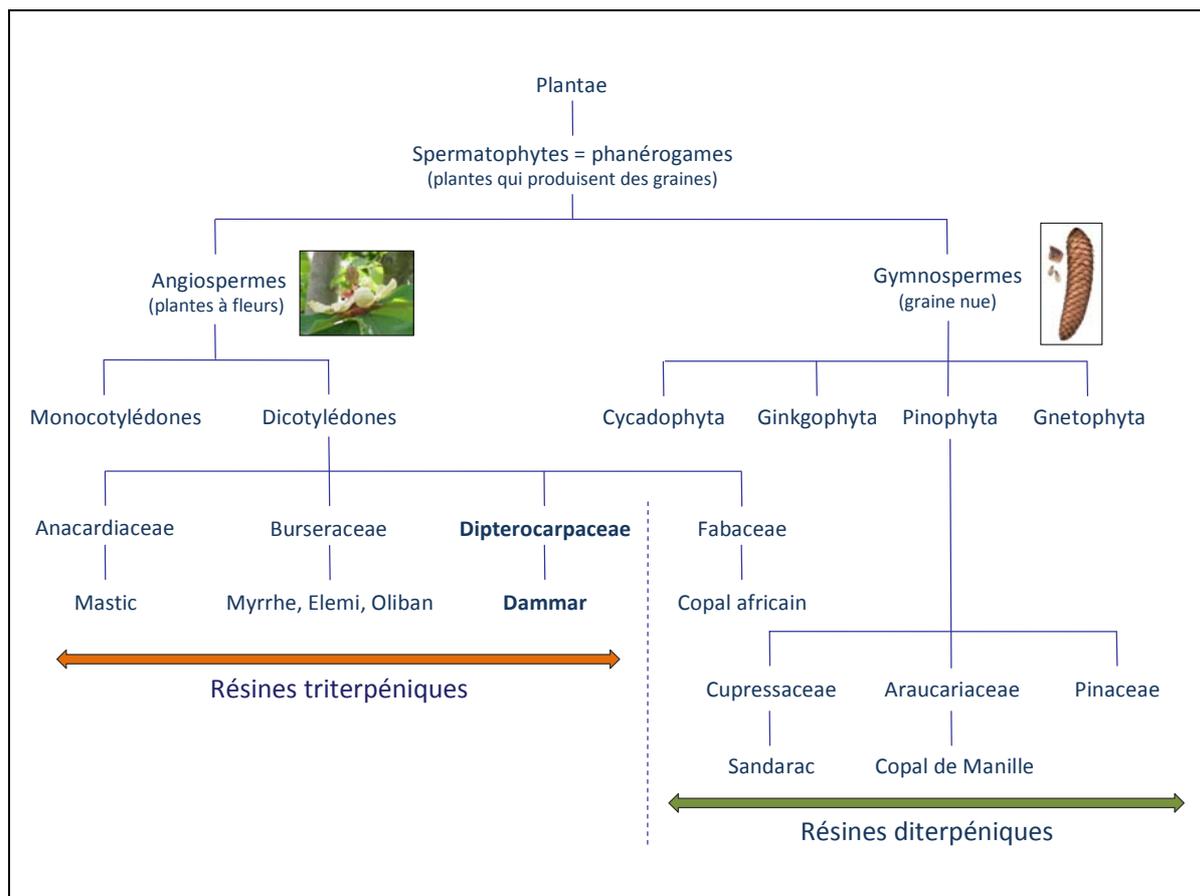


Figure 2.6 Principales familles résineuses citées dans ce manuscrit.

Il est suggéré qu’au départ les résines ne constituaient qu’une substance de stockage intercellulaire de composants toxiques pour la plante, et qu’il s’agissait donc d’une adaptation destinée à éviter l’autotoxicité qui a eu pour second bénéfice de défendre la plante contre les nuisibles. La résine contrecarre ainsi les herbivores et pathogènes qui s’attaquent à la plante, de manière toxique, dissuasive ou inhibitrice. Les mono- et sesquiterpènes servent également à attirer des organismes bienfaisants, tels que les prédateurs des herbivores néfastes pour la plante (Langenheim, 2003).

Les résines jouent de nombreux rôles au sein d’une plante, notamment celui d’agent cicatrisant en cas de blessure (Lampert, 2003). Elles protègent également la plante de la dessiccation, des radiations UV et des hautes températures, et ce principalement au niveau des jeunes feuilles et tiges (Langenheim, 2003).

Les résines sont produites de façon endogène dans les cellules épithéliales spécialisées appelées cellules parenchymateuses, qui sont présentes dans de nombreuses régions de la plante dont les racines, les feuilles, les tissus ligneux et l'écorce. Ces cellules sécrétrices vont se dissocier (schizogénie) et former ainsi de petites lacunes, appelées poches (lacunes arrondies) ou canaux (lacunes allongées) schizogènes dont le nombre, l'aspect, la grosseur et la répartition varient suivant les essences résineuses. Ces cavités constituent l'appareil sécréteur où sont stockés les produits de sécrétion avant de suinter à travers l'écorce de manière naturelle ou suite à une blessure. Dans ce dernier cas, la quantité de résine sécrétée est directement proportionnelle à l'importance du traumatisme (Hovaneissian *et al.*, 2006; Lampert, 2003; Langenheim, 2003).

Les cellules épithéliales des canaux schizogènes ont une membrane fine et restent actives plus longtemps que celles des poches schizogènes, ce qui explique que les canaux produisent plus de résine que les poches. Ces deux types de structures sont trouvés à la fois dans les structures végétatives des plantes, telles que les racines et le tronc, et dans les structures reproductrices, telles que les fleurs et les fruits. Généralement, un genre est défini par la présence de canaux ou de poches, mais il existe des exceptions : par exemple, la famille des Fabaceae renferme les deux types sécrétoires (Langenheim, 2003).

Les plastides et le réticulum endoplasmique lisse des cellules sécrétrices jouent un rôle essentiel dans la synthèse des résines, notamment dans la synthèse des terpénoïdes (*cf.* paragraphe 2.1). Le réticulum endoplasmique possédant la capacité de fusionner avec les membranes d'autres organites cellulaires, est responsable du transport cellulaire des composants des résines vers l'espace intercellulaire. Pour cela, ce dernier forme de petites vésicules contenant ces composés, qui vont circuler à travers la cellule vers la membrane plasmique où, après fusion, celles-ci déchargent leur contenu à l'extérieur de la cellule (Langenheim, 2003).

Si d'une manière générale une résine est constituée d'un grand nombre de composés, seuls quelques uns sont présents en concentration élevée. La fraction volatile des résines consiste généralement en hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques, auxquels viennent s'ajouter parfois quelques formes oxydées et occasionnellement des hydrocarbures diterpéniques. La fraction non-volatile est quant à elle constituée principalement d'acides di- ou triterpéniques en mélange avec quelques alcools, aldéhydes et cétones, en plus des composés neutres.

Ces proportions relatives de composés volatils et non-volatils, pouvant varier même entre espèces d'un même genre selon la nature du sol et les conditions climatiques du lieu de croissance des végétaux, déterminent la fluidité et la viscosité d'une résine et influent sur les méthodes employées par les hommes pour les collecter (Langenheim, 2003).

2.3 Résines diterpéniques

Comme cela a déjà été énoncé plus haut, les principaux producteurs de résines diterpéniques sont les arbres de l'ordre des Conifères, seuls Gymnospermes à synthétiser de la résine. La famille des Fabaceae du sous-embranchement des Angiospermes, produit également de la résine diterpénique appelée copal africain.

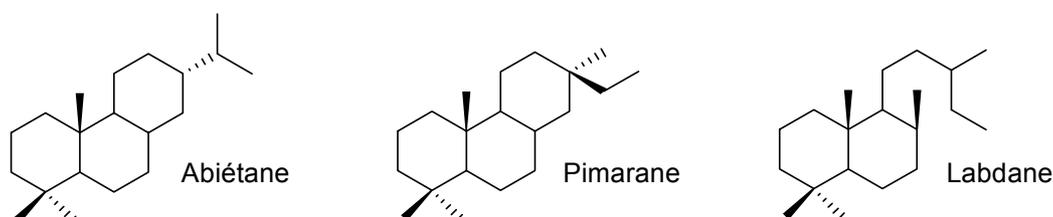


Figure 2.7 Principales structures de base des diterpènes constituant les résines de Conifères.

Ces résines sont caractérisées par une fraction volatile importante (20 à 50 % de la résine totale), où les monoterpènes dominent. Les mono- et sesquiterpènes y apparaissent essentiellement sous forme d'hydrocarbures, les formes oxydées n'y étant retrouvées qu'à l'état de traces. Ces composés volatils jouent un rôle défensif majeur contre les insectes et les agents pathogènes.

Les terpènes non-volatils de Conifères sont principalement des acides diterpéniques des séries de l'abiétane, du pimarane et du labdane (Figure 2.7, Langenheim, 2003).

2.4 Résines triterpéniques

Les résines triterpéniques sont produites par de nombreuses familles du sous-embranchement des Angiospermes (plantes à fleurs), notamment les familles des Anacardiaceae, des Burseraceae et des Dipterocarpaceae (Mills and White, 1977).

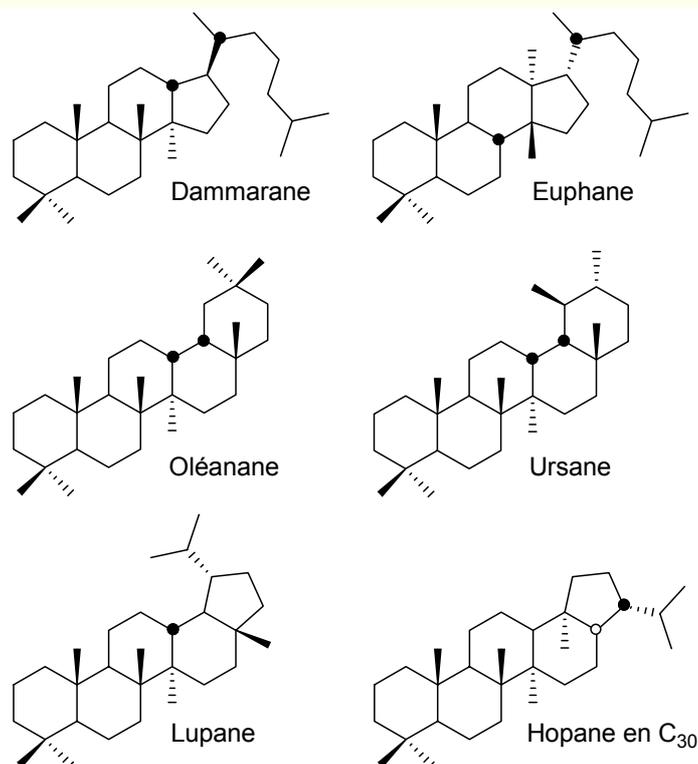


Figure 2.8 Principales structures de base des triterpènes constituant les résines d'Angiospermes.

La fraction volatile de ces résines est dominée par des sesquiterpènes. La fraction non-volatile de ces résines consiste quant à elle, en triterpènes tétra- et pentacycliques, appartenant à différentes séries (Figure 2.8 ; Langenheim, 2003).

Parmi les résines triterpéniques les plus exploitées par l'homme, on peut citer :

- **L'oliban/encens**, résine aromatique se présentant sous la forme de suc blanchâtre produit par incision de l'écorce d'arbres et arbustes appartenant au genre *Boswellia*. Ce genre regroupe une vingtaine d'espèces de la famille des Burseraceae, originaires d'Afrique et d'Asie. Les principales espèces exploitées sont *Boswellia sacra*, *Boswellia serrata*, *Boswellia*

frereana et *Boswellia carteri* (syn. *B. sacra*), originaires du Yémen, du Soudan, de la Somalie, d’Ethiopie et d’Inde.

Il faut attendre près d’une dizaine d’années pour que les arbres fournissent des résines de bonne qualité. Lorsqu’elle est brûlée, la résine de *Boswellia* dégage une épaisse fumée à l’odeur agréable : elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle comme fumigatoire ainsi que comme composant de traitements des rhumatismes. Autrefois, elle servait également dans les rituels religieux et funéraires.

La naissance de l’arbre à encens est légendaire : le soleil était amoureux de Leucothoé, fille d’Orchamos, roi des perses, qui la tue et l’enterre pour la détourner de cet amour. Le soleil, ivre de chagrin, répand alors sur la tombe de sa bien-aimée, un nectar divin tout en psalmodiant la phrase suivante : « tu monteras au ciel ». Ainsi naquit l’arbre à encens (Bilimoff, 2006).

Ces résines renferment des composés triterpéniques tétracycliques de la série euphane/tirucallane, ainsi que des composés pentacycliques des séries lupane, ursane et oléanane, ces deux dernières séries ne diffèrent l’une de l’autre que par la position d’un groupement méthyle. Des diterpènes ont parfois été retrouvés en association aux triterpènes dans cette famille (Langenheim, 2003).

- La **myrrhe** correspond à l’exsudat des arbres du genre *Commiphora*, appartenant également à la famille des Burseraceae, et qui sont originaires d’Inde, de Madagascar et du Sénégal. Elle provient à proprement parler des arbres de l’espèce *Commiphora myrrha*, encore appelés arbres à myrrhe ou balsamiers. Le mot latin murra ou myrraha, lui-même emprunté au grec, puise son origine dans le terme sémitique mrr, renfermant l’idée d’amertume qui caractérise l’odeur de la myrrhe.

Chez les Égyptiens, elle entrait dans la composition du kyphi, parfum servant à honorer les dieux, dont l’élaboration longue et minutieuse était confiée aux ancêtres de nos parfumeurs. Elle est l’un des principaux composants de l’huile sainte de la Bible.

La myrrhe est utilisée comme composant de médicaments en raison de ses propriétés antispasmodiques et stimulantes ainsi qu’en parfumerie, où elle entre notamment dans la composition des parfums de type oriental (elle y accroît la sensualité des notes de rose).

La myrrhe a également sa légende chez les Grecs qui en faisaient grand usage (ils s'en servaient notamment pour parfumer leurs vins). La myrrhe serait née des amours incestueuses de Myrrha et de son père Théias, roi d'Assyrie. Lorsque celui-ci s'aperçoit de l'erreur que lui a fait commettre sa fille, il la poursuit afin de la punir. Myrrha demande alors de l'aide aux Dieux qui la transforment en arbre à myrrhe, aux larmes de résine odorante (Bilimoff, 2006).

- La résine **mastic** se présente sous la forme de larmes jaune pâle dures se ramollissant par mastication. Elle est obtenue par incision de troncs d'arbres et arbustes de la famille des Anacardiaceae (encore nommée famille des Terebenthaceae). Cette famille compte environ 600 espèces réparties à travers le globe dans des régions tempérées à tropicales. C'est en région méditerranéenne que l'on trouve le genre *Pistacia* producteur des mastics déjà exploités dans l'Antiquité (principalement les espèces *Pistacia atlantica* Desf. et *Pistacia lentiscus* L. var. Chia ; Papageorgiou *et al.*, 1997) : Théophraste en mentionne l'usage dans cette région en 400 av. J.-C. (Langenheim, 2003).

Cette résine a par la suite été employée en pâtisserie, en confiserie, en cosmétique et entrainé dans la fabrication de liqueurs. Enfin, dès le 11^{ème} siècle, cette résine a été très prisée dans le domaine de l'art pour la préparation de vernis et de liants (Colombini *et al.*, 2000; van der Doelen *et al.*, 1998a; van der Doelen and Boon, 2000; Zumbühl *et al.*, 1998). Le mastic est encore utilisé de nos jours pour de nombreux usages.

Ces résines sont caractérisées par la présence conjointe de composés tétracycliques des séries euphane/tirucallane et dammarane et de composés pentacycliques des séries oléane et lupane (van der Doelen, 1999).

- Les **dammars**, produites par des membres de la famille des Dipterocarpaceae (Mills and Werner, 1955) et présentées plus largement dans le paragraphe 3, sont quant à elles constituées de composés tétracycliques de la série dammarane, ainsi que de composés pentacycliques des séries ursane, oléane et lupane (van der Doelen, 1999).

2.5 Importance historique des résines terpéniques

Ces sous-produits forestiers sont abondants à travers le monde et très facilement accessibles. Par ailleurs, les résines sont utilisables telles quelles ou après un traitement peu contraignant, et ont par conséquent été largement exploitées par le passé, à la fois pour un usage local et pour être exportées. En raison de leurs propriétés physiques et chimiques (insolubilité dans l'eau, adhésivité, inflammabilité, propriétés aromatiques et dans certains cas, biocides ; Lampert *et al.*, 2002), elles représentent les substances organiques les plus fréquemment trouvées dans et sur des objets retrouvés en contexte archéologique (Modugno *et al.*, 2006). Une étude anthropologique a d'ailleurs souligné qu'il n'y avait pas d'autre matériau aussi polyvalent que les résines qui n'ait été employé aussi fréquemment à l'ère préindustrielle (Langenheim, 2003). Nombre d'entre elles sont encore exploitées de nos jours et ce n'est que depuis la seconde guerre mondiale que leur usage a progressivement été remplacé, dans certains domaines, par celui de résines synthétiques (Mills and White, 1977).

L'importance des résines, et notamment des résines provenant du Sud-Est asiatique, en tant que marchandise est indubitablement très ancienne : ces substances, se conservant bien et voyageant sans problème, faisaient déjà partie des cadeaux envoyés en hommage à la cour de Chine par les rois Cham entre les 4^{ème} et 11^{ème} siècles apr. J.-C. et leur exportation vers la Chine est avérée depuis le 5^{ème} siècle apr. J.-C. (Lampert, 2003). Il est fort probable que l'usage local des résines est très antérieur à leur commerce et donc à leur exportation.

Ces exsudats entraient notamment dans la composition de vernis et liants pour les œuvres d'art (sculpture, peinture, bijoux, mobilier), et ce dans un double objectif de protection et d'amélioration des qualités esthétiques de celles-ci (Chiavari *et al.*, 1995). En effet, une fois appliqués sur la peinture, de tels enduits vont préserver l'objet de la saleté, de la poussière, de la lumière et des dommages mécaniques, notamment de l'abrasion (Colombini *et al.*, 2000). Par ailleurs, le vernis permet d'augmenter la saturation des couleurs d'une peinture et d'en unifier la brillance, ce qui fait ressortir les détails de l'œuvre (Colombini *et al.*, 2000).

Le même procédé est adopté dans le domaine de la manufacture d'instruments de musique, afin de préserver ceux-ci de l'humidité, de la saleté et des changements climatiques. Comme dans le cas des œuvres d'art, le vernis d'un instrument de musique est considéré comme partie

intégrante de celui-ci (rôle essentiel du vernis dans le son de l'instrument ; Echard, 2003; Echard *et al.*, 2007) et pourra donc difficilement être retiré et remplacé en cas d'altération.

Dans le milieu de l'art, les résines ont également été utilisées comme agents adhésifs. De nombreux traités d'art décrivent cet autre usage des résines : en association directe avec un pigment ou combinées à des huiles siccatives et des additifs organiques et inorganiques, elles constituent un mélange approprié pour l'application de pigments sur une œuvre. L'utilisation de résines terpéniques dans de tels mélanges servant à retoucher une toile, a été décrite par Léonard De Vinci (Doménech-Carbó *et al.*, 2006).

Certaines résines étaient particulièrement prisées en Egypte ancienne pour leurs propriétés odorantes et antiseptiques, et constituaient un ingrédient de choix entrant dans la composition de baumes d'embaumement. Les exsudats des espèces *Cedrus libani* (cèdre du Liban), *Abies cilicica* (sapin de Cilicie), *Pinus halepensis* (pin d'Alep), *Pinus pinea* (pin parasol) et *Picea orientalis* (épicéa) étaient particulièrement appréciés parmi les résines diterpéniques. Il arrivait également que les égyptiens se servent à ces effets, de résines triterpéniques telles que le mastic.

En raison de leurs propriétés adhésives et hydrofuges, les résines végétales ont très vite été utilisées comme agents de calfatage d'embarcations diverses et comme agents d'étanchéité de certains récipients en terre cuite tels que des amphores vinaires. Il est important de noter que les résines de pin, pures ou en mélange avec des résines de diverses provenances, ont été exploitées à cet usage dès l'époque romaine.

Ainsi, en raison de leurs nombreux attraits, un important commerce de ces matériaux s'est rapidement développé et quelques épaves dont la cargaison de résine était intacte ont été découvertes à travers le monde. On peut notamment citer l'épave d'Ulu Burun, naufragée au sud de la Turquie, qui a été datée du 14^{ème} siècle av. J.-C. Les cales de ce navire renfermaient une centaine d'amphores pleines d'une résine de couleur jaune qui s'est avérée, après étude, être du mastic (Hairfield and Hairfield, 1990 ; Charrié-Duhaut, communication personnelle). D'autres épaves à la cargaison de résine intacte (15^{ème} au 17^{ème} siècle), ont été retrouvées au large des côtes de la Thaïlande (Gianno *et al.*, 1990b). Sur ces mêmes navires, les résines avaient également été utilisées pour sceller les couvercles de grandes amphores de stockage (Lampert *et al.*, 2002).

3 Résines de Dipterocarpaceae

3.1 Famille des Dipterocarpaceae

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Theales (classification classique) Malvales (classification phylogénétique)
Famille	Dipterocarpaceae
Sous-familles	(1) Dipterocarpaceae (2) Monotoideae (3) Pakaraimoideae
Genres	(1) Anisoptera, Cotylelobium, Dipterocarpus, Dryobalanops, Hopea, Neobalanocarpus, Parashorea, Shorea, Stemonoporus, Upuna, Vateria, Vatica, Vateriaopsis (2) Marquesia, Monotes, Pseudomonotes (3) Pakaraimaea
Espèces	plus de 500

Tableau 2.2 Classement phylogénétique de la famille des *Dipterocarpaceae* (d'après Appanah et al., 1998).

L'ordre des Malvales renferme de nombreuses familles très différentes parmi lesquelles se trouve notamment l'importante famille des Dipterocarpaceae (Tableau 2.2) appartenant à la division des Angiospermes ou des Magnoliophyta (végétaux portant des fruits). Le terme Angiosperme signifie « graine dans un récipient » en grec, par opposition au terme Gymnosperme signifiant « graine nue ». Les Angiospermes représentent la majeure partie des végétaux terrestres avec plus de 250 000 espèces réparties essentiellement dans les

biotopes tropicaux ou tempérés. Ils se divisent en deux taxa : les Liliopsida ou monocotylédones d'une part, et les Magnoliopsida ou dicotylédones d'autre part. Les cotylédons correspondent aux feuilles primordiales constitutives de la graine, chargées des réserves de protéines, lipides et sucres qui sont dégradés par des enzymes au cours de la germination afin d'assurer le développement de l'embryon.

Appellation commune	Taxon
Dammar Empenot	<i>Shorea albida</i> Sym.
Dammar Gaging	<i>Shorea leprosula</i> Miq.
Dammar Hiroe	<i>Vatica papuana</i> Dyer.
Dammar Itam	<i>Canarium legitinum</i> Miq.
Dammar Kedemut	<i>Hopea fagifolia</i> Miq.
Dammar Kloopoop	<i>Shorea eximeia</i> Scheffer.
Dammar Penak	<i>Balanocarpus heimii</i> King.
Dammar Pine, white	<i>Agathis alba</i> Foxw.
Dammar Putih	<i>Agathis labillardieri</i> Warb.
Dammar Rasak	<i>Vatica rassack</i> Blume.
Dammar Sengai	<i>Canarium hirsutum</i> Willd.
Dammar Tenang	<i>Shorea soordersii</i> Brandis.
Dammar, white	<i>Vateria indica</i> L.

Tableau 2.3 Utilisation du terme dammar dans les noms communs de résines et espèces auxquelles se réfèrent ces noms (d'après Lampert, 2003). Les espèces surlignées n'appartiennent pas à la famille des Dipterocarpaceae.

Genre	Espèce	Autorité	Synonymes (noms vernaculaires de la résine)	Noms communs ou vernaculaires du genre
<i>Dipterocarpus</i>	<i>cf. dyeri</i>		<i>D. dyeri</i> Pierre (Dầu song nàng)	Balau Gurjun ou Gurjan
	<i>intricatus</i>	Dyer	(Dầu long)	Huile Yang Baume de Copaiba
	<i>obtusifolius</i>	Teijsm. ex. Miq	<i>D. punctulatus</i> <i>D. obtusifolius</i> Teysm	Huile de Gurjan Huile de Kanyin Minyak Keruing Huile In Huile Keruing Huile Minyak
<i>Shorea</i>	<i>Guiso</i>	Blume	<i>S. guiso</i> (Blanco) Blume <i>S. vulgaris</i> Pierre ex Lanessan <i>Mocanera guiso</i> Blanco <i>Isoptera burckii</i> Boerl. <i>Dipterocarpus guiso</i> Blanco <i>S. pierrei</i> Hance <i>S. longipetala</i> Foxw. <i>Anisoptera guiso</i> A.DC. <i>S. vidaliana</i> Brandis <i>S. vulgaris</i> Pierre ex Laness. <i>S. gala</i> Baill. <i>S. obtusa</i> Wall. Ex Blume var. <i>kohchangensis</i> F. Heim <i>S. robusta</i> C.F.Gaertn var. <i>schmidtii</i> F. Heim (Chò chai) (Damar tampih) (Damar kenua batu) (Balau) (Memtabu) (Guijo) (Phayom)	Dammar Sal Sal dammar
<i>Hopea</i>				Damar mata kuching Batavian damar
<i>Neobalano- carpus</i>				Damar pënak
<i>Vateria</i>				Piney white damar Indian white damar
<i>Anisoptera</i>				Palosapis

Tableau 2.4 Liste des dénominations taxonomiques et des noms vernaculaires de dammars (d'après Appanah et al., 1998; Lampert, 2003; Langenheim, 2003; Millet, 2003).

Dans la littérature, la caractérisation taxonomique de la famille des Dipterocarpaceae varie selon les auteurs en fonction des critères de classification - morphologie, physiologie, cytologie - pris en compte. On s'accorde généralement à regrouper les nombreuses espèces de la famille des Dipterocarpaceae (plus de 500) en trois sous-familles: les Dipterocarpoideae (sous-famille renfermant à elle seule, plus de 470 espèces), les Pakaraimoideae et les Monotoideae (Appanah *et al.*, 1998; Langenheim, 2003).

Ces arbres à feuilles persistantes des régions au climat tropical sont généralement très robustes et peuvent atteindre 40 à 70 mètres de haut et plus d'un mètre de diamètre à 1,5 m du sol (Bui Thi Mai and Girard, 2008; De Wit, 1966). Ils sont rarement caducs en saison sèche. On les rencontre principalement dans des zones phytogéographiques conformes à leur développement en terme de facteurs écologiques et climatiques, à savoir dans des forêts pluviales caractérisées par une moyenne de précipitations supérieure à 1000 mm et ne connaissant que de courtes périodes sèches.

En Asie du Sud-Est, ils constituent souvent la famille dominante de vastes formations forestières, ce qui a amené les spécialistes à nommer ces zones de végétation, des forêts à Dipterocarps. Il faut tout de même noter que l'altitude et le climat dictent grandement le type de flore rencontrée, et il n'est pas rare de ne trouver aucun brassage de la végétation de deux régions adjacentes. Chaque type de forêt d'Asie du Sud-Est renferme donc un panel caractéristique d'espèces résineuses: le nombre d'espèces de Dipterocarpaceae présentes peut y varier de 1 à plus de 200 selon les pays (Appanah *et al.*, 1998).

Les Dipterocarpoideae, sous-famille majeure de cette famille, regroupe les espèces asiatiques distribuées sur un vaste territoire s'étirant sur un peu moins de 6500 km, délimité par la chaîne de l'Himalaya au Nord, par la Nouvelle Guinée à l'Est et par les Seychelles au Sud-Ouest. Cette région englobe la Birmanie, le Laos, le Vietnam, l'Inde, la Chine et le Sri Lanka. Ils sont spécialement abondants dans la région Ouest de la Malaisie (Whitmore, 1988). Aucune espèce n'est trouvée en Australie.

Cette sous-famille renferme les principaux genres producteurs de résine, à savoir les genres *Shorea* (194 espèces), *Hopea* (102 espèces), *Dipterocarpus* (69 espèces), *Vatica* (65 espèces) et *Anisoptera* (11 espèces) (Langenheim, 2003).

Les espèces de la sous-famille des Pakaramoideae, natives d'Amérique du Sud, et plus spécifiquement de Guyane et du Venezuela, ainsi que de la région colombienne de l'Amazonie, correspondent à de très petits arbres ou à des buissons (Appanah *et al.*, 1998).

La sous-famille des Monotoideae, native d'Amérique du Sud et de deux régions distinctes d'Afrique (la première étant délimitée par le Soudan à l'Est et par le Mali à l'Ouest ; la seconde correspondant à une région semi-aride, au sud des forêts tropicales congolaises) est constituée d'espèces appartenant à trois genres : *Monotes* (petits arbres ou buissons), *Pseudomonotes* (grands arbres) et *Marquesia* (grands arbres) (Appanah *et al.*, 1998).

Hormis les espèces africaines qui ne possèdent pas d'appareil sécrétoire, toutes les espèces de la famille des Dipterocarpaceae produisent de la résine dammar en quantité plus ou moins importante.

Le terme malais "dammar" (ou "damar") signifiant résine doit être défini de manière précise car il en découle une certaine confusion, notamment dans la littérature ancienne où il est employé pour désigner de nombreuses résines, indépendamment de leurs origines botaniques : des résines appelées communément dammars appartiennent en réalité aux familles des Araucariaceae et des Burseraceae, car elles sont très similaires en apparence, aux résines de Dipterocarpaceae (Tableau 2.3, Lampert, 2003).

Dans ce manuscrit, le terme dammar fait spécifiquement référence aux résines de la famille des Dipterocarpaceae.

Des ambiguïtés dans la dénomination et l'origine des résines ayant souvent entraîné des difficultés de corrélation précise d'une espèce botanique avec sa composition chimique, nous avons choisi ici de désigner nos échantillons de résine par les noms taxonomiques latins des arbres producteurs, abrégés au genre et à l'espèce (Mills and White, 1977). Nous y ajoutons l'autorité lorsque celle-ci est connue. Le Tableau 2.4 associe à ces taxons, certains des très nombreux noms communs ou vernaculaires recensés pour les résines étudiées au cours de ce travail : nom commercial, nom désignant un exsudat spécifique ou en relation avec l'arbre producteur (Lampert, 2003).

Dans la littérature, on distingue souvent deux types de résine au sein de la famille des Dipterocarpaceae, en fonction des teneurs relatives en sesqui- et triterpénoïdes (Appanah *et al.*, 1998; Langenheim, 2003):

- les oléorésines, très fluides car la fraction volatile y est prédominante (les sesquiterpénoïdes y sont majoritaires). Ces résines présentent une odeur bien spécifique et ont été essentiellement utilisées en médecine. Les genres *Dipterocarpus* et *Anisoptera* en sont les principales sources ; certaines espèces des genres *Shorea*, *Vatica*, *Dryobalanops* et *Parashorea* produisent également des oléorésines.
- les dammars, résines dures et cassantes où les triterpénoïdes sont prépondérants, résultent du durcissement de l'exsudat après évaporation de la fraction « huile essentielle ». Les espèces productrices de ces résines principalement utilisées dans la préparation de vernis appartiennent aux genres *Neobalanocarpus*, *Hopea* et *Shorea*.

Etant donné l'emploi chaotique de ces deux termes (Appanah *et al.*, 1998), et puisque la fraction « huile essentielle » s'évapore à plus ou moins long terme, nous n'utiliserons pas cette distinction dans ce manuscrit.

3.2 Chimie des dammars

Même si toutes les espèces de cette famille étaient étudiées du point de vue chimique, ce qui est loin d'être le cas à ce jour, l'identification précise d'une résine inconnue, c'est-à-dire la détermination de l'espèce la produisant, serait hautement problématique (Mills and White, 1977) : en effet, même si quelques genres de cette famille peuvent être différenciés par la présence de marqueurs moléculaires caractéristiques, au niveau de l'espèce les similitudes sont bien trop importantes pour permettre une quelconque différenciation. Au sein d'un même genre de la famille des Dipterocarpaceae, on retrouve généralement le même cortège de marqueurs moléculaires dont seules les proportions varient (Lampert *et al.*, 2002). Il a même été noté que ces proportions pouvaient fluctuer d'un arbre à l'autre d'une même espèce, selon leur localisation géographique, le climat auquel ces arbres sont soumis et la composition du sol (Lampert *et al.*, 2002).

Les dammars sont constituées à la fois de sesquiterpènes et de triterpènes (van der Doelen, 1999). L'absence de monoterpènes a été mise en évidence par Bisset (Bisset *et al.*, 1966; Bisset *et al.*, 1967; Bisset *et al.*, 1971) et Diaz (Diaz *et al.*, 1966; Diaz and Ourisson, 1966) et est commune à toutes les espèces asiatiques de cette famille.

La composition des dammars en hydrocarbures sesquiterpéniques est très variable d'une espèce à l'autre. Il faut d'ailleurs noter que la majorité de ces composés présente des spectres de masse très similaires, ce qui rend leur identification très complexe. Cependant, dans nos échantillons, il nous a tout de même été possible d'en caractériser certains par comparaison de leurs spectres de masse avec les spectres de masse disponibles dans la banque de données NIST - National Institut of Standards and Technology (Figure 2.9).

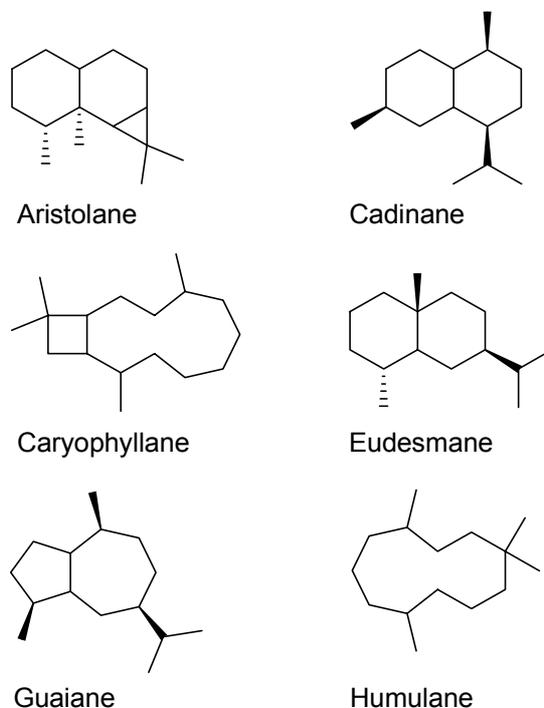


Figure 2.9 Principales structures de base des sesquiterpènes identifiés dans les dammars.

Comme nous l'avons déjà indiqué dans le paragraphe 2.4, la fraction triterpénique des dammars est constituée principalement de composés appartenant aux séries tétracyclique du dammarane et pentacycliques de l'oléanane et de l'ursane, dont l'association constitue le paramètre diagnostique de ces résines. On y trouve également quelques dérivés

pentacycliques appartenant à la série du lupane et quelques hopanes qui n'ont pas valeur de marqueurs moléculaires des dammars.

Au cours du temps, ces résines subissent des modifications chimiques plus ou moins poussées qui dépendent du milieu de conservation de l'objet archéologique dans ou sur lequel ont été retrouvées ces substances, ainsi que du temps qui s'est écoulé entre leur exsudation et leur découverte. La composition moléculaire de ces résines est également dictée par les modifications auxquelles elles ont été soumises lors de leur exploitation par l'homme : chauffage plus ou moins soutenu, mélange à d'autres substances organiques ou inorganiques pour en modifier les propriétés ou encore exposition à la lumière. Les groupements fonctionnels des marqueurs moléculaires sont les premiers à être touchés au cours de l'altération ; des ruptures de liaisons, la formation ou le déplacement de doubles liaisons prennent ensuite place, via des réactions d'hydrogénation et de déshydrogénation. Après l'abandon de ces objets par l'homme, la biodégradation des dammars va largement prendre place et ce, par le biais de réactions d'oxydation et d'hydrogénation (Lampert *et al.*, 2002).

3.3 Gemmage des dammars



Figure 2.10 Gemmage de *Shorea javanica*, Sumatra, Indonésie : les entailles antérieures servent de prises de pieds au gemmeur (photo : Mien Kaomini, site web www.fao.org).

Le gemmage, encore appelé résinage, est un procédé qui consiste à entailler le tronc d'un arbre afin de collecter la résine qui en exsude (Billy, 1991; Marouf, 2000). Toutes les espèces résineuses de Dipterocarpaceae ne sont pas gemmées car nombre d'entre elles ne sont pas rentables en terme de quantité de résine produite par arbre et par jour. Le taux de résine est variable d'un arbre à l'autre, mais en général il diminue nettement lors de la floraison et de la fructification (Langenheim, 2003).

Selon les régions, les traditions de gemmage diffèrent quelque peu : saison de collecte plus ou moins longue, techniques variées de ravivage de l'exsudation, etc. Le gemmage est généralement réalisé sur des arbres d'une vingtaine d'années minimum (Langenheim, 2003).

Par temps froid, une cavité est réalisée dans le tronc d'un arbre à environ un mètre du sol afin d'induire l'écoulement de la résine. Par exposition à l'air, les composants volatils vont s'évaporer en laissant un résidu solide ou semi-solide qui protège la zone blessée. La résine est collectée régulièrement par raclage de la surface de l'écorce et lorsque le flux s'arrête, soit la surface éraflée est traitée de façon à stimuler l'écoulement de la résine, soit une nouvelle blessure est réalisée. La saison de collecte s'échelonne généralement sur plusieurs mois durant lesquels un arbre de 2 m de circonférence peut produire jusqu'à 9 kg de résine. Les arbres de la famille des Dipterocarpaceae ne fournissent de résine qu'après avoir été gemmés à deux ou trois reprises (Messer, 1990).

En Birmanie, le gemmage, actuellement interdit en raison de la gravité des dommages causés aux arbres, consistait traditionnellement en la réalisation de deux à trois blessures de forme pyramidale à la base du tronc. Après carbonisation de la surface de ces entailles, la résine était retirée à intervalle régulier de 3-4 jours avant de procéder à une nouvelle carbonisation de la surface ainsi dégagée. Au cours d'une saison, les entailles étaient rafraîchies trois à quatre fois (Appanah *et al.*, 1998).

Au Bangladesh, la pratique du gemmage différait quelque peu : durant la nuit, du charbon incandescent était disposé dans l'entaille relativement profonde. La résine était récoltée le lendemain matin, et le charbon, immédiatement remplacé. Cette pratique, répétée jusqu'à l'arrêt du flux de résine n'a été adoptée que dans peu de pays étant donné que le nombre important d'entailles réalisées et entretenues de cette manière sur un seul arbre entraînait régulièrement sa mort (Appanah *et al.*, 1998).

En Inde, un feu est maintenu sous la blessure réalisée à 75 cm du sol environ, jusqu'à ce qu'elle soit calcinée et que le flux de résine démarre. Toutes les trois à quatre semaines, la

blessure est rafraîchie, c'est-à-dire que sa surface est éraflée avant d'être à nouveau calcinée. La collecte a lieu de novembre à février et les arbres trop endommagés sont mis au repos durant un à deux ans (Appanah *et al.*, 1998).

A Sumatra, les villageois "préparent" les futurs arbres exploités puisque, selon leurs observations, un arbre non préalablement saigné produit peu, voire pas du tout de résine (Messer, 1990). Pour cela, les gemmeurs réalisent traditionnellement des rangées d'une quarantaine de petits trous, préférentiellement sur la surface du tronc exposée plein sud, avant de les recouvrir d'écorce. Au bout d'un mois, les trous sont découverts et le peu de résine exsudée est retiré avant que le morceau d'écorce ne soit remis en place. La résine commence à remplir les trous au bout de trois mois. Après six à douze mois, lorsque l'exsudation est jugée suffisante, les petits trous vont pouvoir guérir et des blessures plus importantes sont alors réalisées dans le tronc. Grandes de 10-15 cm et profondes de 5-10 cm, elles sont souvent de forme triangulaire (parfois semi-circulaire, Torquebiau, 1984) : le triangle pointe vers le haut de l'arbre, de manière à servir par la suite d'appui facilitant l'ascension des gemmeurs dans l'arbre (Figure 2.10). Les blessures, souvent entaillées de plus en plus profondément pour favoriser l'exsudation, sont abandonnées une fois le centre du tronc atteint : les préleveurs réalisent alors de nouvelles entailles. Les petites blessures initiales vont sensibiliser l'arbre aux attaques fongiques, induisant ainsi une réponse défensive de celui-ci sous la forme de flux résineux. Des changements anatomiques et ultra-structuraux tels que la formation de cavités de réserve, vont alors expliquer l'exsudation massive lors des entailles ultérieures : les blessures d'arbres "naifs" ou "non préparés" n'induisent donc qu'une réponse basale (Messer, 1990). Le gemmage débute sur des arbres d'une vingtaine d'années (diamètre du tronc à 1 m du sol environ : 30 à 50 cm) et se poursuit environ 10 ans, jusqu'à ce que la production de résine diminue : un hectare de Dipterocarpaceae peut produire jusqu'à 4,8 tonnes de résine par an (Appanah *et al.*, 1998).

En Indonésie, l'application d'opium (candu, en indonésien) au niveau des entailles afin de stimuler l'écoulement de la résine était fréquente par le passé. Cependant, une grande attention était nécessaire car un surdosage de cette substance entraînait la défoliation de l'arbre, menant ainsi à sa mort (Messer, 1990).

Aux Philippines, une étude d'un an réalisée sur 32 espèces du genre *Anisoptera* (nom commun : palosapis) démontre que le diamètre des arbres gemmés n'influe pas sur le taux de résine produite : l'importance du diamètre d'un arbre est essentiellement due à l'épaisseur plus importante de l'écorce, tissu ne renfermant pas de canaux résineux. En revanche, il

apparaît clairement dans cette même étude que l'importance des précipitations influence directement le taux de résine exsudée (Ella and Tongacan, 1987).

De nouvelles techniques de gemmage moins destructrices que les feux ont été développées au cours des dernières décennies: elles consistent en l'application de produits chimiques au niveau de la blessure afin de stimuler le flux de résine qui est souvent de meilleure qualité (Appanah *et al.*, 1998). La vaporisation de solutions sur le feuillage ou encore l'application d'acide 2-chloroéthylphosphonique (CEPA) sur les entailles ont été testées (Messer, 1990). En conditions basiques, le CEPA va s'hydrolyser en libérant de l'éthylène, qui va induire diverses réponses physiologiques : le traitement avec 10% CEPA durant 72 heures, de troncs de *Shorea javanica* "préparés", conduit à une augmentation de 110% de la production de résine (Messer, 1990).

3.4 Usages particuliers des dammars

3.4.1 Calfatage

Le calfatage d'un navire est une opération qui consiste à en étanchéifier la coque. Pour cela, les calfats introduisent en force (par bourrage) et ce jusqu'à refus, des fibres végétales (fibres de coco, de coton, de papyrus, d'écorce fibreuse, etc.) ou des cordages séchés afin qu'ils se rétractent et débités en fines lamelles, entre les bordés non jointifs (planches constitutives du flanc du navire) et les fentes du matériau de construction. Une fois dans l'eau, ces fibres vont se gorger d'eau et le gonflement va, par pression, resserrer les pièces du bordage entre elles, empêchant ainsi le passage de l'eau. Le gonflement dans l'axe perpendiculaire à l'axe du végétal, entre l'état sec à l'air et l'état très humide peut atteindre 10%, ce qui est considérable. Il est donc tout à fait concevable qu'une telle fibre coincée entre les lèvres d'un joint devienne pratiquement imperméable. Ainsi, les joints d'un bateau fraîchement sorti d'un chantier naval fuient ; ce n'est qu'une fois les mèches de calfatage suffisamment humidifiées que l'embarcation est totalement étanche. De la même manière, un bateau retiré à terre et qui sèche, voit tous ses joints s'ouvrir et bailler (Aubaile-Sallenave, 1987).

Le calfatage à l'aide de fibres végétales des fentes et joints d'un bateau est complété par une substance que les calfats nomment mastic de calfatage (sans lien avec les résines de la famille des Anacardiaceae). Cette substance achève le remplissage des joints de bordés et comble également les fissures trop étroites pour l'être par des fibres végétales. De tels mastics sont employés dans tous les chantiers navals du monde où sont construits des embarcations en bois, mais ceux-ci sont de nature très différente d'un chantier à l'autre. En Asie du Sud-Est, les calfats emploient traditionnellement à cet effet des résines végétales, mais également des huiles végétales ou des graisses animales mélangées à diverses substances épaississantes (chaux, sciures très fines de bois tropicaux, déchets de fibres végétales, etc.), de la laque indochinoise exsudant d'arbustes appelés communément arbres à laque (*Rhus succedanea* L.), etc.



Figure 2.11 *Calfatage de thuyên thúng, petites embarcations de pêcheurs encore construites de nos jours au Vietnam (photos : Marco Casiraghi).*

Ces substances doivent satisfaire à plusieurs qualités :

- elles doivent parfaitement adhérer aux bois ou aux bambous de construction
- elles doivent présenter une texture suffisamment fine pour pouvoir pénétrer dans les plus petites fissures et ainsi combler les interstices des fibres végétales à la base du calfatage
- au moment de leur application sur l'embarcation, elles doivent avoir une consistance pâteuse mais tout de même fluide afin de pouvoir être bien étalées et de pénétrer le plus profondément possible dans les interstices

- quelques heures après la pose, elles doivent avoir acquis suffisamment de dureté pour résister aux frottements subis, tout en conservant une certaine souplesse leur permettant de suivre les mouvements de jeu du bois sans se fissurer ni se décoller.

Au Vietnam, ces mastics sont appliqués à froid en plusieurs couches épaisses à l'aide d'une palette en corne ou d'un pinceau à poils courts et raides, aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des embarcations. Le séchage entre deux applications peut durer de 24 à 48 heures. Le calfatage assure non seulement l'étanchéité de la coque mais constitue également un facteur de solidité de celle-ci : l'élasticité des joints de calfatage est telle que les mouvements de torsion subis par la coque en mer sont absorbés, empêchant ainsi les micro-coulissements susceptibles de fatiguer prématurément le chevillage.

Du fait de leur insolubilité dans l'eau, les dammars ont été particulièrement prisées par le passé dans les chantiers navals traditionnels d'Asie du Sud-Est, pour calfater des constructions mises au contact de l'eau (Bui Thi Mai and Girard, 2008). Ces résines sont souples et résistent à l'eau de mer. A ces propriétés s'ajoutent leur faible pouvoir de dessiccation lors des fréquentes mises à sec des embarcations, en cas de réparation notamment, et leur propriété répulsive vis-à-vis des organismes xylophages.

Au Cambodge et dans les Centre et Sud Vietnam où sont principalement utilisées ces résines de Dipterocarpaceae, les calfats emploient toujours des oléo-résines (appartenant essentiellement au genre *Dipterocarpus*) en mélange avec des résines plus dures (du genre *Shorea* principalement). Les résines de *Shorea* réduites en poudre fine au mortier, sont incorporées à chaud dans les oléo-résines, parfois préalablement réduites d'un quart par ébullition. L'ensemble est agité durant tout le temps de l'ajout de résine dure. Les proportions d'oléo-résine et de résine dure sont de 50% chacune, mais le calfat procède non pas par pesée, mais par tâtonnement étant données les variations de composition chimique des résines souvent observées d'un arbre à l'autre. Parfois, pour épaissir ces mastics, on y ajoute encore de la poudre de charbon de bois ou de petits brins végétaux provenant de vieux filets de pêche ou de bouse de buffle séchée.

Si après refroidissement, le mastic est trop fluide, le calfat y ajoute de la poudre de résine dure ; à l'inverse, en cas de faible fluidité, il prolonge la cuisson du mélange.

Le mélange est ensuite appliqué à chaud, parfois même bouillant, sur le navire afin de parfaitement adhérer aux bois ou bambous constituant la coque (Aubaile-Sallenave, 1987).

Sur le chantier naval de An Khánh (delta du Mékong), ces résines sont encore utilisées de nos jours pour le calfatage des jonques. Le bourrage est réalisé au moyen de fibres de bambou ou d'autres matériaux imprégnés de dammar. La finition du calfatage se fait par application d'un enduit constitué de résine dure appartenant au genre *Shorea* qui va être pulvérisée et mélangée à de la résine plus liquide du genre *Dipterocarpus*. Le calfatage d'une jonque de 25 à 30 mètres de long nécessite environ 200 Litres de résine (Bui Thi Mai and Girard, 2008).

Dans les environs de Đà Nẵng (centre Vietnam), on compte encore de nombreux chantiers navals où sont construits les thuyên thúng (Figure 2.11), petites embarcations de pêcheurs à la coque circulaire, encore appelés « bateaux paniers ». La coque de ces bateaux est réalisée par tressage serré de fines lamelles de bambou. Cette coque, dont les interstices sont bouchés avec de la bouse de bovidé (essentiellement de zébu), est ensuite enduite d'une épaisse couche de résine de Dipterocarpaceae par applications successives : les genres essentiellement employés sont là encore les genres *Dipterocarpus* et *Shorea*. Les principales particularités de ces constructions sont leur grande souplesse ainsi que l'élasticité de leur armature, qui ont mené à la comparaison de ces coques « à la peau d'un poisson sur laquelle les ondulations des vagues passent sans provoquer de remous ». Ces esquifs, largement utilisés par les pêcheurs depuis le Moyen-Âge, sont encore très prisés de nos jours : on peut les observer tout au long des côtes vietnamiennes (Bui Thi Mai and Girard, 2007; Bui Thi Mai and Girard, 2008).

3.4.2 Vernis et liants

Les dammars ont été utilisées dans la préparation de vernis employés dans le domaine de l'art. Les vernis forment une couche protectrice pour la peinture, contre la poussière, la lumière et les dommages mécaniques tels que l'abrasion. Ils en améliorent également les qualités optiques par augmentation de la saturation et de la brillance des couleurs (de la Rie, 2003; van der Doelen, 1999).

Des vernis à base de résine étaient utilisés depuis le 9^{ème} siècle, leur préparation ayant considérablement évolué au cours de l'histoire. Les premières recettes décrites par Teophilus au 11^{ème} siècle et par Cennini au 15^{ème} siècle consistaient en la dissolution de résine chauffée

dans de l'huile siccatrice, principalement de l'huile de lin ou de noix (« linseed oil » ou « walnut oil ») : on parlait alors de vernis à l'huile. A partir du 16^{ème} siècle, les vernis à base de résines en solution dans des solvants volatils (vernis spiritueux) tels que la térébenthine (« oil of turpentine »), séchant plus vite et étant plus cohésifs que les précédents, deviennent plus populaires. Les artistes et artisans ont eu typiquement recours à des résines végétales telles que le copal de Manille (famille des Araucariaceae), l'élémi (famille des Burseraceae), la sandaraque (famille des Cupressaceae), la colophane (résidu solide obtenu après distillation de résine de pin) et le mastic (famille des Anacardiaceae) (Echard *et al.*, 2007; Lampert, 2003). Ce n'est qu'au 19^{ème} siècle que les vernis à base de dammar, plus pâles et plus transparents, seront introduits en Europe par Lucanus, où ils vont progressivement remplacer les vernis les plus usités (à base de mastic), en raison de leur plus grande stabilité (de la Rie, 1988a). En effet, ils présentent une tendance moindre à jaunir et à craqueler avec le temps. La dammar est encore considérée actuellement comme un matériau de choix pour la fabrication de tels vernis (Lampert, 2003; van der Doelen, 1999).

3.4.3 Usages médicaux

Leurs nombreuses propriétés biologiques ont fait des résines de Dipterocarpaceae, des composés de choix pour la fabrication de remèdes et médicaments variés, seuls ou en mélange avec des huiles essentielles diverses. Employées en usage interne ou externe, ces substances ont des effets diurétiques, carminatifs, expectorants et diaphorétiques, mais sont également d'excellents antiseptiques et antibactériens. Enfin, elles jouent souvent le rôle d'émollient dans les emplâtres et les pommades (Appanah *et al.*, 1998).

Ces substances végétales entrent également dans la composition de produits de beauté et notamment de parfums et de baumes, où elles servent de base et de fixateurs (Modugno *et al.*, 2006).

3.4.4 Enduits de céramiques

Les exsudats d'arbres de la famille des Dipterocarpaceae ont été largement employés pour enduire les surfaces internes et externes de céramiques diverses en Asie du Sud-Est (Lampert, 2003).

L'étude de ces substances dont la présence est avérée sur de nombreuses céramiques archéologiques retrouvées en Asie du Sud-Est (surtout en Malaisie et à Sumatra), apporte des

informations quant à la maîtrise et à l'exploitation des ressources organiques naturelles par les populations préhistoriques et quant aux technologies développées à cette période (Lampert *et al.*, 2002; Vincent, 1996).

Ces enduits ont eu diverses fonctions selon le type de céramique sur lesquelles ils ont été apposés. Un enduit de résine peut être appliqué sur des céramiques encore chaudes (après leur cuisson) ou froides ; dans ce dernier cas, la résine est préparée soit par chauffage soit par mélange à des solvants (alcool ou huile végétale). Cette application sur des céramiques permet :

- d'en modifier la perméabilité, procédé essentiel dans le cas de céramiques utilisées pour contenir des liquides (eau, vin, etc.). Ce type d'enduit est également efficace pour préserver des marchandises au sec tout en empêchant le développement de moisissures (Lampert, 2003)
- d'en améliorer l'efficacité de chauffage (Schiffèr, 1990)
- de leur procurer une bonne résistance à l'abrasion (Skibo, 1992)
- d'y fixer d'autres pièces telles que des couvercles et probablement d'en réparer les fissures (Gianno *et al.*, 1990a).

Ces enduits peuvent également avoir une fonction purement esthétique (Lampert *et al.*, 2002). Ils donnent de la brillance à une ornementation sous-jacente, tout en lui conférant une protection contre la saleté et l'abrasion (Gettings, 1971), mais peuvent également être appliqués sur des céramiques pour leurs propres qualités ornementales.

Le dépôt de résine à la surface de céramiques ou son absorption dans le matériau lui-même peut également ne pas être intentionnel et permet alors de déterminer l'usage fait de ces dernières.

Ceci a été le cas lors du transport et du stockage de dammars dans des céramiques en vue de leur commercialisation (la valeur marchande des dammars est reconnue depuis des siècles en Asie du Sud-Est, Ankarfjard and Kegl, 1998).

Un tel dépôt peut également avoir lieu lors de la préparation ou du stockage de parfums, de baumes, d'onguents ou de remèdes constitués entre autres matières organiques, de dammar.

3.4.5 Autres usages

Il existe de nombreux usages domestiques des exsudats de Dipterocarpaceae. Les propriétés hydrofuges de ces résines, parfois mélangées à du caoutchouc, étaient mises à profit pour imperméabiliser des vêtements et des accessoires (parapluies) qui étaient ainsi également protégés contre les attaques d'insectes (Appanah *et al.*, 1998).

Ces substances entraient dans la fabrication de mortier et de liant en maçonnerie : on en trouve des traces dans les ciments ayant servi à la construction de certains temples Cham au Vietnam (Lampert *et al.*, 2002). Elles servaient aussi à protéger les bois de construction contre les intempéries (Appanah *et al.*, 1998).

Dans de nombreux pays d'Asie du Sud-Est, ces résines entraient dans la fabrication de lampes à huile, de torches, de bougies et d'allume-feu (Appanah *et al.*, 1998).

Certains peuples tribaux d'Inde s'en servent en mélange avec de la cire d'abeilles et de l'ocre rouge pour fixer des pointes de flèches et de lances.

Certaines espèces servent à aromatiser le tabac à mâcher ou des chewing-gums (Appanah *et al.*, 1998).

La fraction volatile de *Dipterocarpus kerrii* était utilisée comme base de parfum à Singapour, car elle est très semblable à l'huile de patchouli et moins chère (Langenheim, 2003).

En raison de leurs propriétés antitoxiques et antioxydantes, elles ont été ajoutées à des vins (Modugno *et al.*, 2006).

Dans le domaine industriel, elles entrent dans la préparation de produits variés : linoléum, colles, encres d'imprimerie, vernis, cirages, papier carbone, rubans pour machine à écrire, savons, dentifrices, lessives, talc, etc.

On s'en sert également pour le montage d'objets sur des lames d'observation microscopique. Leur usage en tant qu'agents répulsifs est également documenté.

3.5 Valeur économique des dammars

La première mention taxonomique des Dipterocarpaceae date de 1750, époque à laquelle les forêts à Dipterocarps étaient considérées comme des sources inépuisables de produits naturels exploitables par l'homme.

Actuellement encore, les dammars représentent une source de revenus importante pour des ethnies minoritaires, notamment au Vietnam : 85% des familles Cau Ma' du village de Ta Lai déclarent en récolter (Blanc, 1998). Les dammars exportées proviennent majoritairement d'Indonésie. Les résines de très bonne qualité peuvent atteindre des prix faramineux ; il s'agit principalement des exsudats des espèces *Shorea javanica*, *S. lamellata*, *S. virescens*, *S. retinodes*, *Hopea dryobalanoides*, *H. celebica*, *H. beccariana* et *Vatica rassak* (Colombini *et al.*, 2003). Avec le déclin des forêts, les plantations de Dipterocarpaceae se sont développées un peu partout en Asie du Sud-Est : un hectare de Dipterocarpaceae matures et pleinement productifs peut fournir jusqu'à 4,8 tonnes de résine par an. L'Indonésie exporte annuellement de 2000 à 7000 tonnes de dammar, d'une valeur de 1,6 millions de dollars US, et ce essentiellement vers le Japon, Taiwan, Singapour, l'Allemagne et la Malaisie (Appanah *et al.*, 1998).

Les essences de Dipterocarpaceae, principalement des genres *Dipterocarpus*, *Hopea*, *Shorea* et *Vatica*, fournissent un bois splendide, léger, clair et résistant, qui domine le marché international du bois.

L'exploitation de cette famille joue donc un rôle majeur dans l'économie de ces pays. Certaines espèces sont d'ailleurs actuellement menacées d'extinction en raison de leur abattage massif, souvent illégal (Appanah *et al.*, 1998). La mise en place rapide de programmes de reboisement est nécessaire pour éviter la disparition des forêts renfermant ces espèces.

4 Echantillonnage

4.1 Dammars actuelles

Les prélèvements de dammar fraîches ont été réalisés sous le contrôle des Docteurs Bui Thi Mai et Michel Girard (Laboratoire de Palynologie, Valbonne, France) dans la réserve biologique vietnamienne de Lò Gò Xa Mát (région de Tây Ninh, à la frontière du Cambodge) en avril 2003 (Bui Thi Mai and Girard, 2008).

Seule une cinquantaine d'espèces de Dipterocarpaceae est présente au Vietnam, et parmi elles, seules quelques essences sont exploitées, les autres n'étant pas considérées comme des espèces rentables. Ainsi, les principales résines collectées au Vietnam appartiennent aux genres *Shorea* et *Dipterocarpus* : *Dipterocarpus alatus* Roxb., *D. costatus* Gaertn., *D. dyeri*

Pierre, *D. intricatus* Dyer, *D. insularis* Hance, *D. obtusifolius* Teysm, *D. tuberculatus* Roxb., *D. turbinatus* Gaertn., *Shorea guiso* Blume et *S. thorelli* Pierre (Aubaile-Sallenave, 1987; Bui Thi Mai and Girard, 2008).

Nous avons eu accès à des échantillons de dammars appartenant à ces deux genres qui ont été collectés soit après exsudation naturelle soit après gemmage (Tableau 2.5).

Lors de l'exsudation naturelle, la résine suinte à travers l'écorce de l'arbre concerné et va durcir plus ou moins rapidement au contact de l'air (Figure 2.12). Les concrétions de résine ainsi formées s'alourdissent peu à peu et finissent par casser. La collecte de ces résines se fait alors soit par raclage de l'écorce de l'arbre soit par ramassage au pied de l'arbre (Bui Thi Mai and Girard, 2008). Les résines collectées de cette manière renferment généralement beaucoup d'impuretés piégées au cours de leur durcissement (fibres végétales provenant de l'écorce, sable, etc.).

Numéro de l'échantillon	Date et lieu de la collecte	Description
1880	2003, exsudation naturelle	<i>Shorea guiso</i> Blume - résine friable de couleur jaune
1882	2003, exsudation naturelle	<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teysm - résine de couleur orange à brune avec incrustation de fibres végétales
1884	2003, exsudation naturelle	<i>Dipterocarpus cf. dyeri</i> - résine de couleur orange à brune avec quelques surfaces blanches
1885	2003, gemmage	<i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer - résine collante de couleur noire, très difficile à broyer
1886	2003, gemmage	<i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer - résine collante de couleur brune à noire
1888	2003, gemmage	<i>Dipterocarpus cf. dyeri</i> - résine visqueuse de couleur orange
1894	approximativement 20 ans, chantier naval de An Khánh	Vieux calfat de thuyền thúng - résine difficile à broyer de couleur noire avec incrustations de fibre végétales brunes

Tableau 2.5 Echantillons de dammars fraîches analysés dans le cadre de cette étude.

Les résines 1884 et 1888 ont été respectivement récoltées après exsudation naturelle et après gemmage d'arbres de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri*. L'emploi de l'abréviation *cf.* dans cette dénomination indique qu'il s'agit de résines exsudant des troncs d'arbres à taxonomie incertaine. Dans ce cas précis, il pourrait s'agir d'arbres des espèces *Dipterocarpus cornutus* Dyer, *Dipterocarpus crinitus* Dyer ou encore *Dipterocarpus dyeri* Pierre.



Figure 2.12 Exsudation naturelle d'un tronc de *Dipterocarpus obtusifolius* Teysm (photo : Michel Girard).



Figure 2.13 Entaille de gemmage et collecte de résine (photos : Michel Girard).

La technique de gemmage utilisée lors de la collecte de ces échantillons consiste en l'aménagement d'une entaille d'une vingtaine de centimètres de large sur une quinzaine de centimètres de haut et pouvant atteindre jusqu'à 20 centimètres de profondeur. Les premières entailles de gemmage sont réalisées à environ 1,50 m de la base de l'arbre (Figure 2.13). Cette perforation réalisée à l'aide d'un fer en acier recourbé, est taillée en biseau vers l'intérieur du tronc afin d'empêcher l'écoulement de la résine sur le tronc (Bui Thi Mai and Girard, 2008). De cette manière, on évite le piégeage d'impuretés dans la résine. Selon le diamètre du tronc, l'entaille peut atteindre des dimensions plus importantes : certaines entailles pouvaient atteindre jusqu'à 80 cm de large et 40 cm de haut (Aubaile-Sallenave, 1987).



Figure 2.14 Feu de ravivage et extinction (photos : Michel Girard).

Une fois la résine collectée (Figure 2.13), un feu de ravivage est utilisé afin d'éliminer la résine durcie restant dans l'entaille après la collecte, mais surtout pour en stimuler la production (Figure 2.14). Pour cela, de la bourre de noix de coco imprégnée de résine est enflammée avant d'être introduite dans l'entaille. Au terme de quelques minutes, toute la surface de celle-ci est carbonisée et le feu est étouffé à l'aide de grandes feuilles (Figure 2.14). Il faudra ensuite attendre quelques jours pour que l'entaille se remplisse à nouveau de résine qui sera à son tour collectée (Bui Thi Mai and Girard, 2008).

A Lò Gò Xa Mạt, cette technique de gemmage permet d'obtenir jusqu'à 30 litres de résine en trois jours et ce, par exploitation de près de 300 arbres (Bui Thi Mai and Girard, 2008).

4.2 Echantillons organiques archéologiques



Figure 2.15 Provenance des échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.

- Les échantillons 1873 et 1874 ont tous deux été retrouvés dans des jarres d'une épave du Brunei. Celle-ci a été découverte à plus de 40 kilomètres au large des côtes du Sultanat de Brunei, par les géologues d'Elf Petroleum Asia lors d'une prospection sismique au printemps 1997 (Figure 2.15). Les fouilles ont été entreprises de mai à juillet 1998, par 140 spécialistes sous la direction de Michel L'Hour (actuellement directeur du DRASSM - Département des Recherches Archéologiques Subaquatiques et Sous-Marines – et conservateur en chef du patrimoine) grâce à l'aide financière du gouvernement du Sultanat de Brunei et de la société TotalFinaElf. La jonque, qui gisait par 63 mètres de profondeur, aurait chaviré lors d'une tempête, à la fin du 15^{ème} ou au début du 16^{ème} siècle apr. J.-C. en raison d'une cargaison trop importante.

A l'époque du naufrage (ère Hongzhi, 1488-1506 apr. J.-C.), les marins asiatiques dominaient les mers : les jonques embarquaient en Chine, au Vietnam et en Thaïlande, des marchandises qu'elles échangeaient ensuite dans les ports de la mer de Chine et notamment du Sultanat de Brunei, avant de filer vers l'Inde et le Moyen Orient.

L'épave du Brunei constitue la plus importante découverte de la mer de Chine, tant par le nombre impressionnant de pièces qu'elle renfermait que par leur excellent état de conservation : ce sont près de 14 000 pièces qui ont été remontées à la surface et référencées, dont 90% correspondent à des porcelaines en provenance de Chine (porcelaines Ming bleu-et-blanc) et d'Asie du Sud-Est. Un grand nombre d'amphores encore pleines de substances organiques résineuses faisait également partie de la cargaison. En revanche, il ne reste aucune trace de la coque du navire (22 m sur 8 m) qui a probablement été totalement détruite par des vers xylophages (L'Hour, 2001).

- Les échantillons 2307 et 2308 proviennent de fouilles menées de février à avril 2005, sur le site terrestre de Khao Sam Kaeo, dans la province de Chumphon (côte est de la Thaïlande péninsulaire, Figure 2.15). Ces fouilles ont été entreprises dans le cadre du programme *Echanges, formation de l'Etat, urbanisation dans l'ancienne Asie du Sud-Est*, ayant pour but de reconstituer le rôle du Nord de la Péninsule Thaï-Malaisienne dans les échanges culturels et commerciaux entre différents groupes sociaux asiatiques depuis la fin de la préhistoire. Ces échanges reliaient étroitement les sociétés de l'Océan Indien à celles de la Chine du Sud et ont pris part à l'instauration des valeurs de ces sociétés. Les strates dans lesquelles ont été prélevés ces échantillons datent du 4^{ème} au 2^{ème} siècle av. J.-C (Bellina and Silapanth, 2006).

- Les échantillons 2036, 2037 et 2038 ont été découverts aux abords de l'épave M1J (Malacca survey 1, hit J), navire appartenant à la flotte de l'amiral portugais Coutinho, qui aurait sombré dans le détroit de Malacca (Figure 2.15), en 1583 apr. J.-C., suite à l'explosion de sa chambre à poudre, lors d'une bataille contre les Acheneses (peuple bouddhiste du nord de Sumatra).

Cette épave a été retrouvée en 2005, à près de 32 mètres de profondeur par M. Flecker, archéologue australien spécialiste des excavations sous-marines depuis plus de 20 ans. Les datations réalisées par étude de la facture de canons de pierre et de bronze, de pièces d'artillerie et de tessons de céramiques chinoises bleu-et-blanc, s'accordent toutes à situer la

construction du navire et son naufrage au 16^{ème} siècle, période de troubles dans cette colonie portugaise, où les autochtones se rebellent contre le contrôle par les portugais des échanges commerciaux entre la Chine, les îles Maluku (entre les Célèbes et la Nouvelle-Guinée) et l'Europe. Si l'identification de cette épave se confirme, il s'agirait du plus vieux navire européen jamais retrouvé en Malaisie, et bien qu'il s'agisse d'un navire européen, son contexte historique est largement asiatique (Flecker, 2007).

Au vu de l'aspect macroscopique de l'échantillon 2036 (*cf.* Partie expérimentale), nous avons réalisé deux prélèvements différents: l'un en surface (2036S), qui a été prélevé à l'aide d'un scalpel, et l'autre, au cœur du bloc (2036C), de couleur noire et qui présente quelques rainures brunes.

Numéro de l'échantillon	Date et lieu de la collecte	Description
1873	15 ^{ème} – 16 ^{ème} s. apr. J.-C., Mer de Chine	Contenu d'une jarre de stockage - résine facile à broyer de couleur grise à noire présentant quelques surfaces beiges
1874	15 ^{ème} – 16 ^{ème} s. apr. J.-C., Mer de Chine	Contenu d'une jarre de stockage - résine facile à broyer de couleur beige
2307	4 ^{ème} – 2 ^{ème} s. av. J.-C., Khao Sam Kaeo (Thaïlande)	Excavations terrestres – résine de couleur brune présentant quelques surfaces beiges
2308	4 ^{ème} – 2 ^{ème} s. av. J.-C., Khao Sam Kaeo (Thaïlande)	Excavations terrestres – résine facile à broyer de couleur orange à brune
2036	16 ^{ème} s. apr. J.-C., Déroit de Malacca	Résine de couleur beige à brune avec incrustation de coquillages microscopiques
2037	16 ^{ème} s. apr. J.-C., Déroit de Malacca	Matière organique friable de couleur beige à brune
2038	16 ^{ème} s. apr. J.-C., Déroit de Malacca	Matière organique friable de couleur noire
2039	9 ^{ème} s. apr. J.-C., Belitung (Indonésie)	Résine de couleur beige à grise

Tableau 2.6 *Echantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.*

- L'échantillon 2039 provient de l'épave dite de Belitung, retrouvée dans les eaux indonésiennes, au nord de l'île de Belitung, à près de 17 m de profondeur (Figure 2.15). Un récif situé à 150 m au Nord-Ouest de l'épave serait à l'origine du naufrage.

La cargaison de ce navire indique qu'il aurait fait halte en Chine. Les pièces de monnaie retrouvées à bord ont été produites entre 618 et 626 apr. J.-C., c'est-à-dire au tout début de la dynastie Tang (treizième dynastie chinoise ayant régné de 618 à 906 apr. J.-C.). En revanche, les céramiques présentes à bord sont datées de près de deux siècles plus tard (vers 838 apr. J.-C.). Des datations au ^{14}C du bois de la carène du navire et d'anis étoilé provenant de la cargaison du navire ont été réalisées afin de dater plus précisément le naufrage :

Bois de carène : 710 – 890 apr. J.-C.

Anis étoilé : 670 – 890 apr. J.-C.

En accord avec ces résultats, c'est finalement la date indiquée sur certains bols de la cargaison qui est retenue, c'est-à-dire 826 apr. J.-C.

En 2000, une première étude de l'épave indiquait que le navire, long de 15 m, présentait les caractéristiques d'un bateau arabe ou indonésien : méthode de construction sans cheville en bois et sans fixation en fer, forme de la coque, etc. (Flecker, 2000). La caractérisation des essences employées pour sa construction avait été réalisée par la division Forêt et Produits Forestiers du CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australie). Celle-ci indiquait sans certitude que la quasi-totalité des essences utilisées apparaissaient être d'origine indienne. Malgré ces résultats, l'hypothèse d'un navire de construction arabe ne pouvait être rejetée, étant donnée que l'exportation du bois vers les pays du Moyen-Orient est avérée à l'époque du naufrage (Flecker, 2000).

L'étude de ces essences a été reprise quelques années plus tard par le Professeur Nili Liphschitz de l'Institut d'Archéologie de l'Université de Tel Aviv, spécialiste de la caractérisation des bois en contexte archéologique submergé, qui les identifie avec certitude (Flecker, 2008). Hormis une essence native d'Inde, de Birmanie, du Laos et du Vietnam (*Tectona grandis*), tous les bois de construction de l'épave proviennent du Moyen-Orient (*Afzelia africana*, *Afzelia bipindensis* et *Juniperus procera*). Le navire serait donc issu d'un chantier naval du Moyen-Orient, probablement du Sultanat d'Oman.

La découverte de ce navire dans les eaux indonésiennes et sa cargaison d'origine chinoise attestent de l'existence d'un commerce entre l'Océan Indien et la Chine, durant la fin de l'avant-dernier millénaire.

La présence de bois d'origine indienne et d'étoupe provenant des espèces sud-asiatiques *Melaleuca cajuputi* et *Hibiscus tiliaceus* (hibiscus à fleurs jaunes dont les fibres végétales très fines et souples ont été largement employées au Vietnam pour le calfatage de constructions soignées; Aubaile-Sallenave, 1987), indiquerait qu'après son long périple du Moyen-Orient vers la Chine, le navire aurait subi des réparations avant son naufrage, probablement en Indonésie, au moyen de matériaux locaux (Flecker, 2008).

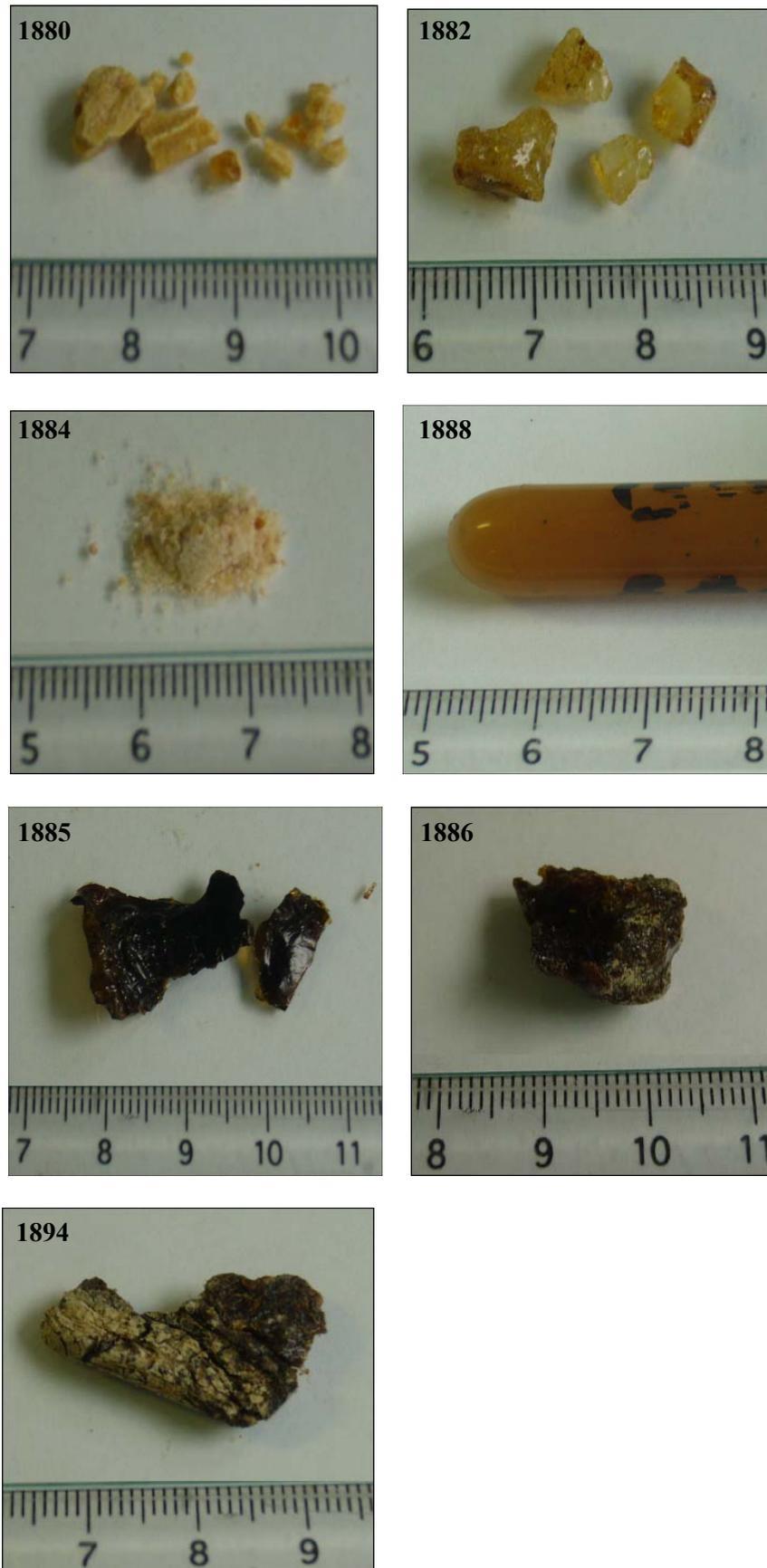


Figure 2.16 Echantillons de dammars fraîches.



Figure 2.17 *Echantillons organiques archéologiques.*

Chapitre 3

Caractérisation de la nature et de l'origine des échantillons

1 Procédures d'étude des résines végétales

L'étude de matériaux d'origine végétale retrouvés en contexte archéologique peut être menée selon des angles très différents (analytique, historique), faisant appel à de nombreuses disciplines qui fournissent des informations complémentaires : chimie, géochimie, biochimie, anthropologie, ethnographie, archéologie, etc.

La caractérisation des usages traditionnels des résines peut faciliter la compréhension de l'interaction entre les hommes, leur environnement et les ressources naturelles à leur disposition.

1.1 Palynologie

1.1.1 Les grains de pollens, généralités

Les vestiges végétaux microscopiques (pollens, phytolithes, etc.) et macroscopiques (bois, charbons, graines, feuilles, etc.) préservés en contexte archéologique constituent des indicateurs paléoenvironnementaux fiables. Leur étude permet de reconstituer le profil de la végétation d'un site à une époque donnée et fournit des informations quant aux espèces exploitées par l'homme.

Les sites archéologiques submergés renferment fréquemment une profusion de vestiges organiques, souvent absents des sites terrestres où ils ont été soumis à des réactions d'oxydation ou détruits par des processus microbiens. De là découle l'essor durant les quatre dernières décennies, de l'archéologie sous-marine et notamment de nouvelles stratégies d'échantillonnage (Dillon Gorham and Bryant, 2001).

La palynologie correspond à l'étude des grains de pollens (actuels ou fossiles) produits en très grande quantité par les végétaux supérieurs. La pollinisation, mode de reproduction privilégié des Angiospermes et des Gymnospermes, consiste dans le transport des grains de pollen de l'étamine (organe mâle) jusqu'aux organes femelles de la même espèce, rendant ainsi la fécondation possible.

L'importance de la dissémination des grains de pollen dépend des espèces et notamment de leur mode de pollinisation. Ces éléments microscopiques (2 à 200 micromètres) sont principalement dispersés par le vent (mode de pollinisation appelé anémogamie ou pollinisation aérienne), par les insectes (entomogamie), ainsi que par l'eau (hydrogamie).

L'exine, c'est-à-dire l'enveloppe qui protège les grains de pollen, présente des caractères morphologiques (taille, épaisseur, ornementation, ouverture) qui permettent de déterminer l'espèce végétale productrice. Ainsi, la palynologie constitue un outil essentiel pour les études de systématique végétale.

L'exine se conservant bien au cours du temps, la palynologie est fréquemment employée de manière conjointe à l'archéologie, car elle fournit un grand nombre d'informations permettant la reconstitution des milieux dans lesquels évoluaient les hommes par le passé.

Une parfaite connaissance de la pluie pollinique actuelle facilite la compréhension du spectre pollinique d'un échantillon.

Il faut par ailleurs rester prudent lors de l'interprétation de ce spectre car de nombreux paramètres peuvent grandement en influencer la composition et mener à de mauvaises interprétations des analyses :

- la production pollinique, très variable d'une espèce à l'autre : une étamine de maïs produit 3000 grains/jour (les céréales sont comptées parmi les plus faibles producteurs de pollens) alors qu'une inflorescence d'oseille peut fournir jusqu'à 400 000 000 grains/jour.
- les modes des dispersions : l'anémogamie est un mode de pollinisation très aléatoire, ce qui implique que les espèces concernées doivent produire un plus grand nombre de grains de pollen.
- les distances très variables parcourues par les grains de pollen, allant de quelques centimètres à quelques centaines de kilomètres (cas des pollens du pin, par exemple).
- la conservation différentielle des pollens : certains types de pollens se conservent bien mieux que d'autres et se retrouvent alors sur-représentés par rapport aux moins résistants.

Dans une analyse paléoclimatologique ou archéopalynologique courante menée sur des sédiments, un comptage est considéré comme étant significatif au-delà de 300 grains comptabilisés et répartis en une vingtaine de taxons différents. Un échantillon qui ne présente pas ces qualités n'est donc pas représentatif. Il est qualifié de stérile lorsque aucun grain ou seulement quelques uns sont observés dans 10 ou 20 g de sédiment.

Pour des études réalisées sur des substances telles que les résines, dans le but d'évaluer la représentativité de taxons précis, il faut que le nombre de grain de pollens identifiés soit suffisamment élevé pour en tirer quelques informations. En dessous de 25 grains, les pourcentages deviennent illusoires et on ne donne alors comme résultat que le nombre de grains présents dans le spectre en question. De telles analyses, faute d'être quantitativement significatives, livrent des indications qualitatives qui permettent d'orienter des études chimiques ultérieures plus précises réalisées sur ces échantillons.

1.1.2 Archéopalynologie

Comme nous l'avons indiqué précédemment, du fait de leur dispersion massive, il est très fréquent de trouver des pollens piégés dans des objets provenant de structures archéologiques (contenu organique de jarres, adhésifs d'emmanchement, enduits de calfatage, etc., Bui Thi Mai and Girard, 2002).

Leur comptage et leur caractérisation (forme, granulation de surface, etc.) apportent des informations quant aux espèces cultivées et utilisées au quotidien. Ceci permet de reconstituer les pratiques agricoles, alimentaires et médicinales d'une région spécifique à une époque donnée. Elle renseigne également les archéologues sur les activités humaines en un site précis (déforestation, battage des céréales, etc.) ou sur les niveaux d'occupation et d'abandon de celui-ci (<http://www.cepam.cnrs.fr/>). Enfin, l'étude des pollens retrouvés en contexte funéraire fournit des éléments permettant de recomposer les pratiques funéraires et d'établir la nature des parures mortuaires ou des offrandes végétales, ou encore de déterminer la saison d'inhumation.

Par ailleurs, la palynologie fournit de bons éléments de datation du fait des apparitions et disparitions de certaines espèces dans une région précise du globe : on peut par exemple citer la disparition d'un certain nombre de pollens exotiques au cours du Quaternaire en Europe.

Dans le cas particulier de matières adhésives telles que les résines et autres exsudats végétaux, la palynologie permet parfois d'identifier l'espèce ayant produit la substance en question. Ces grains de pollen constituent des empreintes botaniques permettant également dans certains cas, l'identification de la cargaison, de la nourriture de bord et de la végétation des rivages (Dillon Gorham and Bryant, 2001; Haldane, 1991). La localisation du port d'origine et la datation du naufrage sont également possibles (Diot, 1991).

La difficulté réside dans le fait qu'en plus de ces grains de pollen "légitimes", on trouve fréquemment un très large spectre de pollens provenant de nombreuses autres espèces, venu s'y surimposer au cours des mois. Ces pollens dits "contaminants" correspondent à la pluie pollinique ambiante qui s'incorpore souvent à la substance végétale au moment de l'exsudation ou, plus rarement après, à la condition que cette dernière demeure suffisamment visqueuse.

Il arrive parfois que des échantillons de telles substances soient stériles d'un point de vue pollinique.

Michel Girard (CEPAM - Centre d'Etudes Préhistoire, Antiquité, Moyen-Âge -, Valbonne) est un des premiers à avoir collecté des carottes de sédiments marins aux abords d'une épave et par comparaison de leur profil pollinique avec des profils polliniques fossiles continentaux, à avoir proposé des limites inférieure et supérieure de datation du site par datation de sédiments prélevés sous et sur l'épave (Girard, 1978). Cette analyse a également fourni des informations sur l'évolution de la végétation des terres émergées avoisinantes.

1.1.3 Analyses polliniques des échantillons actuels étudiés

Des analyses polliniques ont été réalisées par Bui Thi Mai et Michel Girard (Laboratoire de Palynologie du CEPAM, Valbonne), sur les résines fraîches étudiées dans le cadre de ce travail ainsi que sur d'autres résines appartenant aux genres *Dipterocarpus* et *Shorea* collectées à la même époque. Ce laboratoire dispose d'une collection riche de près de 1 000 espèces de grains de pollen de référence provenant d'Asie du Sud-Est. Des échantillons de résine de quelques millimètres cubes fournissent suffisamment de pollens caractéristiques pour orienter les recherches sur l'origine des substances correspondantes (Bui Thi Mai and Girard, 2008). Les résultats de ces analyses sont présentés dans le Tableau 3.1.

De ces analyses sont extraites plusieurs informations essentielles pour la suite de notre étude. Il apparaît tout d'abord que la présence et la fréquence des grains de pollen varient fortement d'un échantillon de résine à l'autre provenant d'un même taxon, sans que cela puisse être systématiquement expliqué. Il apparaît par ailleurs que ces substances adhésives recueillent essentiellement la pluie pollinique ambiante.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>Dipterocarpus</i>	- (-)	1 (3)	1 (25)	12 (22,6)	1 (0,5)	2 (22)	- (-)	- (-)	- (-)	38 (6,1)
<i>Shorea</i>	- (-)	1 (3)	- (-)	2 (3,8)	13 (6,8)	- (-)	- (-)	5 (0,3)	44 (7)	18 (2,9)
Total pollinique	34	34	4	53	191	9	15	1651	623	625

* La première valeur correspond au nombre de grains de pollen ; la seconde correspond au pourcentage que ce nombre représente par rapport au total pollinique de l'échantillon (les valeurs de pourcentage en italiques sont données à titre indicatif car l'effectif pollinique est trop faible pour établir un pourcentage).

- A** : *D. obtusifolius* (1882) ; exsudation naturelle [floraison : février-mars ; collecte : avril]
B : *D. dyeri* (1884) ; exsudation naturelle [floraison : décembre-février ; collecte : avril]
C : *D. dyeri* ; exsudation naturelle
D : *D. dyeri* ; résine liquide prélevée dans un trou de gemmage en exploitation
E : *D. intricatus* (1885) ; résine sèche prélevée dans un trou de gemmage abandonné [floraison : janvier-avril ; collecte : avril]
F : *D. intricatus* (1886) ; résine liquide prélevée dans un trou de gemmage actif
G : *D. costatus* ; résine collectée par le gemmeur
H : *S. guiso* (1880) ; exsudation spontanée [floraison : mars-avril ; collecte : avril]
I : *S. guiso* ; exsudation spontanée
J : vieux calfat (environ 20 ans) du chantier naval de An Khanh (1894)

Tableau 3.1 Données polliniques des résines actuelles étudiées au laboratoire (d'après Bui Thi Mai and Girard, 2008).

La résine de *D. dyeri* **B**, exsudée de manière spontanée renferme 3% de pollens de ce taxon alors que celle appartenant au même taxon, provenant d'un trou de gemmage **D** présente une fréquence pollinique de *Dipterocarpus* tout à fait pertinente de 22,5%. La faible représentation des pollens de *Dipterocarpus* dans l'échantillon **B** est probablement liée au fait que la période de floraison était terminée au moment de l'échantillonnage, d'où une dispersion moindre des grains. La valeur obtenue pour l'échantillon **D** s'oppose à celle obtenue pour la résine de l'espèce *D. intricatus* **E**, collectée dans un trou de gemmage abandonné, soit 0,5%, que l'on explique par la surimposition au cours des mois, de la pluie pollinique ambiante à celle de l'arbre producteur (Bui Thi Mai and Girard, 2008).

D'une manière générale, très peu de grains de pollen de *Dipterocarpus* sont retrouvés dans ces échantillons. Cela pourrait être dû au fait que les fleurs en tube des arbres du genre *Dipterocarpus* sont pollinisées par les insectes (Figure 3.1), expliquant ainsi la faible diffusion de leurs grains de pollen dans l'atmosphère.

De cette manière, une fréquence importante de pollens du genre *Dipterocarpus* indique très probablement un piégeage de ces grains dans la résine de l'arbre produisant ces pollens, comme c'est le cas pour l'échantillon D.



Figure 3.1 Fleur de *Dipterocarpus alatus* (photo : <http://forum.ctu.edu.vn>).



Figure 3.2 Pollens de *Dipterocarpus obtusifolius* Teysm (A) et de *Shorea guiso* Blume (B) (photos : Michel Girard).

Dans le cas de l'échantillon de résine du genre *Shorea* **H**, le taux de pollen du genre *Shorea* a été massivement occulté par la surreprésentation de pollens de sensitive (*Mimosa pudica* = 90,8%). En revanche, la fréquence des grains de pollens du genre *Shorea* de l'échantillon **I** (7%) est pertinente.

Les teneurs en pollens de *Dipterocarpus* (6,1%) et *Shorea* (2,9%) de l'échantillon **J** indiquent que ce calfat correspond à de la résine végétale de Dipterocarpaceae (donnée confirmée par les résultats de nos analyses présentés par la suite dans ce chapitre). Il peut s'agir ici de résine de l'un de ces deux genres ou d'un mélange de résines de ces deux genres.

Il apparaît donc dans le cas de notre étude, que les résultats des analyses palynologiques sont très aléatoires et à utiliser avec précaution. D'une manière générale, trop peu de grains de pollen y sont comptabilisés pour que cette étude soit pertinente. Par ailleurs, nombre de grains de pollen provenant d'espèces environnantes "contaminantes" sont également comptabilisés, empêchant ainsi la caractérisation taxonomique de nos échantillons. Toutefois, ces analyses fournissent des pistes orientant les analyses chimiques ultérieures de ces résines : la présence non négligeable de pollens de Dipterocarpaceae (Figure 3.2) suggère tout de même l'appartenance de ces résines à cette famille, sans indication formelle d'appartenance à un genre en particulier.

1.2 Analyses chimiques et géochimiques

Au cours de ces dernières années, le développement des techniques analytiques a permis d'élucider la chimie des résines végétales archéologiques et d'établir dans certains cas, leur origine taxonomique.

Une large variété de techniques a été employée à cet effet : IFTR (Hovaneissian *et al.*, 2006), pyrolyse-CG-SM (Chiavari *et al.*, 1995; Chiavari and Prati, 2003), CLHP (Hovaneissian *et al.*, 2006; van der Doelen *et al.*, 1998a), diffraction des rayons X (Frondele, 1967), RMN (Lambert *et al.*, 1989) et spectroscopie Raman (Brody *et al.*, 2001).

D'une manière générale, ces analyses ont été employées pour caractériser des résines retrouvées dans des structures archéologiques d'un point de vue taxonomique et également pour établir les processus d'altération qui se sont produits lors de leur enfouissement. De l'amélioration constante de ces techniques découle une diminution de la quantité

d'échantillon requise, ce qui est essentiel pour l'étude de matériaux archéologiques, généralement précieux et ne demeurant qu'à l'état de traces.

1.2.1 Analyses globales

Deux des grandes études chimiques et géochimiques des dammars ayant été menées ces dernières années, ont été conduites sur des échantillons dans leur globalité, c'est-à-dire sans fractionnement chromatographique préalable des extraits organiques préparés.

Van der Doelen a étudié des dammars et mastics frais, ainsi que des vernis picturaux préparés à partir de ces résines, prélevés sur près de 70 œuvres provenant de collections privées et muséales des Pays-Bas et du Royaume-Uni, par CG-SM et par CLHP-SM (van der Doelen, 1999).

Lampert s'est, quant à elle, focalisée sur des dammars retrouvées sur des céramiques archéologiques du Sud-Est asiatique par CG-SM (*cf.* Chapitre 2, Lampert, 2003).

Dans les deux cas, une extraction du matériel organique est réalisée à l'aide de solvants. Van der Doelen a procédé à la préparation d'extraits méthanoliques des vernis. Or, Van Aarssen précise que les dammars fraîches ne sont que partiellement solubles dans le méthanol, alors qu'elles le sont totalement dans le dichlorométhane (Van Aarssen *et al.*, 1990). Après avoir considéré et testé des mélanges de ces deux solvants en différentes proportions, Lampert a établi que le mélange DCM/MeOH 2/1 était le plus approprié pour extraire les résines des céramiques archéologiques. Dans certains cas, en revanche, cette extraction n'était pas concluante, en particulier lorsque la polymérisation rend la fraction organique très peu soluble, voire insoluble. La saponification (ou hydrolyse alcaline) a alors été employée avec succès par Lampert pour décomposer les molécules récalcitrantes à l'extraction.

Les extraits organiques ainsi obtenus sont analysés par CG et CG-SM. La chromatographie en phase gazeuse est une technique séparative suffisamment sensible pour permettre l'analyse de petits échantillons, donc idéale pour des échantillons archéologiques (quelques centaines de microgrammes à quelques milligrammes).

Néanmoins, des difficultés apparaissent lors de telles analyses.

La première, concernant la volatilité des composés polaires est résolue par des réactions de dérivation appliquées aux fractions préalablement à l'analyse CG-SM. Ces procédures de dérivation facilitent la séparation des molécules car les composés polaires dérivés ne seront plus retenus sur les colonnes chromatographiques peu polaires employées en routine pour de telles analyses.

A cet effet, la technique de méthylation décrite par Hashimoto a été employée par van der Doelen : 250 μL de méthanol, 25 μL de benzène et 10 μL de triméthylsilyldiazométhane sont ajoutés à l'échantillon sec durant 30 minutes à température ambiante (Hashimoto *et al.*, 1981). Lampert emploie une solution étherée de diazométhane qui réagit avec les groupements acides carboxyliques pour former des esters méthyliques (*cf.* Partie expérimentale). Les échantillons ainsi dérivés sont évaporés à sec afin d'éliminer le milieu réactionnel et sont resolubilisés afin de pouvoir poursuivre les analyses.

Dans ces deux études, les alcools sont étudiés tels quels, sans dérivation préalable.

La seconde difficulté réside dans la nature même des résines, chimiquement très complexes : Witte a décrit l'analyse de terpénoïdes comme problématique (Witte, 1986). Il indique que leur séparation chromatographique complète est quasiment impossible, et que même en utilisant des colonnes capillaires suffisamment longues, certains de ces composés ne seraient pas ou que partiellement résolus. En effet, les résines sont constituées de composés pour certains très similaires d'un point de vue structural, dont quelques uns présentent des temps de rétention identiques. Cette complexité augmente encore avec l'altération de ces substances. L'identification des composés sur la base de leur temps de rétention ou de leur ordre d'élution n'est par conséquent pas toujours fiable. Le couplage de la spectrométrie de masse à la chromatographie en phase gazeuse rend possible l'assignation de structures moléculaires aux pics du chromatogramme grâce à l'interprétation spectrale et à l'utilisation de bases de données électroniques, de données publiées et de composés de référence.

L'intérêt de ce type d'analyse globale réside dans la mise en œuvre rapide du protocole qui permet ainsi une obtention quasi-immédiate de résultats.

Cependant, cette technique présente un inconvénient majeur : les chromatogrammes obtenus sont extrêmement complexes car ils renferment des composés appartenant à toute la gamme de polarité et peuvent par conséquent, se révéler difficiles à interpréter. Si les produits

majoritaires sont très bien détectés, des composés présents en très faible quantité peuvent en revanche passer inaperçus, ce qui est très gênant lorsque ces composés ont valeur de marqueurs moléculaires et sont indispensables à la caractérisation du ou des matériau(x) présent(s).

1.2.2 Analyses séparatives

Afin de simplifier le plus possible les cortèges moléculaires et de s'affranchir au maximum des problèmes de masquage des composés faiblement représentés par les composés majoritaires, nous avons opté au laboratoire pour une méthode dont la mise en œuvre est un peu plus longue que celles présentées dans le paragraphe précédent, mais qui permet d'en étoffer les résultats.

Cette méthode est directement adaptée de celle classiquement employée en géochimie des pétroles et qui a déjà été utilisée pour l'étude de matériaux organiques archéologiques plus ou moins dégradés (Charrié-Duhaut *et al.*, 2007; Connan and Deschesne, 1996; Connan, 1999; Connan *et al.*, 2006).

Pour cela, après observation de l'échantillon à l'œil nu et dans certains cas, à la loupe binoculaire, un prélèvement de 80 à 110 mg est finement broyé. Environ 30 mg de l'échantillon réduit en poudre sont conditionnés en pilulier et réservés pour des analyses isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$).

Le reste de l'échantillon broyé sert à la préparation de l'extrait organique qui sera ensuite séparé par chromatographie sur colonne de silice et sur couche mince en fractions de polarité croissante. On obtient ainsi une fraction dite des hydrocarbures (fraction F1), composée des hydrocarbures saturés, insaturés et aromatiques, et plusieurs fractions plus polaires contenant respectivement des cétones, des alcools, des acides et des composés polyfonctionnalisés (*cf.* Partie expérimentale).

Note : Dans les premiers temps de cette étude, nous procédions à la séparation de la fraction F1 par chromatographie en couche mince : on obtenait ainsi les hydrocarbures saturés d'une part, et les hydrocarbures aromatiques d'autre part.

Cependant, de cette manière, du fait de leur polarité intermédiaire, les hydrocarbures insaturés étaient alors retrouvés, pour les moins polaires d'entre eux dans la fraction des

hydrocarbures saturés, tandis que les plus polaires d'entre eux étaient retrouvés dans la fraction des hydrocarbures aromatiques. L'exploitation des résultats de chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en était par conséquent grandement compliquée. Après nous être assuré qu'aucune information n'était perdue de cette manière, nous avons décidé pour la suite de notre étude, d'analyser la fraction F1 dans sa globalité et de ne procéder à son fractionnement que lorsque que cela était jugé nécessaire.

Comme cela a été expliqué dans le paragraphe précédent, certaines fractions doivent être dérivées afin d'améliorer leur comportement chromatographique.

Dans ce but, les fractions des alcools sont acétylées, celles des acides sont méthylées, tandis que les fractions des composés polyfonctionnalisés sont successivement acétylées et méthylées (*cf.* Partie expérimentale).

La fraction des hydrocarbures (fraction F1) du premier échantillon archéologique étudié dans le cadre de ce travail (1873) renfermait du soufre élémentaire S₈ qui endommage les colonnes capillaires employées en chromatographie gazeuse. Pour éviter cela, nous avons donc réalisé de manière systématique une analyse par introduction directe en spectrométrie de masse des fractions F1 des échantillons archéologiques, afin de déterminer la présence ou non de soufre élémentaire. Lorsque la présence de ce composé était avérée, nous procédions à son élimination à l'aide de cuivre métallique activé par de l'acide chlorhydrique avant de poursuivre l'analyse de ces fractions (*cf.* Partie expérimentale).

Les différentes fractions sont ensuite analysées par CG et CG-SM. Le fractionnement préalable de l'échantillon permet la simplification du mélange moléculaire, ainsi que la concentration de certaines fractions minoritaires. La détection de marqueurs moléculaires présents à l'état de traces, mais pouvant être essentiels à la caractérisation des matériaux en présence, est donc possible grâce à cette méthode. Les composés sont identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux disponibles dans la littérature et les banques de données spectrales, par étude de leur fragmentation et leur temps de rétention, et quand cela est possible, par co-injection en chromatographie gazeuse de la fraction avec le composé pur de référence sur deux colonnes chromatographiques de phases différentes (*cf.* Partie expérimentale).

2 Analyses isotopiques du carbone

2.1 Isotopie d'éléments stables

Un élément chimique est caractérisé par son numéro atomique Z , valeur correspondant au nombre de protons contenu dans le noyau, et par conséquent au nombre d'électrons de celui-ci. A un même élément correspondent généralement différents nucléides caractérisés par des nombres de neutrons différents. Les nucléides de même numéro atomique sont appelés isotopes de l'élément et possèdent des masses différentes.

Certains isotopes sont instables (isotopes radioactifs) et se désintègrent au cours du temps, mais la majorité sont pourvus d'un noyau de composition stable, qui ne subit aucune modification au cours du temps. Ces isotopes stables ne permettent donc pas la datation d'événements comme les isotopes radioactifs mais permettent en revanche de caractériser des sources de matière possédant des signatures isotopiques bien spécifiques (Méhay, 2006).

Il existe deux isotopes stables du carbone ^{12}C et ^{13}C , ainsi qu'un isotope instable ^{14}C , qui est employé pour les datations en archéologie. Les abondances moyennes des trois isotopes du carbone sont données dans le Tableau 3.2.

^{12}C	98,89 %
^{13}C	1,11 %
^{14}C	Traces ($< 10^{-10}$ %)

Tableau 3.2 *Abondances terrestres standardisées des isotopes du carbone (Peters et al., 2005).*

Les différences de masse de ces isotopes sont à l'origine des différences de réactivité et de propriétés physico-chimiques de ces derniers : volume molaire, température de fusion, viscosité, vitesse de réaction, constante d'équilibre, etc. Ces variations entraînent des différences de comportement et de répartition des isotopes au cours des processus physico-chimiques et biologiques.

2.2 Expression de la composition isotopique du carbone

La déviation isotopique δ exprime l'écart (en ‰) entre les rapports isotopiques de l'échantillon ($R_{\text{éch}}$) et d'un standard international ($R_{\text{réf}}$), ce qui facilite la comparaison entre différents échantillons :

$$\delta = [(R_{\text{éch}} - R_{\text{réf}}) / R_{\text{réf}}] \times 1000$$

avec $R = {}^{13}\text{C} / {}^{12}\text{C}$, qui caractérise l'abondance isotopique de l'isotope lourd par rapport à l'isotope léger.

Pour le carbone, le standard longtemps utilisé était la Bélemnite de Pee Dee, ou PDB. Il s'agit d'un carbonate de calcium provenant d'un rostre fossile de bélemnite (*Belemnitella americana*, mollusque apparenté à la seiche et au calmar) datant du Crétacé (-145,5 à -65,5 Ma), extrait de la formation géologique de Pee Dee en Caroline du Sud. Ce standard étant depuis longtemps épuisé, d'autres matériaux certifiés sont utilisés mais les valeurs sont toujours exprimées par rapport au PDB. On parle alors de V-PDB, pour Vienna-PDB (+ 1,95 ‰ par rapport au PDB), en reconnaissance du rôle joué par l'agence internationale à l'énergie atomique (IAEA, International Atomic Energy Agency), localisée à Vienne. Le PDB étant très riche en isotope lourd ${}^{13}\text{C}$, la plupart des substances organiques présentent des déviations isotopiques négatives (Peters *et al.*, 2005).

2.3 Isotopie des résines végétales

2.3.1 Données bibliographiques

Le carbone présent dans les tissus végétaux dérive directement du CO_2 atmosphérique ; le fractionnement des isotopes du carbone se fait au cours des processus photosynthétiques (Murray *et al.*, 1998; Stern *et al.*, 2008).

Les ratios isotopiques $\delta^{13}\text{C}$ des plantes terrestres sont considérés par convention comme moins sensibles aux variations en CO_2 atmosphérique à court terme que le carbone organique marin (Farquhar *et al.*, 1982; Popp *et al.*, 1989). Néanmoins, de nombreux facteurs affectent les valeurs $\delta^{13}\text{C}$ des végétaux terrestres :

- la source de carbone de la plante
- la voie d'assimilation du carbone - plantes dites en C3 ou en C4, ainsi nommées car la première étape de la photosynthèse mène à la formation d'un composé à 3 et 4 atomes de carbone, respectivement – (Farquhar *et al.*, 1989).
- la vitesse de croissance chez les plantes en C3 (Jansen, 1962; Sheu *et al.*, 1996).
- la latitude, la saison et la photopériode (Farquhar *et al.*, 1989; Lockheart *et al.*, 1997; Stuiver and Brazunias, 1987; Vogel, 1993).
- la salinité et la disponibilité en eau (Farquhar *et al.*, 1989; Guy *et al.*, 1986; Longstreth and Noble, 1977; Seeman and Critchely, 1985).
- la morphologie de la feuille et l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Farquhar *et al.*, 1989).
- la variabilité isotopique parmi les différents composants biochimiques (cellulose, lignine, lipides) : généralement la cellulose est enrichie en ^{13}C par rapport à la lignine (Benner *et al.*, 1987) qui est elle-même enrichie en ^{13}C par rapport aux lipides (Schoell, 1984a; Schoell, 1984b).

Lors de leur étude d'ambres (résines fossiles de Conifères), Nissenbaum et ses collaborateurs démontrent que les résines végétales sont capables de conserver leur signature isotopique originelle, reflétant leur provenance (Nissenbaum and Yakir, 1995; Nissenbaum *et al.*, 2005). Ils suggèrent alors que cette composition isotopique permettrait de retracer d'anciennes voies commerciales grâce à la caractérisation de la provenance d'ambres retrouvées en contexte archéologique. Stern détermine ainsi la provenance de résines de pin et de poix retrouvées en contexte archéologique (Stern *et al.*, 2008). Au cours de cette étude, il indique également que les processus de préparation de poix à partir de résine de pin n'ont pas d'effet sur la signature isotopique de ces substances.

En 1998, Murray a entrepris une vaste étude de l'isotopie globale des résines et résinites (résines fossiles) d'Angiospermes et de Gymnospermes (Murray *et al.*, 1998). Murray y regroupe ces substances en deux classes : la classe I renferme les résines et résinites de Conifères variés, et notamment de la famille des Araucariaceae (Gymnospermes), tandis que la classe II renferme celles provenant d'Angiospermes, principalement de la famille des Dipterocarpaceae. Il apparaît dans cette étude que les signatures isotopiques de ces substances reflètent leur origine (Gymnospermes et Angiospermes) : les résines de classe I (Conifères)

sont enrichies en ^{13}C par rapport aux résines de classe II (Angiospermes) de 5,2‰ en moyenne. Pour les résinites, cette différence est de 3,6‰ en moyenne. Ces différences sont dues principalement au fait que les Conifères conservent mieux l'eau et par conséquent, qu'ils assimilent moins bien le CO_2 que les Angiospermes.

Les résinites sont enrichies par rapport aux résines de 3‰ (classe I) et 4,6‰ (classe II), respectivement.

En raison de l'utilisation massive des fuels fossiles à l'ère post-industrielle, la valeur $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 atmosphérique est plus basse de 1,6‰ par rapport à cette même valeur à l'ère pré-industrielle (Lloyd and Farquhar, 1994). Ainsi, pour que la comparaison des valeurs $\delta^{13}\text{C}$ de résines et résinites soit exacte, il faut soustraire 1,6‰ aux différences observées entre ces résines actuelles et fossiles.

2.3.2 Données expérimentales

Dans le Tableau 3.3 sont présentées les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (isotopie globale) obtenues pour les dammars fraîches et pour les échantillons organiques étudiés dans le cadre de ce travail.

Les mesures isotopiques des échantillons 2037 et 2038 n'ont pas été effectuées car, comme nous l'indiquons dans le paragraphe 4 de ce chapitre, il s'agit d'échantillons composites et la présence de matériaux organiques d'origines diverses empêche l'interprétation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$.

Les valeurs isotopiques des résines étudiées au laboratoire s'accordent bien aux valeurs déterminées par Murray pour des résines d'Angiospermes ; de même, les valeurs obtenues pour les résines archéologiques s'accordent bien avec les valeurs obtenues pour des résinites d'Angiospermes (Murray *et al.*, 1998). Il apparaît d'une manière générale que les dammars archéologiques sont enrichies en ^{13}C (-29,5 à -28‰) comparativement aux dammars fraîches (-31,3 à -28,2‰) étudiées dans le cadre de ce travail.

Il est cependant important de noter la disparité des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ obtenues pour les dammars fraîches. Dans un premier temps, nous avons suggéré que ces différences pouvaient refléter des différences génériques, voire même spécifiques au sein de la famille des Dipterocarpaceae, mais après étude d'un plus grand nombre d'échantillons, nous avons conclu qu'il n'en était rien.

En effet, il apparaît que les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de deux résines de même espèce, collectées au même endroit et à la même période, peuvent présenter des différences plus importantes que celles de deux résines d'espèces ou de genres différents. Ainsi, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des deux résines de l'espèce *D. intricatus* Dyer (1885 et 1886) présentent une différence de 0,5‰ et celles de l'espèce *D. cf. dyeri* (1884 et 1888) présentent une différence de 0,6‰, alors que celles des résines *S. guiso* Blume (1880) et *D. intricatus* Dyer (1886) ne présentent qu'une différence de 0,2‰ (précision des mesures : 0,30‰ sur le delta).

Résines	Valeurs isotopiques
Angiospermes actuels [*]	-35,7 à -26,5‰
Angiospermes fossiles [*]	-30,2 à -24‰
Espèces variées de <i>Shorea</i> actuelles [*]	-32,7 à -26,6‰
Espèces variées de <i>Vatica</i> actuelles [*]	-35,5 à -32,3‰
<i>Cotylelobium</i> sp. [*]	-32,3‰
<i>Dryobalanops lanceolata</i> [*]	-28,6‰
1880 - <i>Shorea guiso</i> Blume	-28,6‰
1882 - <i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teysm	-31,3‰
1884 - <i>Dipterocarpus cf. dyeri</i>	-29,1‰
1888 - <i>Dipterocarpus cf. dyeri</i>	-29,7‰
1885 - <i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer	-29,3‰
1886 - <i>Dipterocarpus intricatus</i> Dyer	-28,8‰
1894 - Calfatage de Thuyên thúng	-28,2‰
1873 - Résine du Brunei	-29,1‰
1874 - Résine du Brunei	-28‰
2307 - Résine de Khao Sam Kaeo	-29,5‰
2308 - Résine de Khao Sam Kaeo	-28‰
2036 - Résine de l'épave M1J	-29,8‰
2039 - Résine de l'épave de Belitung	-29‰

Tableau 3.3 Valeurs isotopiques des dammars actuelles et archéologiques étudiées lors de ce travail et données de la littérature [*] Murray et al., 1998; Stout, 1995).

Aucune corrélation entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et la taxonomie exacte de nos échantillons frais n'ayant pu être établie, ces valeurs ne peuvent donc pas constituer un paramètre de caractérisation générique, encore moins spécifique des dammars, que celles-ci soient fraîches ou qu'elles aient été retrouvées en contexte archéologique.

2.3.3 Perspectives à l'étude isotopique de résines

Les analyses isotopiques globales de matériaux retrouvés en contexte archéologique fournissent donc des informations essentielles sur leur datation et leur origine. Ces données correspondent en réalité à la moyenne pondérée des signatures isotopiques de centaines de composés chimiques constituant le matériau et possédant chacun leur propre abondance isotopique. Celle-ci est le reflet de l'origine biosynthétique de ce composé et permet donc d'en retracer la provenance.

Avec l'amélioration constante des techniques séparatives, se sont développées des méthodes couramment employées en archéologie, couplant un chromatographe en phase gazeuse ou liquide à un spectromètre de masse à ratio isotopique, GC-C-irmsMS et HPLC-irmsMS (Hayes *et al.*, 1987; Hayes *et al.*, 1990; Matthews and Hayes, 1978; Tripp and Hedges, 2004). Cette technique fournit des données isotopiques très précises, grâce à l'élimination des contaminations. Elle permet surtout de déterminer les différentes contributions isotopiques à une signature globale : la séparation et l'analyse de composés isolés d'un résidu organique retrouvé dans une céramique provenant d'une structure archéologique peut mener à l'identification des différentes substances que cette dernière a contenues successivement (Tripp and Hedges, 2004). Dans le cas de résidus archéologiques constitués d'un mélange de résines, cette technique nous permettrait éventuellement de caractériser les différentes espèces en présence.

3 Nature et origine des échantillons : nouveaux outils d'identification des dammars

Mills et White publient en 1977 une des études majeures menées sur la chimie et l'identification de résines incorporées à des objets d'art ou retrouvées en contexte archéologique. Dans cette synthèse très complète où ils étudient aussi bien des résines

diterpéniques que triterpéniques, les auteurs précisent que, même si toutes les espèces de la famille des Dipterocarpaceae étaient étudiées du point de vue chimique, ce qui est loin d'être le cas à ce jour, l'identification précise d'une résine inconnue serait hautement problématique (Mills and White, 1977). En effet, même si quelques genres de cette famille peuvent être différenciés par la présence de marqueurs moléculaires caractéristiques, au niveau de l'espèce, les similitudes sont bien trop importantes pour permettre une quelconque distinction. Au sein d'un même genre de la famille des Dipterocarpaceae, on retrouve généralement le même cortège de marqueurs moléculaires dont seules les proportions varient (Lampert *et al.*, 2002). Il a même été noté que ces proportions pouvaient fluctuer, pour une même espèce, d'un arbre à l'autre selon leur localisation géographique, le climat et la composition du sol (Lampert *et al.*, 2002). Ces résultats définissent bien la difficulté que représente l'étude chimio-taxonomique de résines de Dipterocarpaceae.

La technique présentée dans le paragraphe 1.2.2 a été employée pour analyser les résines fraîches collectées au cours du printemps 2003 dans la réserve de Lò Gò Xa Mát (Vietnam). Des échantillons organiques archéologiques inconnus mais dont les contextes asiatiques de découverte (épaves de la Mer de Chine, site de fouilles terrestres thaïlandais) suggèrent la présence de dammar étant donné l'intérêt porté à ces résines dans ces régions tout au long de l'histoire (*cf.* Chapitre 2), ont été examinés de la même manière. Les données quantitatives concernant le fractionnement de ces échantillons sont présentées à la fin de ce manuscrit (*cf.* Annexe 1).

La taxonomie des résines fraîches est parfaitement définie puisque celles-ci ont été collectées sous le contrôle de palynologues : ces résines servent de référentiel à notre étude. Nous avons traité ces échantillons comme si leur taxonomie nous était inconnue : la confirmation de l'appartenance de ces exsudats à la famille des Dipterocarpaceae grâce aux critères déjà décrits dans la littérature nous a permis de valider notre protocole analytique.

Note : Le comportement des échantillons 2037 et 2038 lors du fractionnement sur colonne de silice, ainsi que leurs profils chromatographiques quelque peu différents de ceux des autres échantillons organiques étudiés dans le cadre de ce travail, suggèrent que ces deux échantillons ne sont probablement pas constitués uniquement de dammars mais qu'il s'agirait plutôt d'échantillons composites.

Cette étude nous a également permis de mettre en lumière les faiblesses des critères d'identification des dammars déjà établis et de définir de nouveaux critères permettant potentiellement l'identification générique, voire même spécifique de résines de Dipterocarpaceae, grâce à des corrélations entre la présence de certains composés et la taxonomie des exsudats frais étudiés ici.

3.1 Nature des échantillons actuels et archéologiques

Les chromatogrammes des fractions des cétones, des alcools et des acides des échantillons étudiés, qu'ils soient frais ou archéologiques, sont tous constitués de deux massifs bien distincts de composés. Le premier massif renferme des composés dont les temps de rétention sont compris approximativement entre 15 et 25 minutes : ces molécules présentent des masses molaires de 220 ou 222 u.m.a. et correspondent à des composés sesquiterpéniques. Le second massif est constitué quant à lui de molécules aux temps de rétention plus élevés, compris en moyenne entre 50 et 60 minutes : leurs masses molaires s'échelonnent de 410 à 442 u.m.a. (fonctionnalités non dérivées) et correspondent à des composés triterpéniques. Notre protocole nous permet donc de déterminer la présence de substance végétale triterpénique dans tous les échantillons étudiés, qu'ils soient frais (Figure 3.3) ou archéologiques (Figure 3.4).

Les triterpénoïdes sont facilement identifiables par CG-SM (Figure 3.5 et Figure 3.6). Dans les différentes fractions étudiées (cétones, alcools, acides), nous identifions principalement des dérivés de l'oléanane (**T23**, **T25**, **T27**, **T33**, **T35**, **T37**, **T38** et **T42**), de l'ursane (**T24**, **T28**, **T29**, **T36**, **T39**, **T40** et **T43**) et du dammarane (**T26** et **T44**) par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux disponibles dans la littérature. L'association de composés de ces trois séries a été présentée dans la littérature comme étant caractéristique des résines de Dipterocarpaceae (van der Doelen, 1999). Nous identifions également dans ces résines quelques dérivés du lupane (**T30** et **T41**) qui ont déjà été identifiés dans des dammars au cours d'études précédentes (van der Doelen, 1999), mais qui n'ont pas valeur de marqueurs moléculaires.

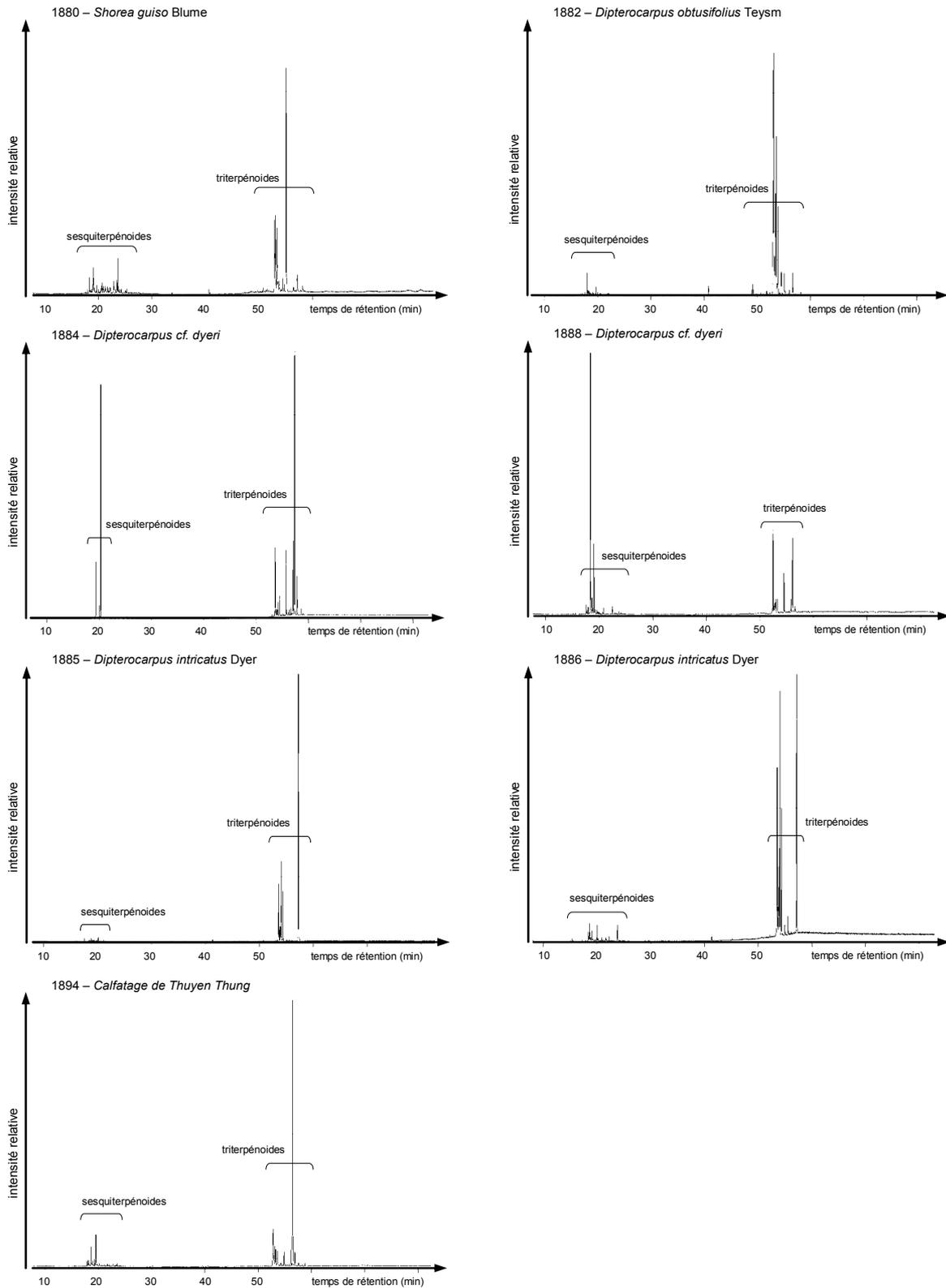


Figure 3.3 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions des cétones des dammars fraîches 1880, 1882, 1884, 1885, 1886 et 1888 ainsi que du calfatage 1894.

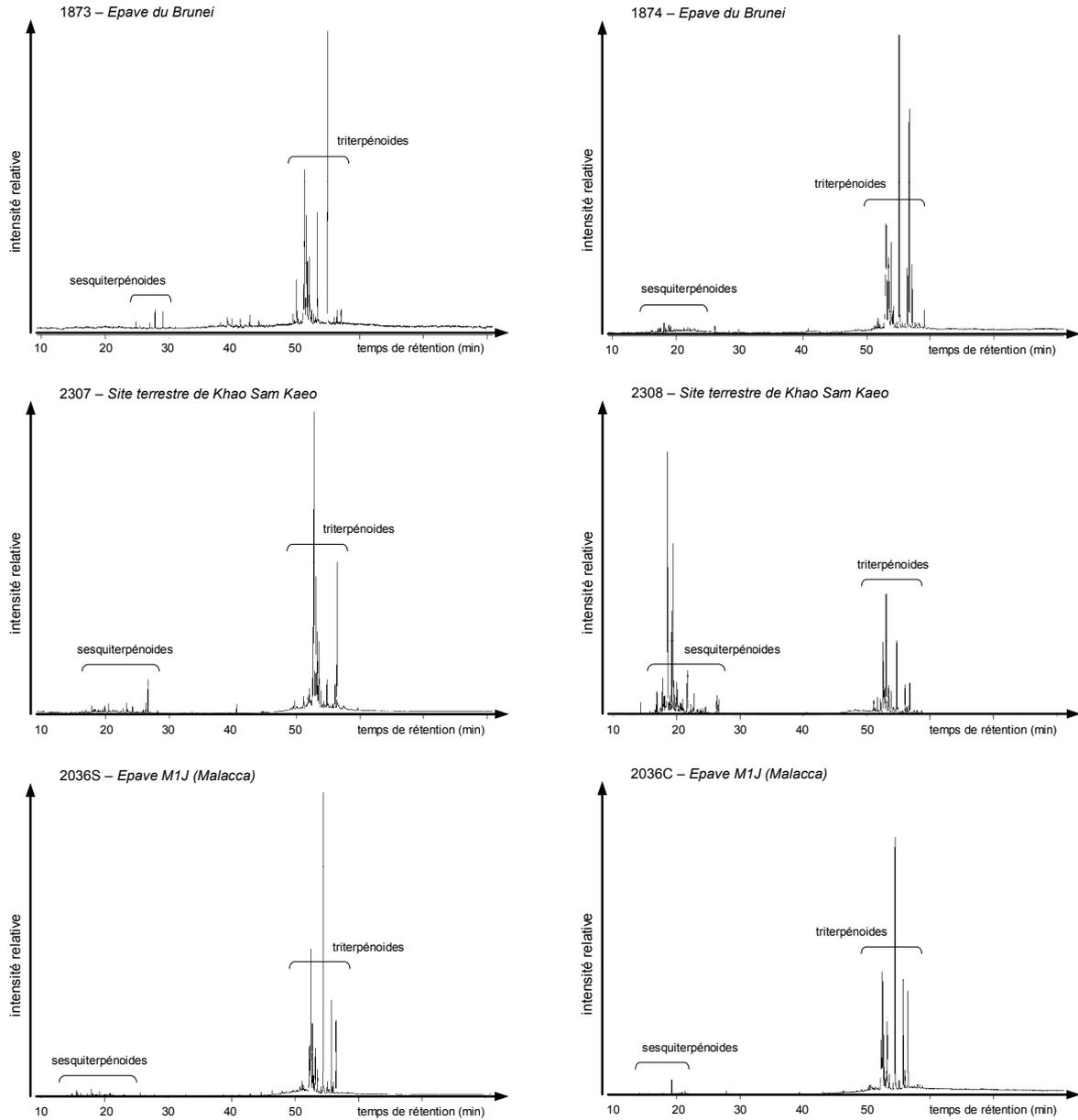


Figure 3.4 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions des cétones des échantillons archéologiques 1873, 1874, 2307, 2308, 2036S, 2036C, 2037, 2038 et 2039.

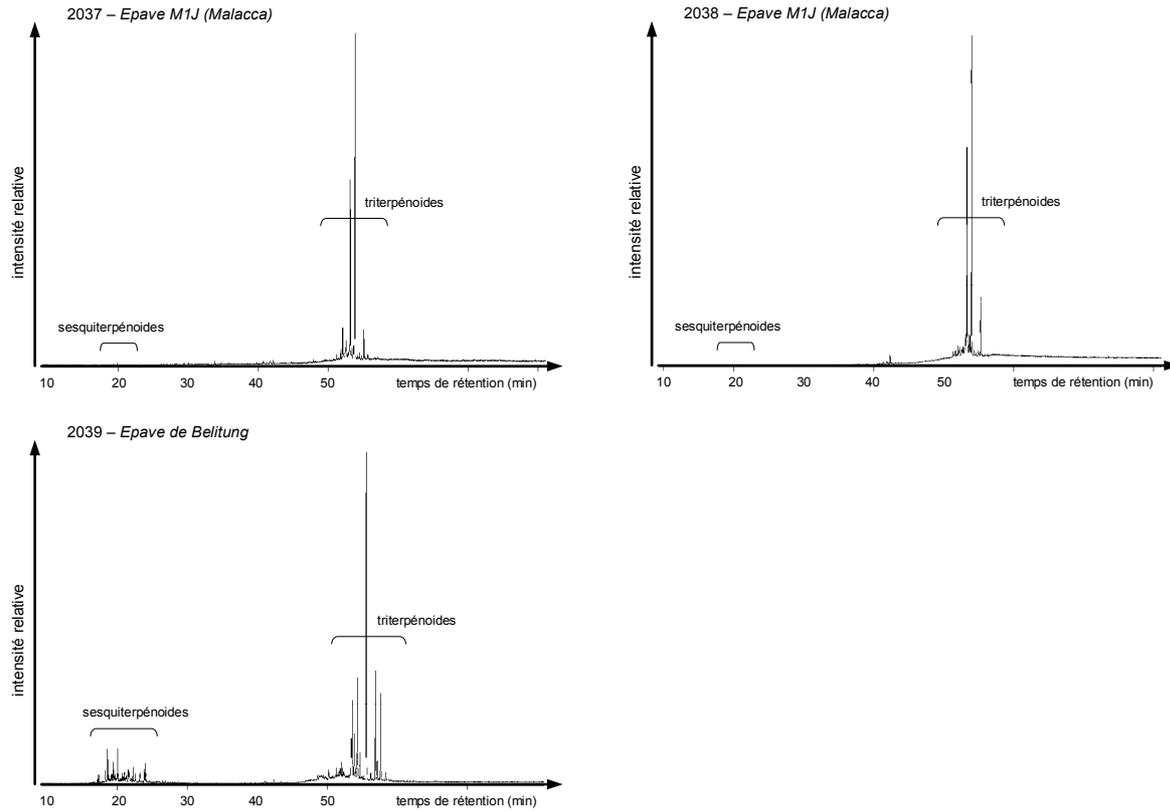


Figure 3.4 (suite) Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions des cétones des échantillons archéologiques 1873, 1874, 2307, 2308, 2036S, 2036C, 2037, 2038 et 2039.

La procédure employée pour cette étude est donc valable puisque la détermination taxonomique de ces résines végétales présentes dans nos échantillons est possible : nous avons établi que les sept échantillons frais et les neuf échantillons archéologiques analysés dans le cadre de cette étude étaient tous constitués de dammar.

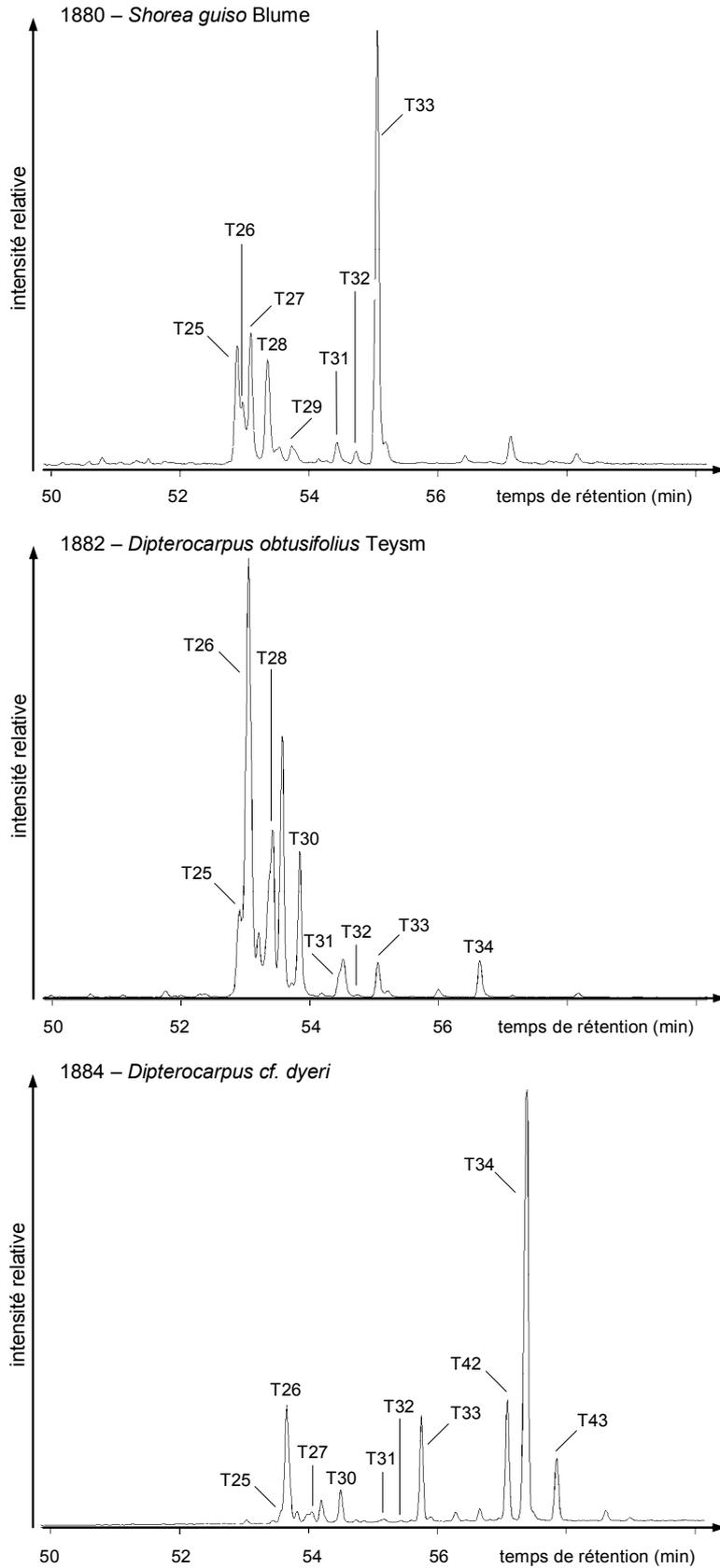


Figure 3.5 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons de résines fraîches.

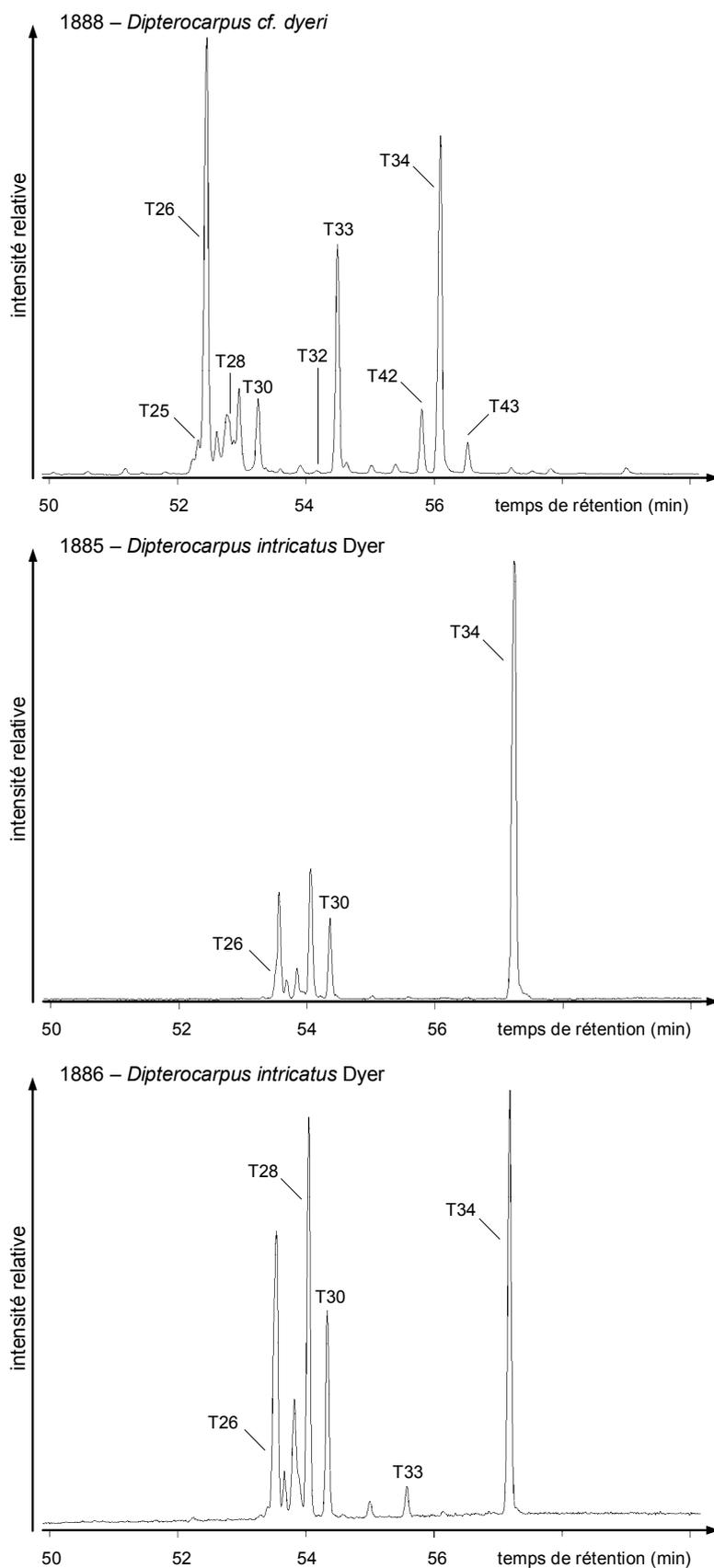


Figure 3.5 (suite) Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons de résines fraîches.

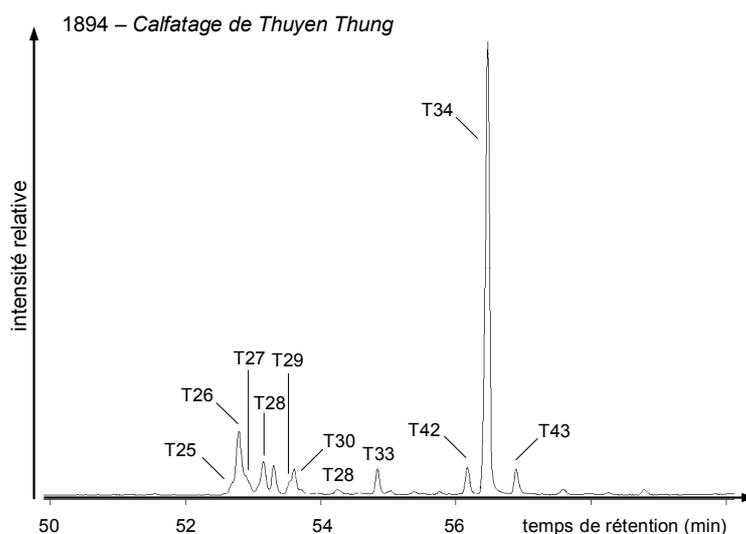


Figure 3.5 (suite) Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons de résines fraîches.

L'absence de monoterpénoïdes dans les diverses fractions étudiées, déjà mentionnée dans la littérature par Bisset (Bisset *et al.*, 1966; Bisset *et al.*, 1967; Bisset *et al.*, 1971) et Diaz (Diaz *et al.*, 1966; Diaz and Ourisson, 1966) comme étant commune à toutes les espèces asiatiques de la famille des Dipterocarpaceae, renforce nos conclusions concernant la nature de nos échantillons.

Conclusion : Par cette étude d'échantillons frais et archéologiques, nous avons démontré la validité de notre protocole analytique ; en effet, il nous a été possible d'établir la présence de résine végétale de nature triterpénique dans tous nos échantillons.

Il nous a par ailleurs été possible de déterminer la nature de cette substance triterpénique : tous les échantillons analysés sont constitués de dammar.

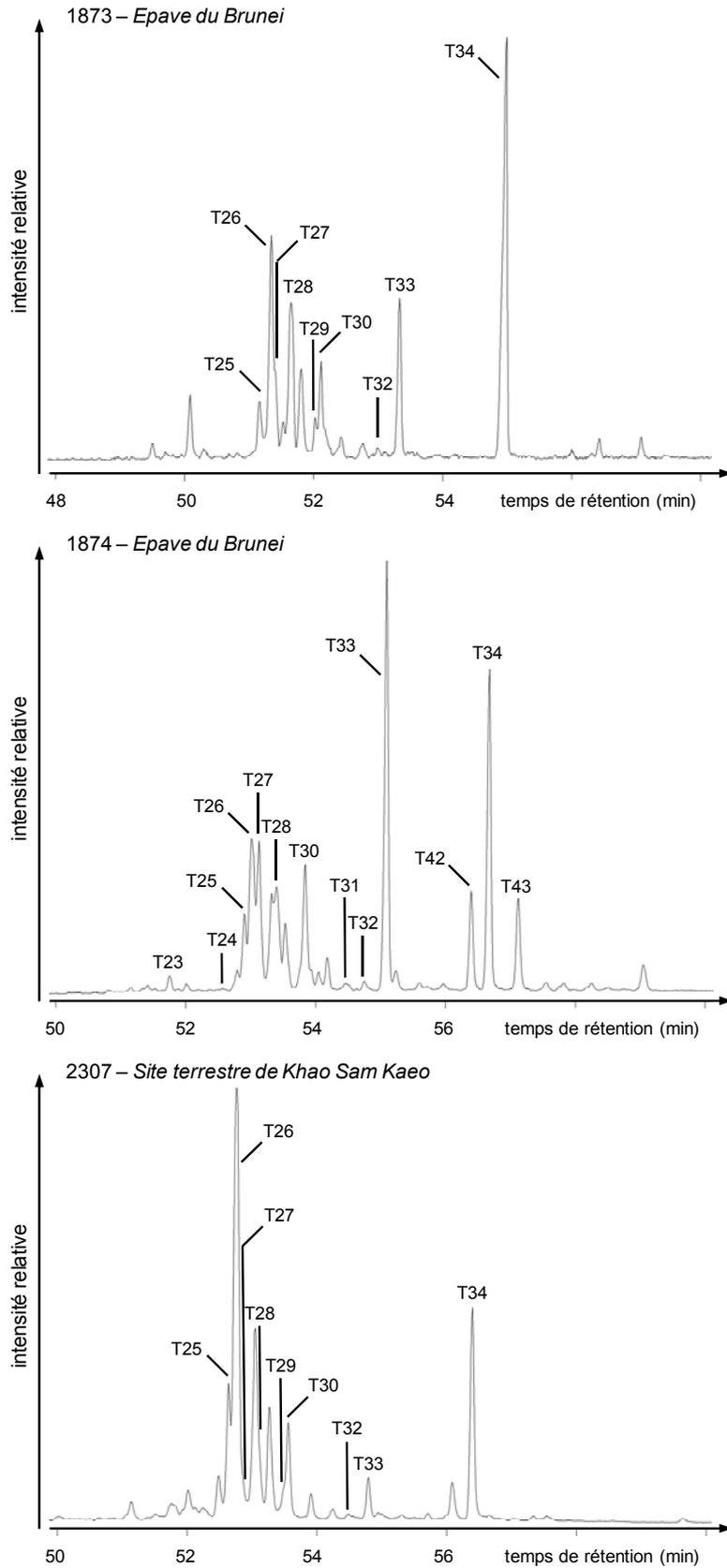


Figure 3.6 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.

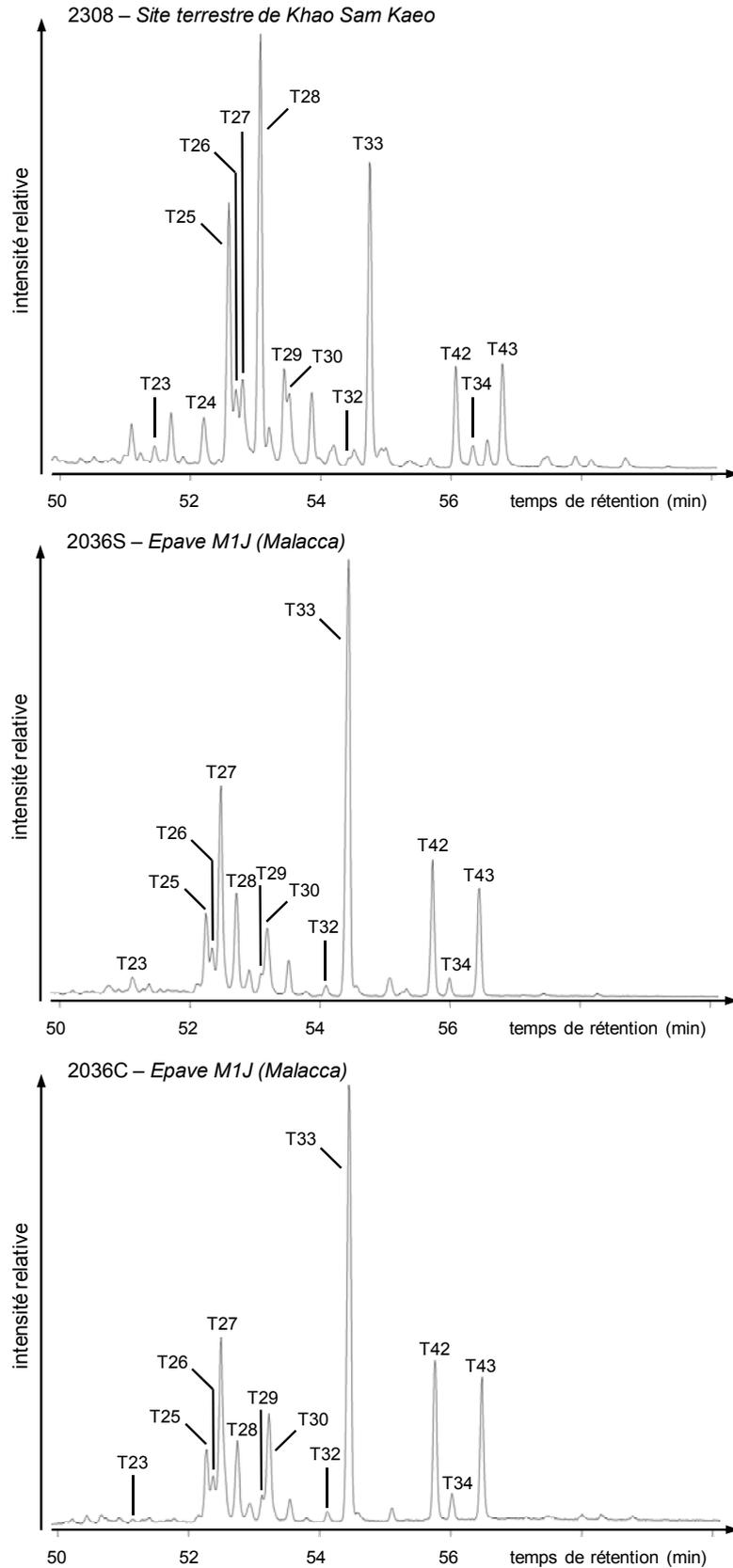


Figure 3.6 (suite) Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.

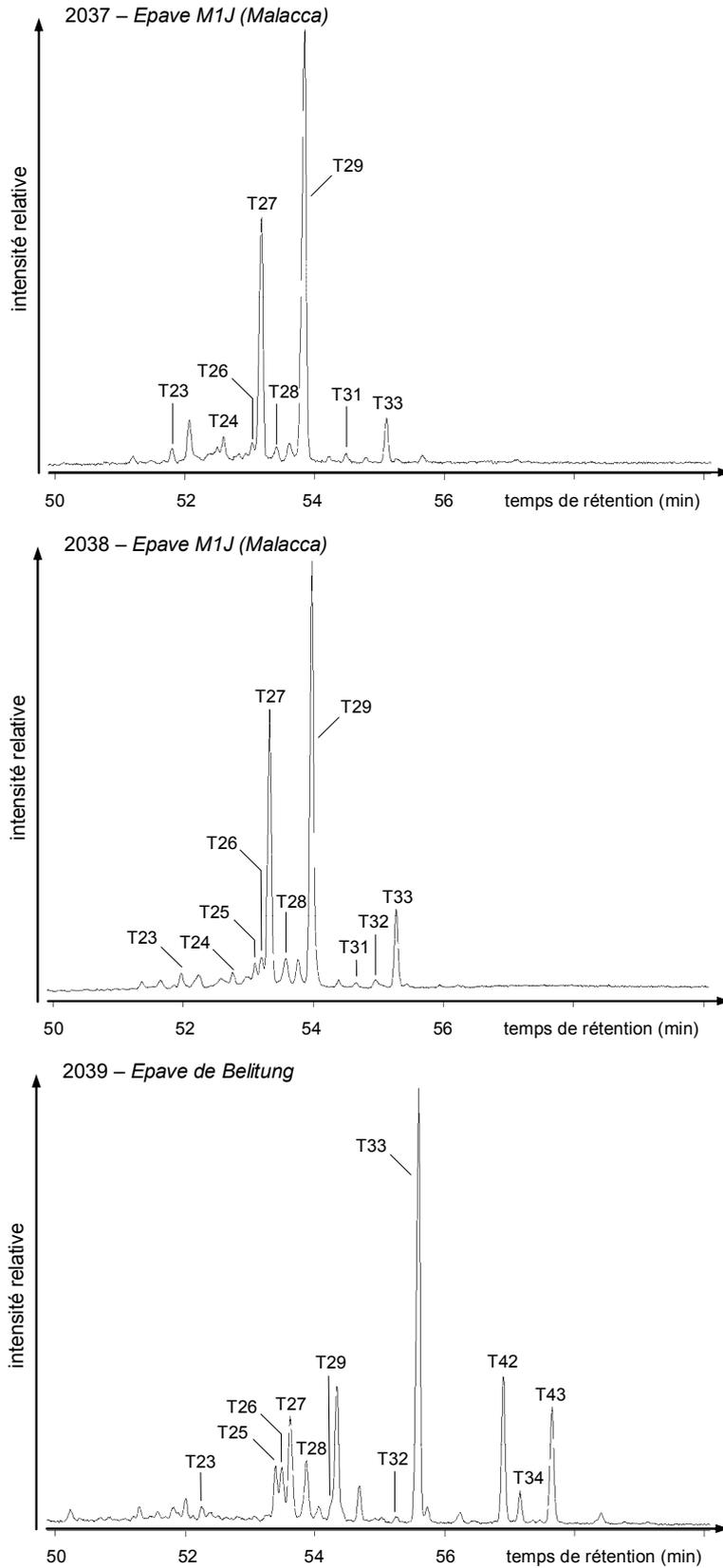


Figure 3.6 (suite) Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.

3.2 Nouveaux critères d'identification taxonomique des dammars

Les triterpènes pentacycliques oxygénés en position 3 sont très largement représentés chez les végétaux supérieurs (Angiospermes).

Des dérivés de l'ursane et surtout de l'oléanane sont retrouvés dans presque toutes les résines triterpéniques et ne constituent donc pas à eux seuls les marqueurs moléculaires typiques d'une résine en particulier.

Comme nous l'avons indiqué précédemment, c'est l'association de composés appartenant aux séries de l'oléanane, de l'ursane et du dammarane qui caractérise les résines exsudant des troncs d'arbres de la famille des Dipterocarpaceae. Or, au cours de notre étude des échantillons de dammars fraîches, il apparaît nettement que très peu de dérivés du dammarane sont présents. Il n'est pas insensé d'imaginer qu'au cours de l'altération de ces résines, ces dérivés puissent disparaître, menant ainsi à une identification erronée de résines retrouvées en contexte archéologique.

Nous en avons déduit la nécessité de définir de nouveaux paramètres d'identification chimio-taxonomique, afin de caractériser sans ambiguïté la présence de dammars dans un échantillon actuel ou altéré, que celle-ci y soit pure ou en mélange à d'autres substances. Dans ce paragraphe, nous allons également présenter des paramètres permettant l'identification générique et spécifique de ces exsudats.

3.2.1 Critère d'identification des dammars

Au cours de notre étude, il nous est apparu que les profils des fractions F3 dérivées (c'est-à-dire acétylées et méthylées, *cf.* Partie expérimentale) renfermant les composés polyfonctionnalisés des dammars fraîches présentent des similitudes (Figure 3.7). En plus de quelques composés spécifiques à chaque résine, parfois majoritaires (1886) et qui n'ont pas tous été identifiés, ces dernières renferment toutes en fin de chromatogramme, quatre composés en proportions relatives identiques (temps de rétention compris entre 60 et 75 minutes).

Les fragments principaux des spectres de masse de ces quatre composés sont les fragments m/z 262, m/z 203 et m/z 133 : ceux-ci correspondent à la partie droite de triterpènes des séries oléanane et ursane, et ont pour origine une réaction de rétro Diels-Alder démarrant

dans le cycle C au niveau de la double liaison en position 12. Le fragment m/z 262 indique la présence d'une fonction acide carboxylique méthylée sur le carbone 17, car la présence d'un groupement méthyle en cette position donnerait lieu à un fragment m/z 218 (Assimopoulou and Papageorgiou, 2004).

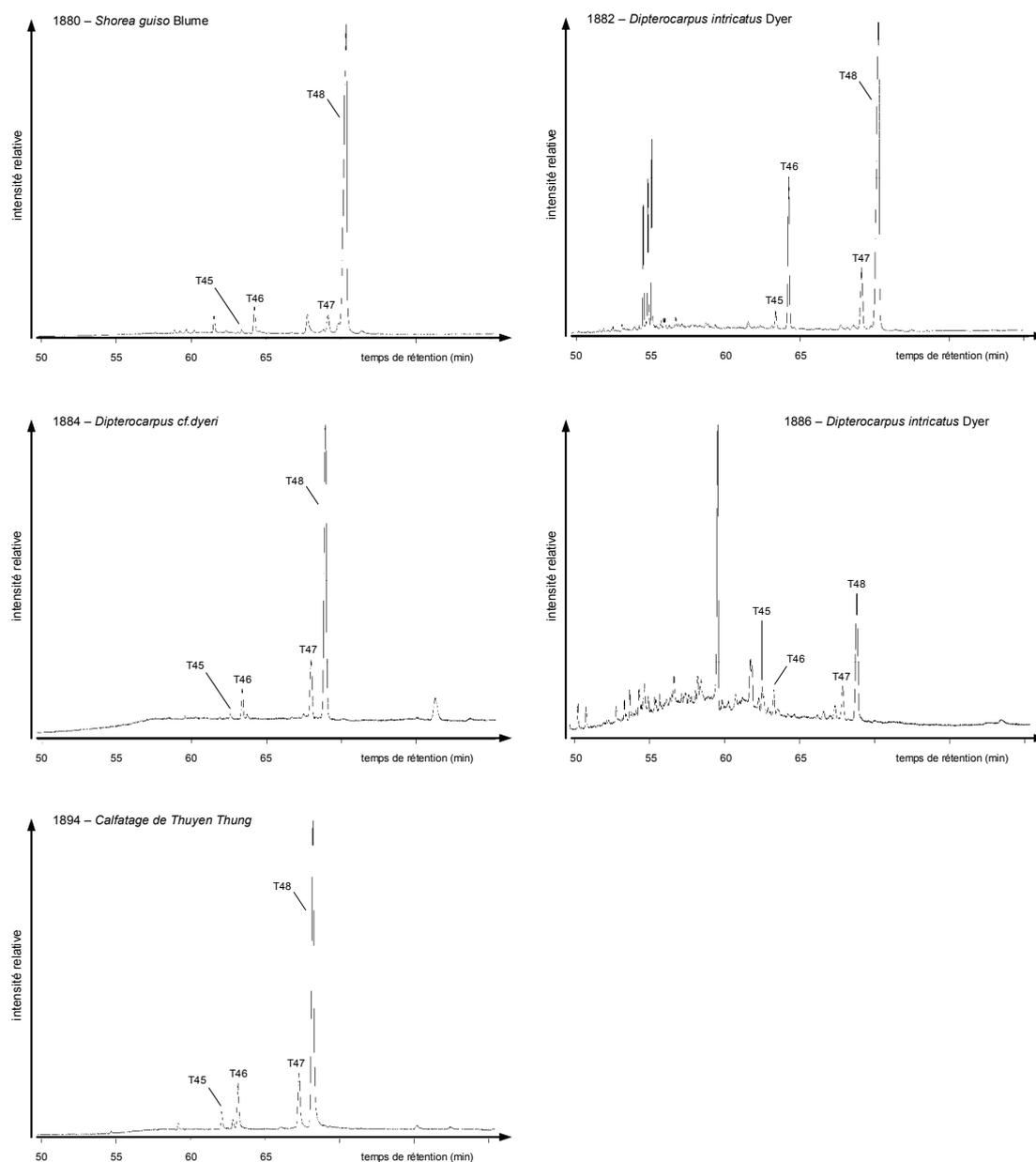


Figure 3.7 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées des échantillons actuels.

Dans les spectres de masse des composés **T45** et **T46**, on distingue les fragments m/z 570, m/z 510 et m/z 450, distincts de 60 u.m.a., ce qui indique la présence dans ces composés de trois fonctions alcool et/ou acide carboxylique qui, une fois dérivées (acétylées et méthylées respectivement), peuvent conduire à de telles pertes. La fonction acide carboxylique portée par le carbone 17 est l'une de ces trois fonctions ; les deux autres sont situées dans la partie gauche de la molécule. Toutes ces informations extraites des spectres de masse des composés **T45** et **T46** ont orienté les recherches de structures menées dans la littérature : il s'agit respectivement des acides 2,3-dihydroxyoléan-12-èn-28-oïque **T45** et 2,3-dihydroxyurs-12-èn-28-oïque **T46** (Figure 3.9).

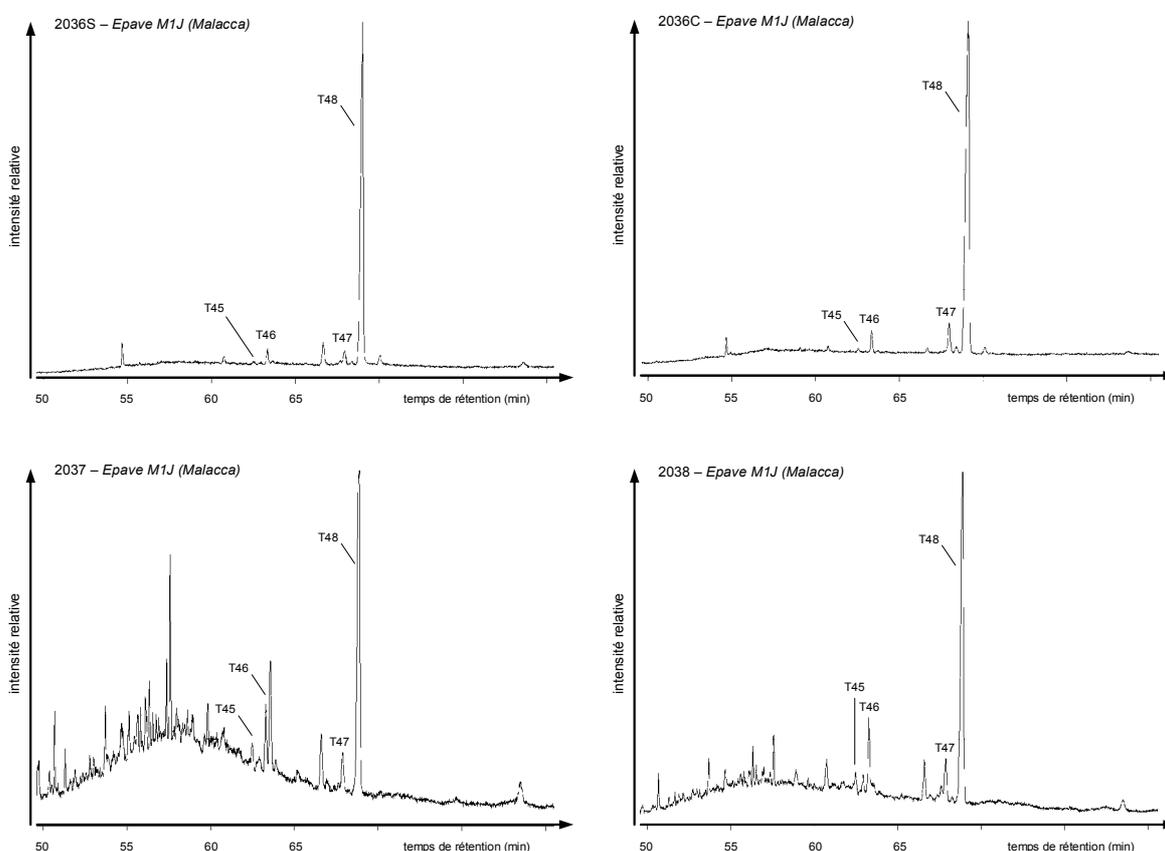


Figure 3.8 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées des échantillons archéologiques.

Les structures des composés **T47** et **T48** ont été déduites de celles des composés **T45** et **T46** : on distingue également dans leurs spectres de masse trois fragments distincts de 60 u.m.a (m/z

568, m/z 508 et m/z 448). La perte de 2 u.m.a. de ces fragments par rapport à ceux des composés **T45** et **T46** signale la présence dans les composés **T47** et **T48** d'une double liaison supplémentaire. Les fragments issus de la partie droite de la molécule demeurant inchangés par rapport à ceux des composés **T45** et **T46**, cette double liaison supplémentaire est située sur les cycles A ou B des composés **T47** et **T48**. Parmi les positions les plus couramment occupées par des doubles liaisons dans les triterpènes (2, 9(11), 12, 13(18), 18), une seule est située dans la partie gauche de la molécule.

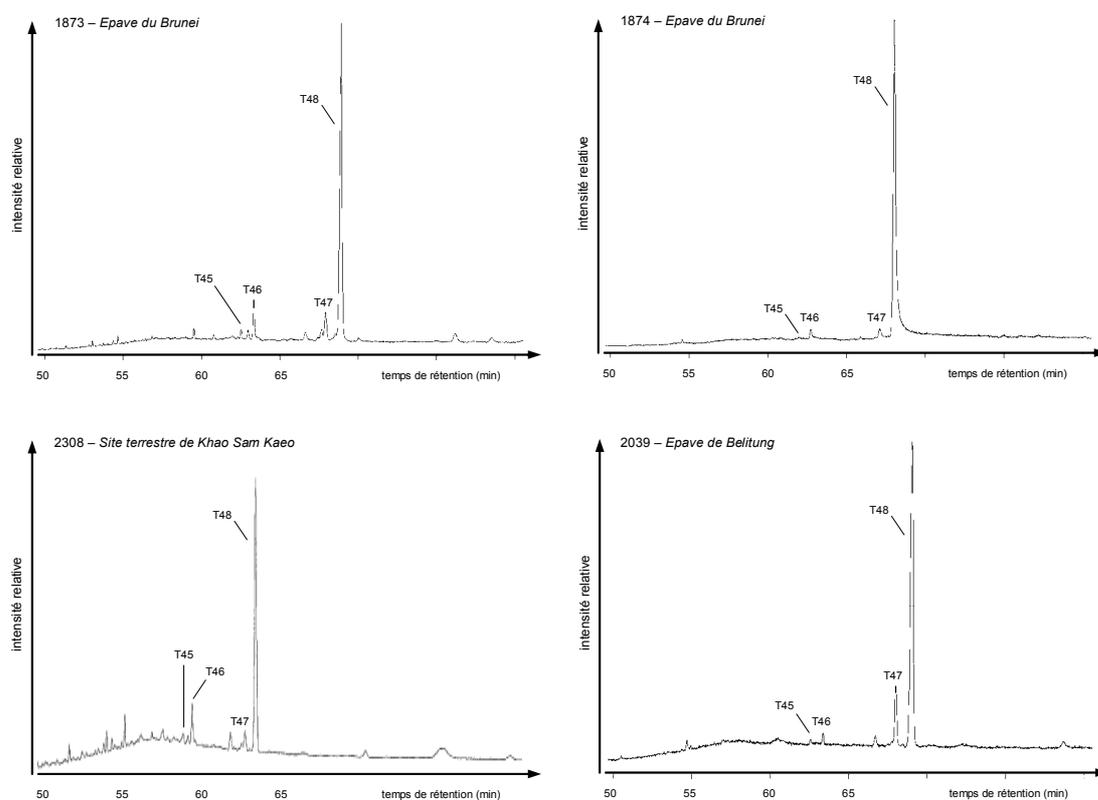


Figure 3.8 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées des échantillons archéologiques.

Nous avons donc proposé les structures suivantes pour les composés **T47** et **T48** : il s'agirait respectivement de l'acide 2,3-dihydroxyléana-2,12-dièn-28-oïque et de l'acide 2,3-dihydroxyursa-2,12-dièn-28-oïque (Figure 3.10).

Ces quatre composés éluent dans l'ordre suivant : **T45**, **T46**, **T47** et **T48** ; les dérivés de l'ursane étant présents en proportions plus importantes que les dérivés de l'oléane.

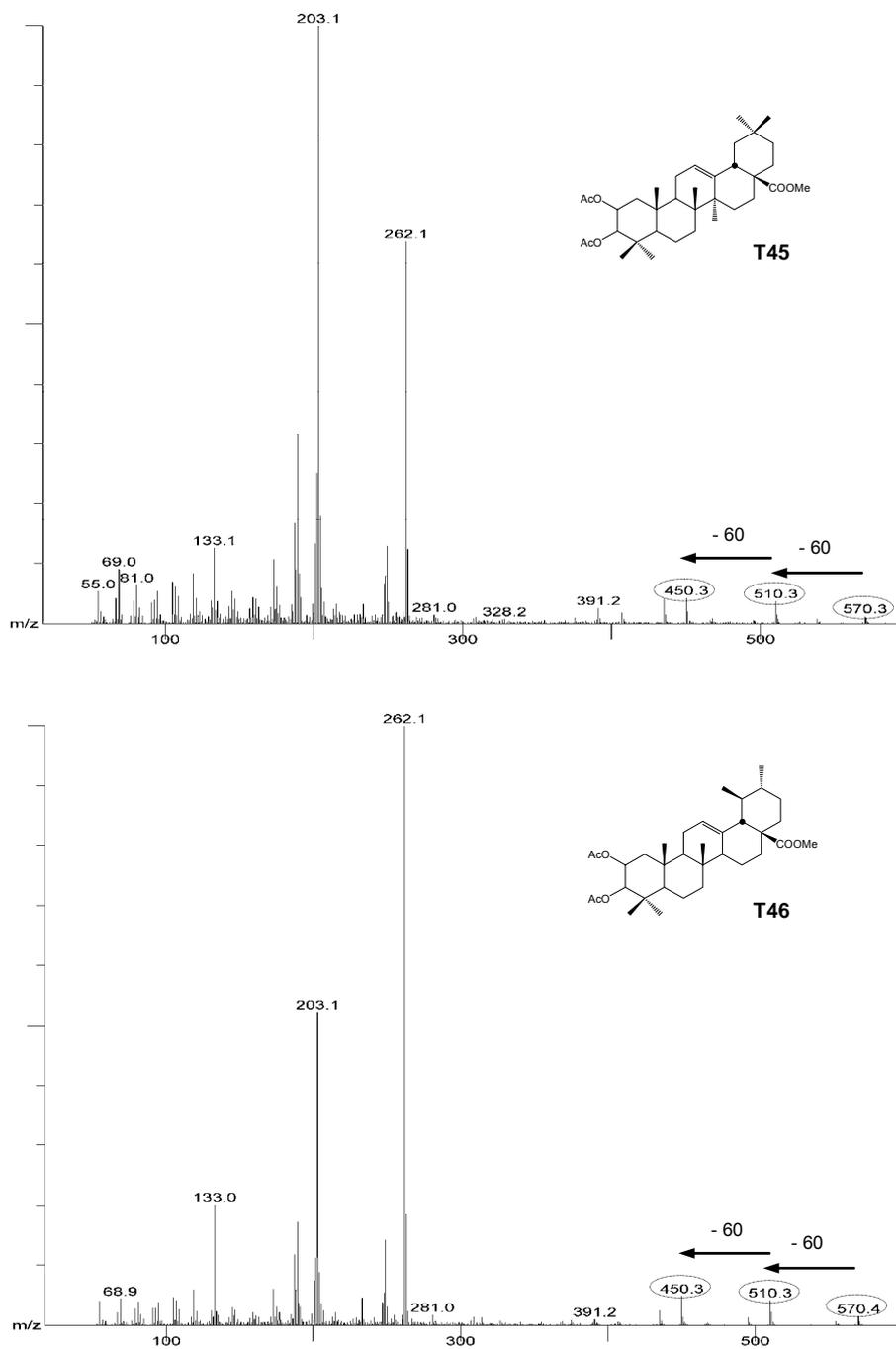


Figure 3.9 Spectres de masse obtenus pour les composés **T45** et **T46** ; structures des acides correspondants.

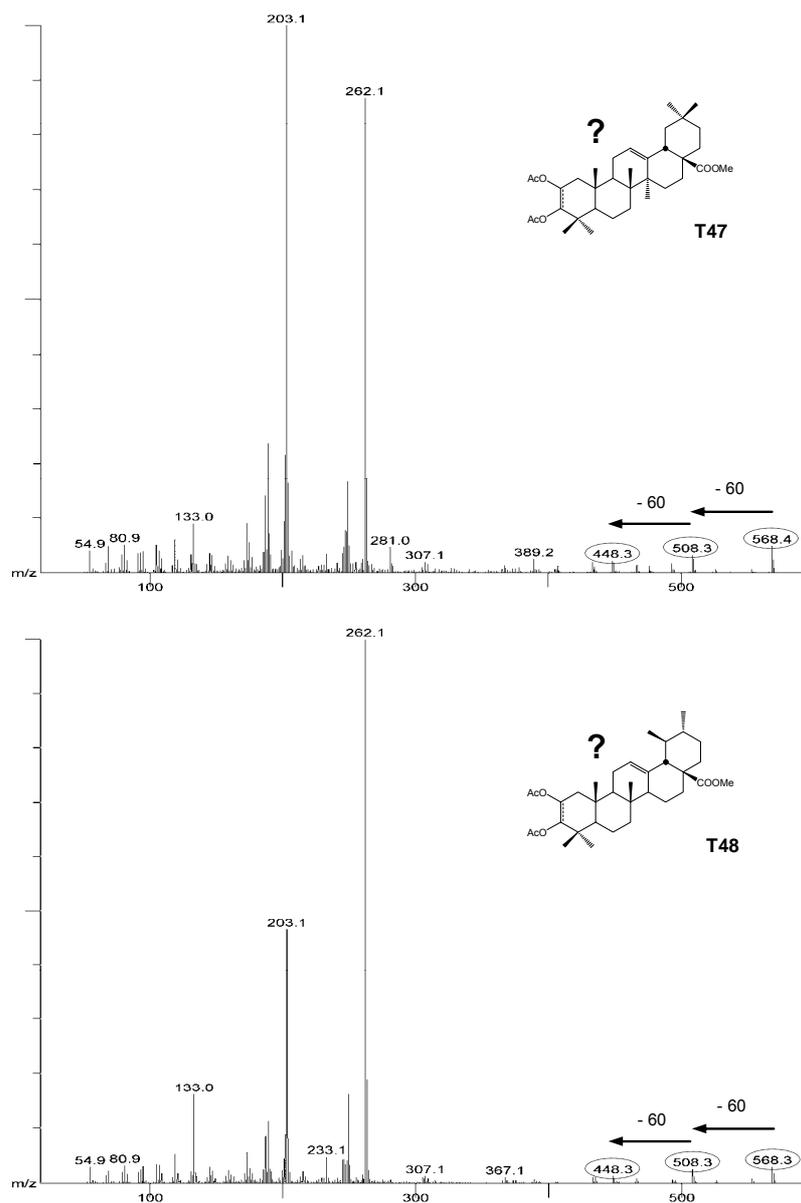


Figure 3.10 Spectres de masse obtenus pour les composés **T47** et **T48** ; structures proposées.

Le même profil chromatographique a été observé dans les échantillons archéologiques (Figure 3.8), qu'ils soient constitués de dammars pures ou en mélange avec d'autres substances. Il apparaît donc que ces quatre composés résistent aux processus d'altération (naturels et anthropiques).

Au vu des études précédentes de résines triterpéniques provenant d'arbres appartenant à d'autres familles, et notamment d'une étude menée au laboratoire sur des résines du genre *Pistacia* (famille des Anacardiaceae), nous pouvons affirmer que ce profil constitue une particularité des dammars (Figure 3.11).

L'association de ces quatre composés dans ces proportions relatives particulières semble donc constituer un critère valable de la présence de dammar dans un échantillon quel qu'il soit (frais ou archéologique, pur ou en mélange).

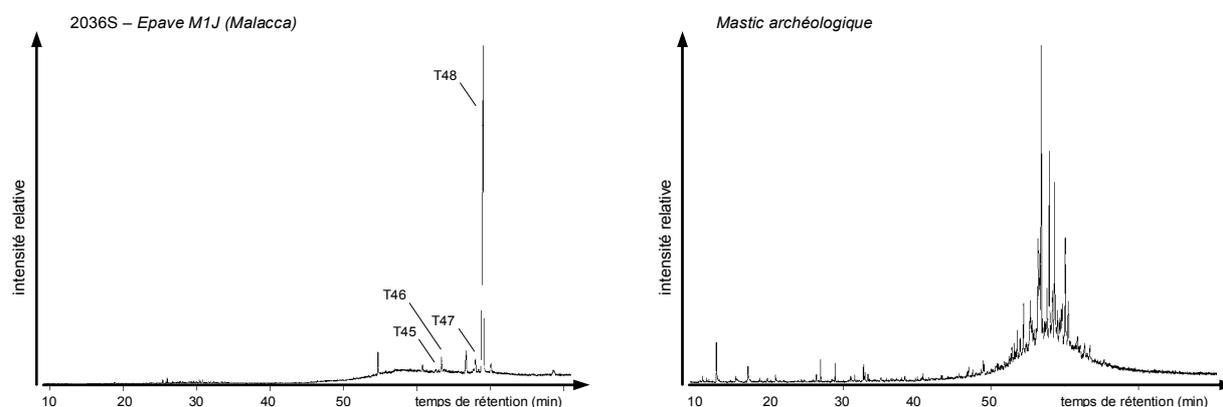


Figure 3.11 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 dérivées de dammar (2036S) et de mastic archéologiques.

3.2.2 Critère d'identification générique

3.2.2.1 Bétulonal

Les fractions des cétones des résines fraîches provenant du genre *Dipterocarpus* renferment toutes un composé triterpénique inconnu **T34** de masse égale à 438 u.m.a., qui n'est pas mis en évidence dans la fraction correspondante de la résine du genre *Shorea*.

Le temps de rétention de ce composé est intermédiaire aux temps de rétention des aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43**. Par analogie avec ces deux aldéhydes (de masse 438 u.m.a.), nous avons déduit que la formule brute de ce composé correspondait à $C_{30}H_{46}O_2$.

Le spectre de masse de ce composé renferme le fragment m/z 395 (Figure 3.12) correspondant à une perte de 43 u.m.a. $[M^+ - 43]$, caractéristique de la perte d'un groupement isopropyle (Assimopoulou and Papageorgiou, 2004). Ceci suggère que ce composé est un triterpène pentacyclique dont le cycle E porte cinq carbones ; il s'agit donc très probablement d'un dérivé du lupane.

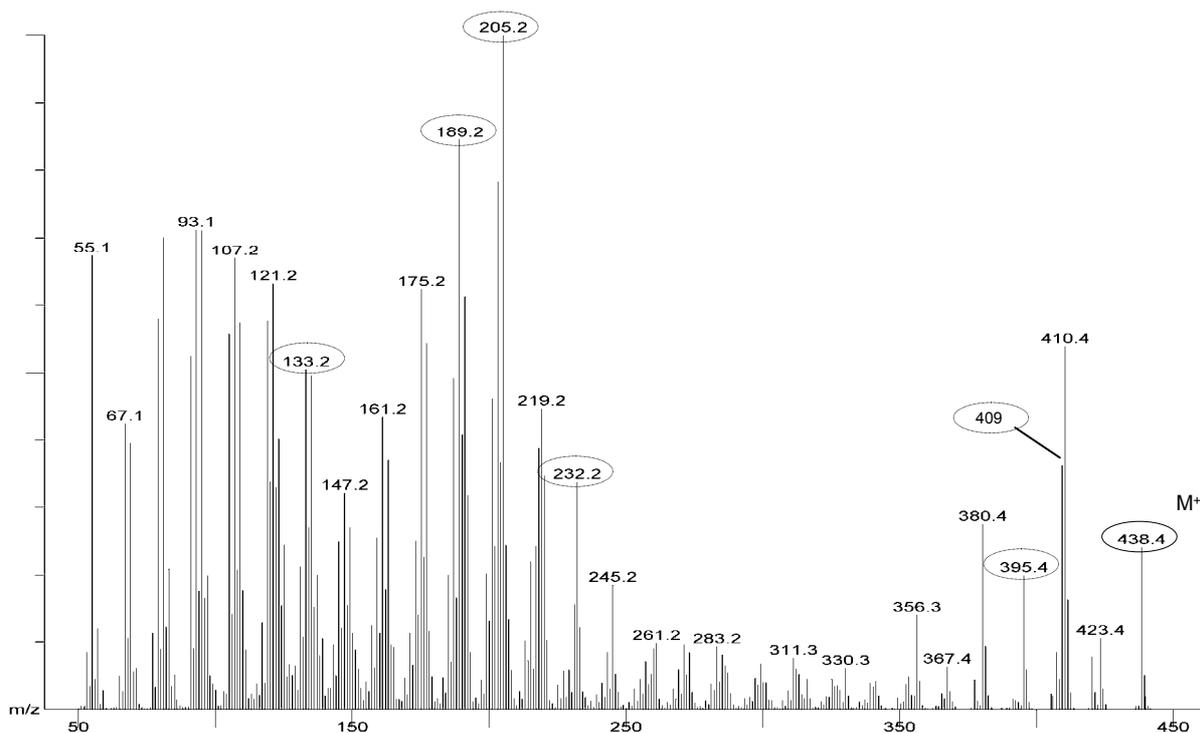


Figure 3.12 Spectre de masse du bétulonol **T34** identifié dans l'échantillon frais de *Dipterocarpus cf. dyeri* (1884).

Le fragment abondant m/z 205 correspond à la partie gauche de la molécule et nous renseigne sur la nature de la fonction portée par le carbone 3 des triterpènes pentacycliques : il s'agit ici d'une fonction cétone (m/z 207 indiquant la présence d'une fonction alcool sur le carbone 3, Assimopoulou and Papageorgiou, 2004; Budzikiewicz *et al.*, 1963).

L'intense fragment m/z 409 correspondant à une perte de 29 u.m.a. $[M^+ - 29]$ révèle la présence d'une fonction aldéhyde (Lavoie, 2001) : par analogie avec les aldéhydes oléanonique et ursonique, nous avons suggéré que cette fonction se situait sur le carbone 17.

Ces observations nous ont donc conduit à attribuer à ce composé, la structure du bétulonal (Figure 3.13). Ce dernier est un dérivé de la bétuline (encore nommée bétulinol), diol (C-3 et C-28) abondamment présent dans l'écorce de nombreuses espèces de bouleau (famille des Betulaceae), dont elle est responsable de la couleur blanche (Regert and Rolando, 1996).

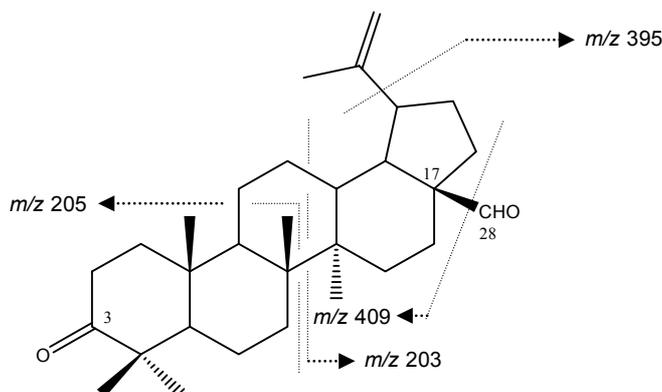


Figure 3.13 Fragmentation du bétulonal T34.

Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons procédé à la synthèse de bétulonal par oxydation de la bétuline (disponible au laboratoire) par du dichromate de pyridinium (PDC), agent oxydant doux qui oxyde sans sélectivité les deux fonctions alcool (*cf.* Partie expérimentale).

La structure exacte du composé ainsi obtenu a été caractérisée par spectroscopie RMN ¹H. Les signaux utiles à son identification sont listés dans la Partie expérimentale de ce manuscrit ; ils sont cohérents avec les données publiées précédemment pour le bétulonal (Lavoie, 2001; Pichette *et al.*, 2004).

L'identification définitive du composé présent dans les fractions cétones du genre *Dipterocarpus* est confirmée par comparaison des données analytiques de ce dernier avec celles du composé synthétisé au laboratoire : ces deux composés présentent des spectres de masse identiques et co-éluent sur deux colonnes de phase différente en chromatographie gazeuse (*cf.* Partie expérimentale).

Etant donné que ce composé est présent dans six des huit échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail, il apparaît que celui-ci résiste étonnamment bien aux processus d'altération naturelle et anthropique.

Les échantillons 2037 et 2038 qui sont très probablement des échantillons composites, ne renferment pas le bétulonol ; or, les cétones triterpéniques de ces deux échantillons présentent bien un profil typique de dammar. Il semble donc que la présence d'autres substances organiques en mélange à de la dammar n'influe pas sur la composition en cétones de cette dernière. On peut donc supposer que l'absence de bétulonol dans ces deux cas précis serait liée à la taxonomie de ces résines : les dammars contenues dans ces deux échantillons ne proviennent donc probablement pas du genre *Dipterocarpus*. Il est en revanche tout à fait possible qu'elles appartiennent au genre *Shorea*, mais nous ne disposons pour le moment d'aucun paramètre permettant une telle affirmation.

A notre connaissance, bien qu'il ait été identifié dans des mastics (Fotinos *et al.*, 2003), le bétulonol n'a jamais été cité dans la littérature en tant que constituant des dammars. D'après nos observations, il semble constituer un marqueur moléculaire générique de la famille des Dipterocarpaceae puisqu'il est présent dans les résines du genre *Dipterocarpus* et non dans celles du genre *Shorea*. Une telle hypothèse est évidemment à envisager avec prudence étant donné le nombre restreint de dammars actuelles analysées au laboratoire, n'appartenant de surcroît qu'à deux genres de la famille des Dipterocarpaceae.

Une étude plus vaste devra être entreprise afin d'affiner ces résultats aux niveaux générique et/ou spécifique car il est tout à fait possible que l'absence de bétulonol dans la résine de *Shorea guiso* Blume ne soit en fait qu'une caractéristique de cette espèce et non du genre *Shorea* dans son intégralité.

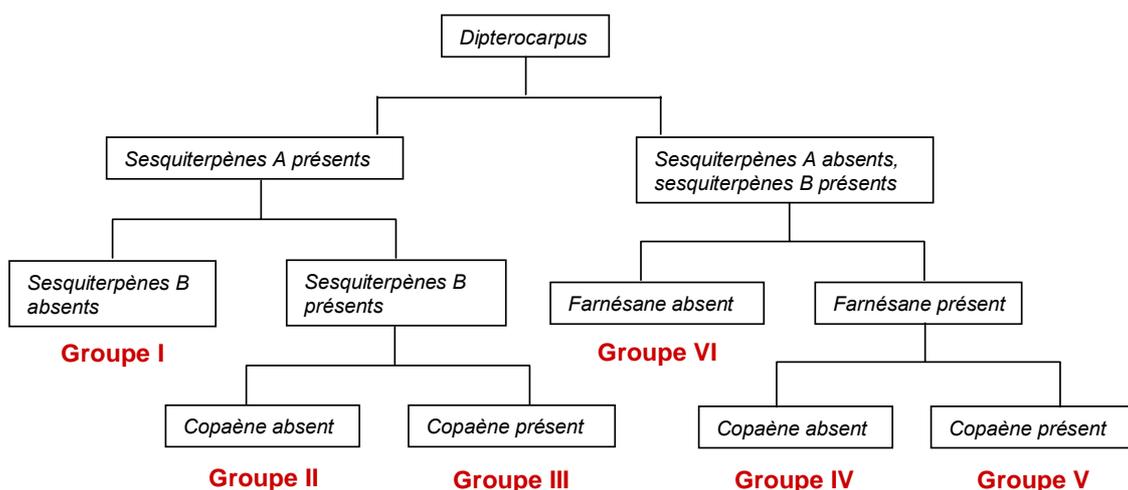
3.2.2.2 Les sesquiterpènes

De 1966 à 1971, Bisset et ses collaborateurs ont entrepris une vaste étude chimio-taxonomique de la famille des Dipterocarpaceae (Bisset *et al.*, 1966; Bisset *et al.*, 1967; Bisset *et al.*, 1971).

Ils établissent que la composition en hydrocarbures sesquiterpéniques des dammars est très variable d'une espèce à l'autre, mais notent tout de même qu'à l'intérieur du genre *Shorea*, ces composés présentent une certaine régularité (Bisset *et al.*, 1971).

En revanche, ils distinguent six groupes au sein du genre *Dipterocarpus* sur la base de leur composition sesquiterpénique (Figure 3.14).

Parmi les hydrocarbures sesquiterpéniques identifiés dans nos résines fraîches du genre *Dipterocarpus*, nous avons identifié ceux permettant ce regroupement. Ainsi, sur cette seule base, nous avons établi l'appartenance des résines 1884 (*D. cf. dyeri*), 1885 et 1886 (*D. intricatus* Dyer) au groupe I et 1882 (*D. obtusifolius* Teysm) au groupe III : notre classification est en accord avec les résultats présentés dans les travaux de Bisset.



Sesquiterpènes A : α -gurjunène, β -gurjunène, alloaromadendrène, cypérène.

Sesquiterpènes B : caryophyllène, humulène, copaène, farnésane.

Figure 3.14 Division du genre *Dipterocarpus* en 6 groupes (d'après Bisset et al., 1966).

Parmi nos échantillons archéologiques, six ont été identifiés comme contenant de la dammar du genre *Dipterocarpus* (1873, 1874, 2307, 2308, 2036 et 2039), du fait de la présence de bétulonol dans la fraction des cétones (cf. paragraphe 3.2.2.1). Hormis dans l'échantillon 1873 qui ne renferme pas de sesquiterpènes, les sesquiterpènes permettant cette classification ont été recherchés de manière spécifique dans les échantillons archéologiques. En utilisant les mêmes critères, nous avons ainsi établi l'appartenance des échantillons 1874, 2036 et 2039 au groupe I. Cette classification nous fournit donc des pistes permettant d'affiner la taxonomie spécifique de ces échantillons.

Dans le cas des échantillons 2307 et 2308, le massif de sesquiterpènes est dominé largement par le cadalène : les études palynologiques de ces deux échantillons révélaient la présence de pollens de pin associés à ces résines caractérisant soit un apport extérieur par voie aérienne,

soit un contact direct de 2307 et 2308 avec une résine de conifère. Les sesquiterpènes propres à la dammar contenue dans ces échantillons sont quant à eux présents en très faible quantité et du fait des grandes similitudes des spectres de masse de ces composés, nous n'avons pas pu établir l'appartenance de ces deux échantillons à un quelconque groupe décrit par Bisset.

3.2.3 Critère d'identification spécifique

Il apparaît dans notre étude que les fractions cétones et alcools des dammars fraîches étudiées au laboratoire sont de manière générale toutes constituées des mêmes composés triterpéniques, dont seules les proportions relatives varient d'un échantillon à l'autre.

Nous avons entrepris une étude comparative des proportions relatives des composés triterpéniques des fractions des cétones, afin d'établir des corrélations directes entre profils chromatographiques et espèces. Nous nous sommes ensuite servi de cette étude pour affiner l'identification taxonomique de dammars d'origine inconnue caractérisées dans les échantillons archéologiques analysés.

Pour cela, à l'aide du logiciel GC/MS WORKSTATION Saturn® (VARIAN), nous avons procédé à des intégrations de la surface du pic correspondant à chacun des 14 composés triterpéniques, ainsi que de la surface du massif de cétones triterpéniques dans sa totalité (temps de rétention compris entre 50 et 60 minutes). Nous avons ensuite procédé au calcul de la proportion de chaque composé par rapport au massif complet des cétones triterpéniques et ce, pour chaque résine. Les résultats sont représentés graphiquement dans la Figure 3.15.

Dans un premier temps, un certain nombre de résultats significatifs apparaissent lors de la comparaison des graphiques obtenus pour les échantillons frais:

- Comme nous l'avons déjà noté précédemment, la résine du genre *Shorea* ne renferme pas de bétulonol **T34** (cf. 3.3.2.b). Il apparaît par ailleurs que celle-ci ne renferme pas non plus les aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43**.
- Si des différences caractéristiques sont observées parmi les résines du genre *Dipterocarpus*, celles observées entre deux résines de même espèce, collectées à la même période et au même endroit, sur des arbres différents (1884/1888 et 1885/1886) n'apparaissent pas réellement significatives.

- La fraction des cétones triterpéniques de la résine appartenant à l'espèce *Dipterocarpus obtusifolius* Teysm (1882), ne renfermant qu'une faible proportion de bétulonol **T34**, est largement dominée par la dammaradiénone **T26**. Cette résine semble également être caractérisée par l'absence des aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43**.
- Les résines de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri* (1884 et 1888) sont quant à elles caractérisées par de grandes proportions de dammaradiénone **T26** et de bétulonol **T34**. Dans les deux échantillons, nous notons la présence des aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43** dans des proportions relatives similaires (près du double d'aldéhyde oléanonique par rapport à l'aldéhyde ursonique).
- Les fractions de cétones triterpéniques des résines de l'espèce *Dipterocarpus intricatus* Dyer (1885 et 1886), dominées par le bétulonol **T34**, semblent être caractérisées par la présence de quelques composés seulement, dont les aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43** ne font pas partie.
- Il est également à noter qu'aucune des cinq résines du genre *Dipterocarpus* ne renferme les α - et β -amyrénones **T29** et **T27**, présentes en proportions non-négligeables dans la résine du genre *Shorea*.
- Aucune des six résines fraîches collectées directement après exsudation ne renferme les cétones suivantes : oléana-9(11),12-diène-3-one **T23** et ursa-9(11),12-diène-3-one **T24**.

Toutes ces observations sont récapitulées dans le Tableau 3.4.

	T26	T27 / T29	T34	T42 / T43
<i>Shorea guiso</i> Blume (1880)	+	+	-	-
<i>D. obtusifolius</i> Teysm (1882)	+	-	+	-
<i>D. cf. dyeri</i> (1884 / 1888)	+	-	+	+
<i>D. intricatus</i> Dyer (1885 / 1886)	+	-	+	-

Tableau 3.4 Caractéristiques des dammars fraîches selon les espèces.

Au vu de ces résultats, il apparaît que l'échantillon de calfatage récent de thuyên thúng (1894) est proche d'un point de vue moléculaire des résines de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri*.

Comme nous l'avons déjà signalé auparavant, la composition moléculaire des dammars se complique grandement avec l'altération (Figure 3.16). De nouveaux composés apparaissent, d'autres disparaissent et une tendance générale de variations des proportions relatives de l'ensemble de ces composés est observée. Cependant, certaines caractéristiques permettent tout de même l'attribution d'une taxonomie à des échantillons d'origine inconnue.

- La dammar contenue dans l'échantillon 1873 semble très proche d'un point de vue moléculaire de *Dipterocarpus intricatus* Dyer, en particulier de l'échantillon 1886 : on y retrouve la nor- α -amyronone **T28**, la lupénone **T30**, l'oléan-13(18)-èn-3-one **T33** et le bétulonol **T34** dans les mêmes proportions relatives.

- La dammar présente dans l'échantillon 1874, provenant comme l'échantillon 1873 de la cargaison de l'épave du Brunei, semble appartenir à une espèce différente du genre *Dipterocarpus* (présence du bétulonol **T34**).

La présence des aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43** indique qu'il pourrait s'agir de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri* (profil triterpénique proche de celui de 1884). Cette assignation est en accord avec l'appartenance de cette résine au groupe I défini par Bisset (*cf.* paragraphe 3.2.2.2 ; Bisset *et al.*, 1966).

- La dammar constituant l'échantillon 2307 présente un profil triterpénique très similaire à celui de l'échantillon archéologique 1873 (présence des mêmes cétones dans des proportions relatives similaires) : il pourrait donc s'agir là encore de dammar de l'espèce *Dipterocarpus intricatus* Dyer.

- L'échantillon 2308, provenant comme l'échantillon 2307 du site terrestre de Khao Sam Kaeo, appartient sans aucun doute à une espèce différente du genre *Dipterocarpus*. L'assignation d'une espèce à cet échantillon se révèle plus complexe que pour les échantillons précédents mais la présence des aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43** pourrait

constituer une piste : 2308 pourrait provenir d'une espèce très proche d'un point de vue moléculaire de *Dipterocarpus cf. dyeri*.

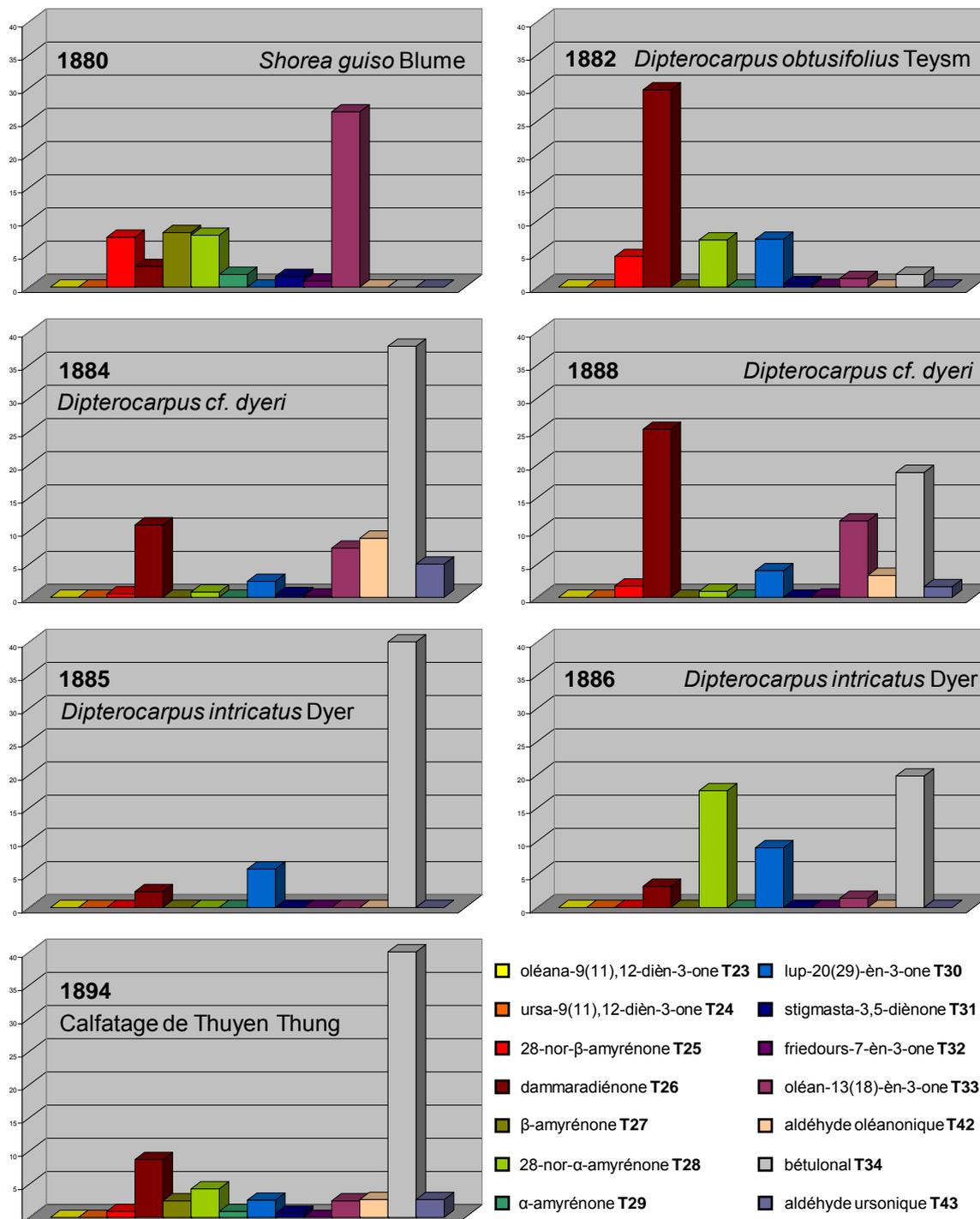


Figure 3.15 Quantification relative des cétones triterpéniques des échantillons actuels.

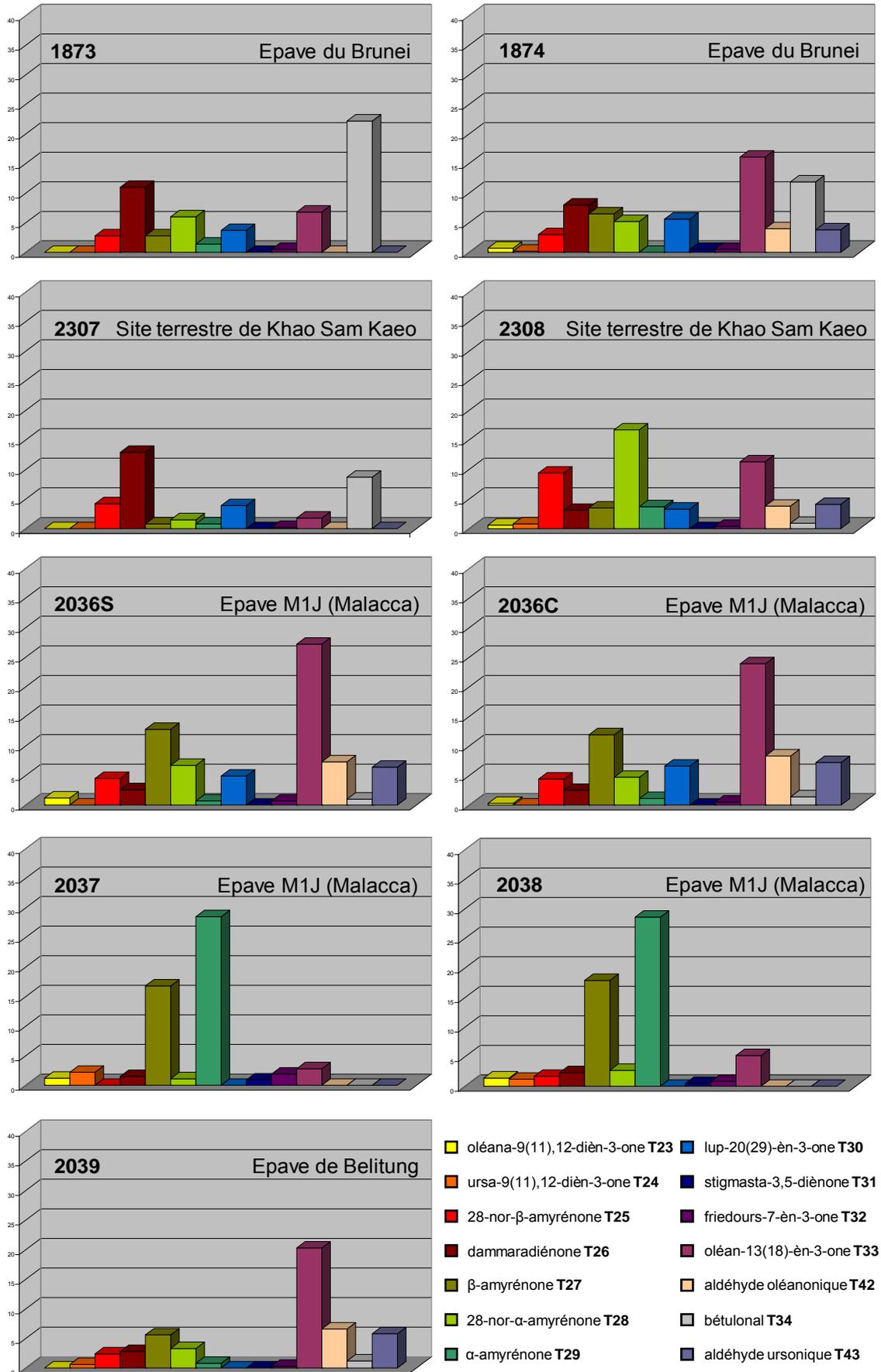


Figure 3.16 Quantification relative des cétones triterpéniques des échantillons archéologiques.

- Les compositions en cétones triterpéniques des prélèvements de surface et de cœur de l'échantillon 2036 apparaissent très similaires.

La dammar présente dans l'échantillon 2036 appartient très probablement au genre *Dipterocarpus* (présence de bétulonol **T34**) : il pourrait s'agir d'une résine proche de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri*, assignation en accord avec l'appartenance de cette résine au groupe I défini par Bisset (*cf.* paragraphe **3.2.2.2** ; Bisset *et al.*, 1966).

- Les dammars des échantillons 2037 et 2038, aux profils similaires, n'appartiennent très probablement pas au genre *Dipterocarpus* (absence du bétulonol **T34**). Il pourrait s'agir de résines du genre *Shorea* (d'une espèce autre que l'espèce *Shorea guiso* Blume) ou d'un autre genre de la famille des Dipterocarpaceae non étudié dans le cadre de ce travail.

- Hormis l'absence de lupénone **T30**, l'échantillon 2039 provenant de l'épave Belitung du 9^{ème} siècle présente un profil très similaire à celui de l'échantillon 2036 retrouvé aux abords de l'épave M1J datant du 16^{ème} siècle. Cette assignation est en accord avec la détermination de l'appartenance de cette résine au groupe I (*cf.* paragraphe **3.2.2.2** ; Bisset *et al.*, 1966).

Il semblerait donc que l'usage de quantification relative des composés présents dans les fractions des cétones triterpéniques soit un outil fournissant de précieuses informations taxonomiques.

3.3 Particularités de certains échantillons

3.3.1 Technique de gemmage

Dans la fraction apolaire de la résine 2307, nous avons mis en évidence la présence d'anthracène **A1**, de fluoranthène **A2** et de pyrène **A3** (Figure 3.17). Ces composés sont des produits pyrolytiques typiques provenant de la combustion incomplète de la matière organique.

Ils ont très probablement été produits au cours du processus de gemmage, par l'usage d'un feu de ravivage permettant de stimuler le flux de résine (*cf.* Chapitre 2). Ce brûlage explique à la fois la détection de fragments charbonneux dans cet échantillon lors des analyses

palynologiques et sa couleur très foncée par rapport aux autres échantillons archéologiques étudiés. Les distributions non caractéristiques des alkylbenzènes ne semblent pas indiquer une carbonisation très poussée de la résine.

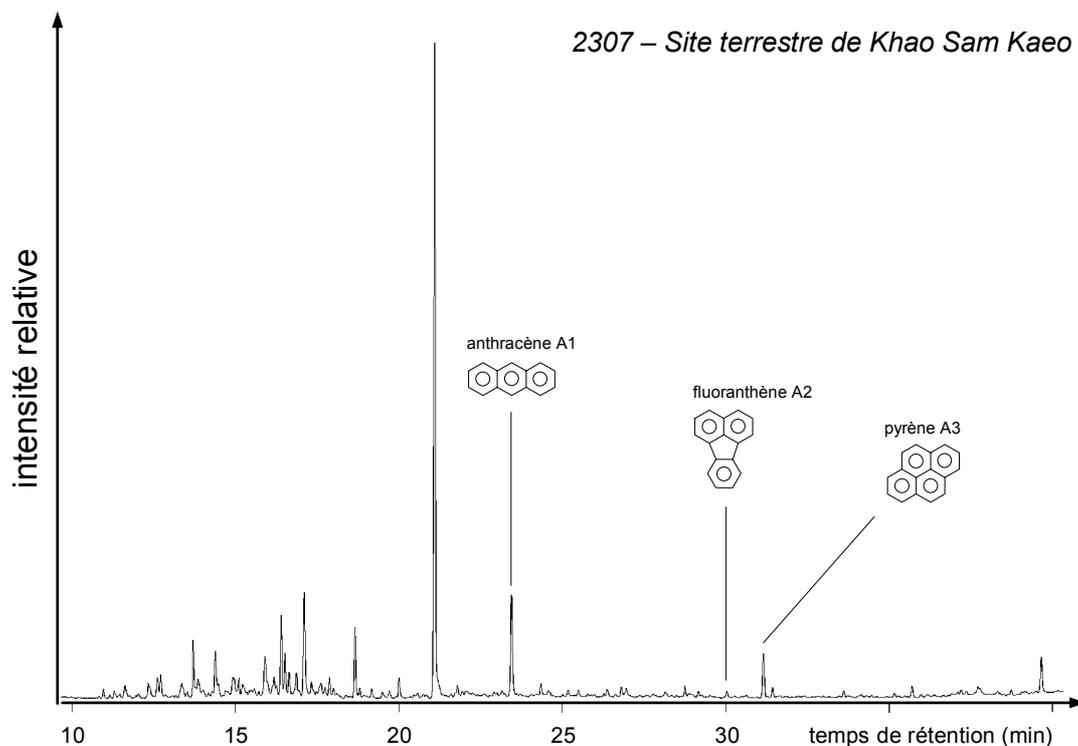


Figure 3.17 Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction apolaire de l'échantillon 2307.

De tels composés n'ont été mis en évidence dans aucun autre échantillon analysé dans le cadre de ce travail et n'ont particulièrement pas été détectés dans l'échantillon 2308 provenant du même site d'excavations, ce qui suggère l'usage de deux techniques de gemmage différentes pour la collecte des échantillons 2307 et 2308.

Il est également possible que la même technique de gemmage par brûlage ait été utilisée pour ces deux échantillons ; l'absence de produits pyrolytiques dans l'échantillon 2308 pouvant alors être expliquée par la collecte de celui-ci avant ravivage du flux résineux.

3.3.2 Présence de soufre

Lors de notre étude, nous avons mis en évidence la présence de soufre élémentaire dans les échantillons archéologiques 1873, 1874, 2037 et 2038. La première hypothèse émise pour expliquer la présence de ce composé dans ces échantillons est que celui-ci y a été ajouté au moment de leur préparation comme traitement anti-vermine.

Dans le cas des échantillons 2037 et 2038, ce composé pourrait également provenir de résidus de poudre relargués lors de l'explosion de la chambre à poudre du navire portugais (épave M1J).

Toutefois l'hypothèse la plus vraisemblable dans tous les cas, est que la présence de soufre serait plutôt due à une contamination des échantillons par le milieu marin ambiant : du sulfure d'hydrogène (H_2S), préalablement produit par des micro-organismes marins par réduction du sulfate (SO_4^{2-}) présent dans les sédiments, serait oxydé en soufre élémentaire avant d'être rejeté dans le milieu et de se déposer sur les épaves et par conséquent sur les échantillons. Un tel phénomène a déjà été observé dans les poix provenant respectivement des quilles des épaves gallo-romaines Baie de l'amitié et Barthélémy B (Dalvai, 2007).

Le même processus a été mis en évidence sur l'épave du Vasa à Stockholm, dont la surface des bois de construction renfermaient de 0,2 à 6% de soufre (Hall Roth, 2003).

4 Echantillons composites

4.1 Présence de poix

Comme nous l'avons signalé précédemment, le comportement chromatographique des échantillons 2037 et 2038 suggère que ceux-ci ne correspondent pas à des dammars pures mais qu'il s'agit en réalité plutôt de matériaux composites.

Un examen attentif des chromatogrammes des fractions apolaires de ces échantillons révèle la présence de composés diterpéniques que nous avons identifiés sur la base de leur spectres de masse (Philp, 1985).

Nous avons ainsi identifié les 18- et 19-norabiéta-8,11,13-triènes **D3** et **D4**, le 19-norabiéta-3/4,8,11,13-tétraène **D7**, le 1,2,3,4-tétrahydrorétène **D6** et la simonellite **D5**. Nous y avons également mis en évidence la présence de rétène **D1** et de méthylrétène **D2** provenant tous deux du réarrangement thermique de l'acide abiétique.

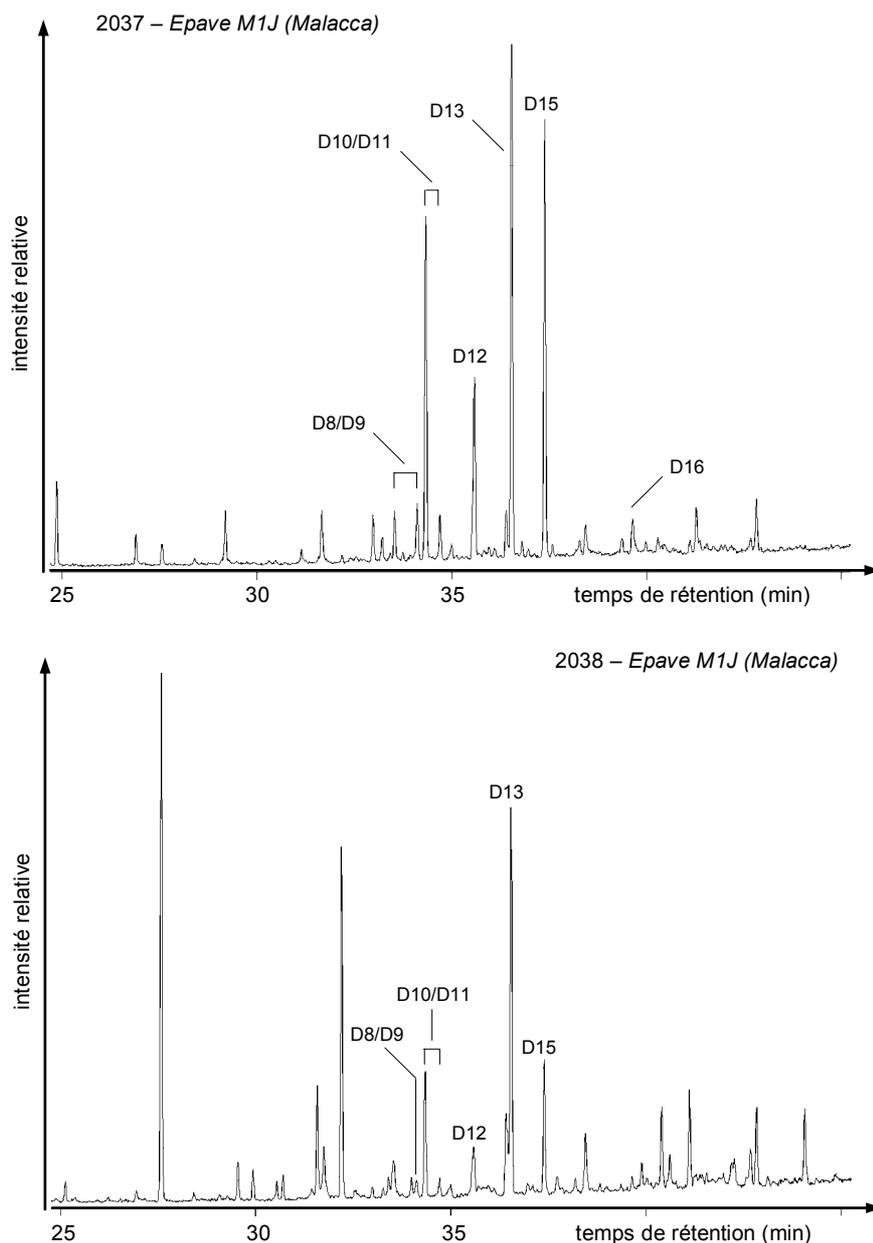


Figure 3.18 Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions dérivées des acides des échantillons 2037 et 2038.

D'autres dérivés de l'acide abiétique et de l'acide pimarique ont également été détectés dans les fractions des acides de ces deux échantillons (Figure 3.18). Tous ces composés sont des marqueurs moléculaires typiques des poix, indiquant ainsi la présence de ce matériau dans ces deux échantillons (Connan *et al.*, 2002; Connan and Nissenbaum, 2003).

La poix est un goudron produit par traitement thermique de bois de Conifères (chauffage lent dans un environnement pauvre en oxygène). Ce goudron a été très largement employé pour le calfatage de navires. Cette technique de production, déjà employée à l'époque gallo-romaine, s'est développée à une échelle quasi-industrielle à partir du 17^{ème} siècle, notamment en France, avec l'essor de l'industrie navale (Dalvai, 2007).

4.2 Présence de bitume

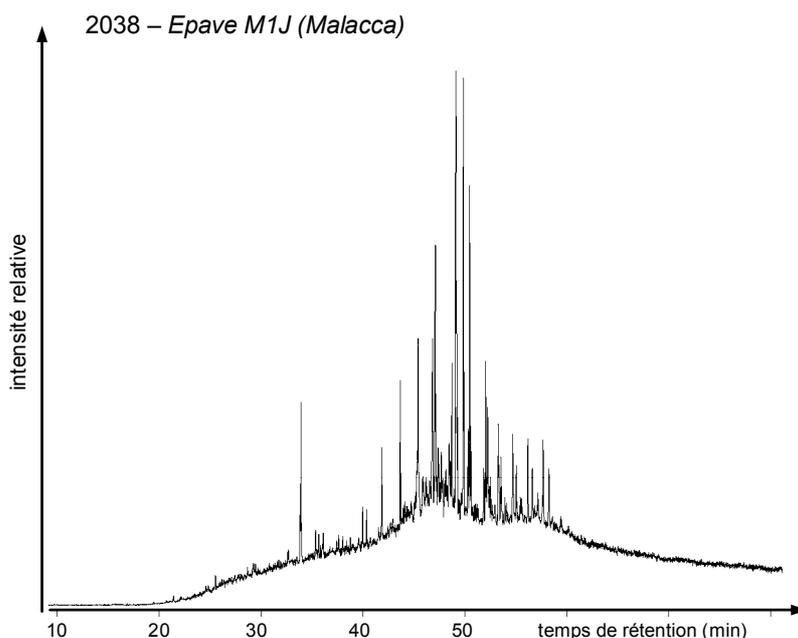


Figure 3.19 Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.

Une première étude du chromatogramme de la fraction apolaire de l'échantillon 2038 (Figure 3.19) y révèle la présence de stéranes et de hopanes, marqueurs moléculaires caractéristiques de bitumes pétroliers (Charrié-Duhaut, 1999; Peters *et al.*, 2005). Cet échantillon renferme donc du bitume, en plus de la dammar et de la poix.

Nous avons donc fractionné par chromatographie en couche mince la fraction F1 (élution au cyclohexane, *cf.* Partie expérimentale). La fraction des hydrocarbures saturés ainsi obtenue est couramment utilisée pour l'analyse des pétroles et des sédiments, car elle fournit de nombreuses informations quant à l'origine de la matière organique.

- Le fragmentogramme de masse m/z 217 (Figure 3.21) donne la distribution des stéranes qui sont issus de la transformation au cours de la diagenèse des stérols constituant des membranes lipidiques des organismes eucaryotes (Peters *et al.*, 2005). Leur structure tétracyclique joue un rôle essentiel dans la rigidité de ces membranes (Figure 3.20). La grande variabilité structurale de ces composés reflète directement celle des stéroïdes existants.

Les stéroïdes biologiques possèdent des stéréochimies particulières ($5\alpha(H)$, $14\alpha(H)$, $17\alpha(H)$, $20R$ ou $5\beta(H)$, $14\alpha(H)$, $17\alpha(H)$, $20R$) qui sous l'effet de la maturation vont évoluer vers des stéréochimies plus stables ($5\alpha(H)$, $14\beta(H)$, $17\beta(H)$). On observe également une épimérisation de la position 20 de R vers S.

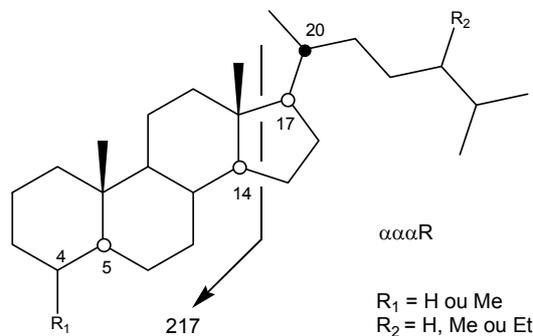


Figure 3.20 Structure des stéranes.

Parmi les stéranes de cet échantillon, nous distinguons la présence de stéranes à chaîne latérale courte : prégnane (C_{21}) et 20-méthylprégnane (C_{22}). Nous repérons également des stéranes à chaîne latérale longue (Figure 3.22) : les cholestanes (C_{27}), les 24-méthylcholestanes (C_{28}) et les 24-éthylcholestanes (C_{29}).

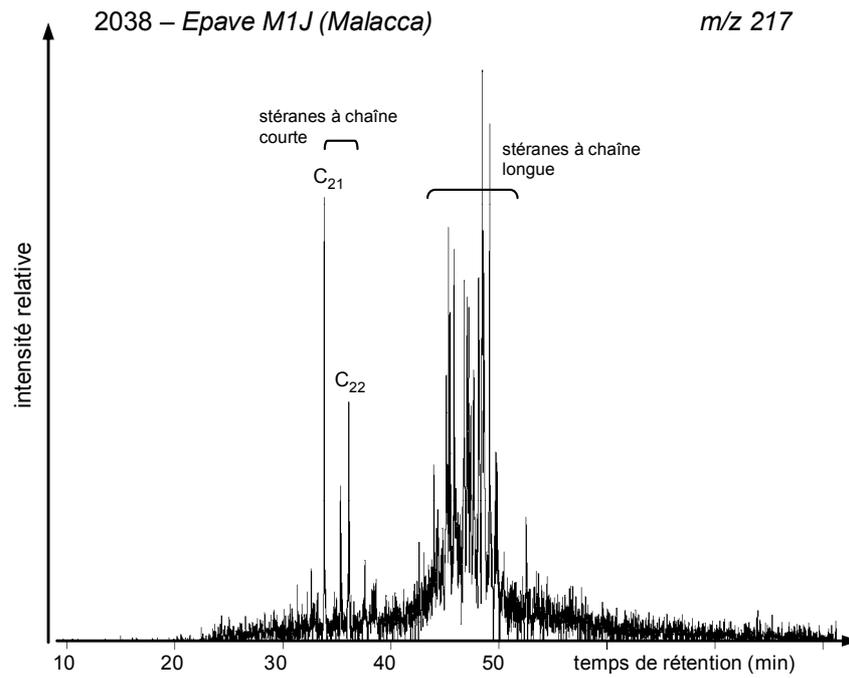


Figure 3.21 Fragmentogramme de masse m/z 217 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.

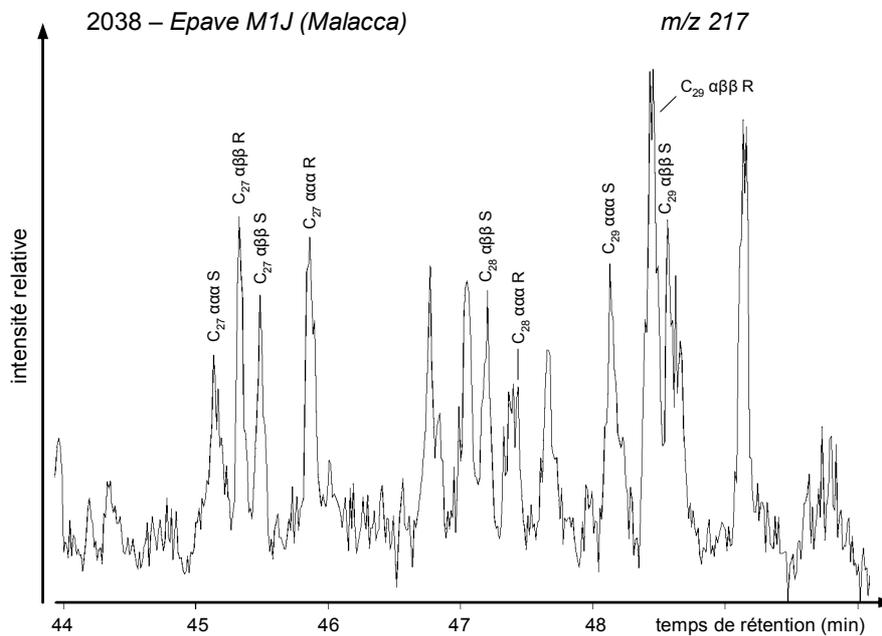


Figure 3.22 Fragmentogramme de masse m/z 217 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038 représentant les stéranes à chaîne latérale longue.

Les diastéranes, plus stables que les stéranes réguliers, ont été recherchés spécifiquement mais n'ont pas été mis en évidence dans l'échantillon 2038. Leur présence ou absence dépend de l'origine des bitumes : les blocs d'asphalte flottants de la Mer Morte ne renferment par exemple pas de diastéranes (Peters *et al.*, 2005).

- Les composés hopanoïdes sont des triterpènes pentacycliques jouant le rôle de renforteurs membranaires chez de nombreux organismes procaryotes (Peters *et al.*, 2005). Les marqueurs moléculaires qui en dérivent sont ubiquistes dans les sédiments : ils se présentent sous forme saturée (hopanes, Figure 3.23) ou sous la forme de dérivés aromatiques ou fonctionnalisés divers. Leur configuration originelle (17 β (H), 21 β (H)) va, comme celle des stéranes, évoluer vers une configuration plus stable, de stéréochimie $\beta\alpha$, puis $\alpha\beta$.

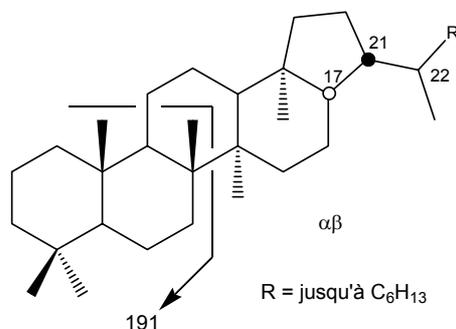


Figure 3.23 Structure des hopanes.

Les 17 α ,21 β -hopanes présentent une distribution s'étendant du terme C₂₉ au terme C₃₅, visible sur le fragmentogramme *m/z* 191 (Figure 3.24). La présence du hopane régulier en C₂₈ constitue un indice de milieu de dépôt carbonaté (Charrié-Duhaut, 1999). Le gammacérane, dont le précurseur potentiel est le tétrahymanol (mis en évidence dans des protozoaires et dans une bactérie), a été retrouvé en très faible quantité dans cet échantillon.

Ts/Tm	Gammacérane / C ₃₀ $\alpha\beta$ hopane	Gammacérane / C ₃₁ $\alpha\beta$ hopane 22R	Gammacérane / C ₃₂ hexahydrobenzohopane	C ₂₄ tétracyclique/ C ₂₃ tricyclopolyprénane
0,16	0,12	0,33	1,00	1,19

Tableau 3.5 Paramètres moléculaires du bitume détecté dans l'échantillon 2038.

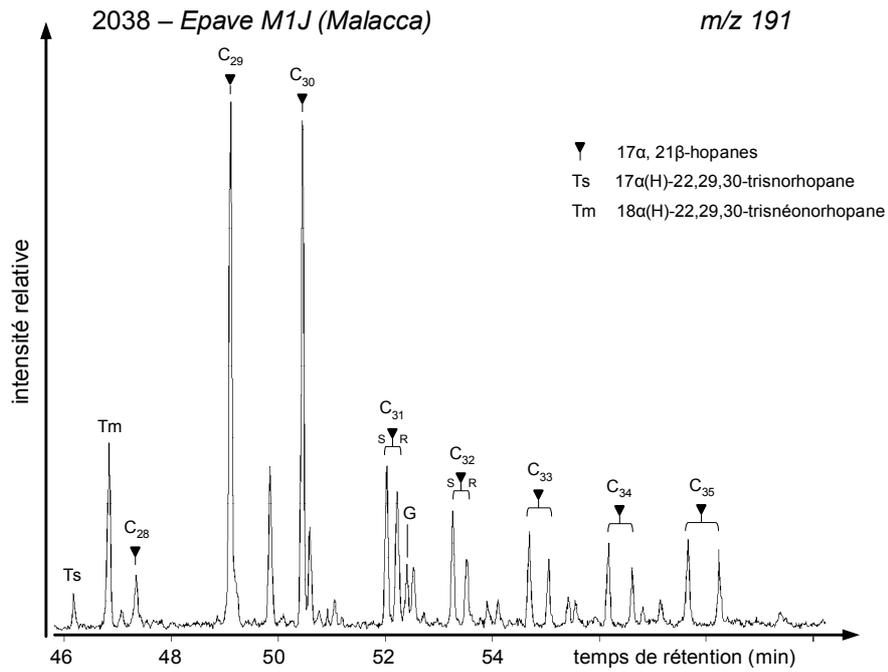


Figure 3.24 Fragmentogramme de masse m/z 191 de la fraction des hydrocarbures saturés de l'échantillon 2038.



Figure 3.25 Provenance du bitume détecté dans l'échantillon 2038.

Nous avons calculé un certain nombre de ratios présentés dans la littérature comme étant des indicateurs de l'origine du bitume (Tableau 3.5 ; Connan *et al.*, 2006, Connan and Nissenbaum, 2004). Il nous a ainsi été possible de déterminer que le bitume présent dans l'échantillon 2038 provenait soit de la région de Mossul, au nord de l'Iraq, soit de la plaine de Deh Luran, au nord-ouest de l'Iran (Figure 3.25).

5 Conclusions

Grâce à l'étude de résines de Dipterocarpaceae fraîches de taxonomie connue, nous avons au cours de ces travaux mis en évidence de nouveaux critères d'identification des dammars.

Nous avons ainsi déterminé que la présence dans la fraction F3 (composés polyfonctionnalisés dérivés), de l'association des acides 2,3-dihydroxyoléan-12-èn-28-oïque **T45**, 2,3-dihydroxyurs-12-èn-28-oïque **T46**, 2,3-dihydroxyoléana-2,12-dièn-28-oïque **T47** et 2,3-dihydroxyursa-2,12-dièn-28-oïque **T48** dans des proportions relatives bien spécifiques, semblait constituer un paramètre fiable de la présence de ces résines dans un échantillon organique. Ces composés résistant bien aux processus d'altération, nous avons ainsi pu confirmer la présence de dammar dans chacun des échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.

Nous avons également établi, au cours de cette étude, des critères d'identification générique et spécifique des résines de Dipterocarpaceae. Ainsi, au sein de cette famille, la présence du bétulonal **T34** semble être typique du genre *Dipterocarpus*.

Par ailleurs, nous avons établi des corrélations entre les profils du massif triterpénique de la fraction des cétones et certaines espèces. Là encore, ces paramètres sont valables pour des échantillons archéologiques et nous ont donc permis de proposer des taxons à certaines des dammars archéologiques de taxonomie inconnue étudiées dans le cadre de ce travail.

Cette étude nécessite bien évidemment l'analyse d'un nombre plus important d'échantillons frais provenant d'espèces diverses appartenant à un plus grand nombre de genres de cette famille. De cette manière, la validité des critères taxonomiques établis ici pourra être confirmée tandis que de nouveaux critères pourront être établis.

Notre protocole analytique étant également valable pour l'étude de matériaux archéologiques composites, nous avons établi la présence de poix dans l'échantillon 2037 et de poix et bitume dans l'échantillon 2038.

Ces échantillons provenant de l'épave portugaise M1J illustrent bien le phénomène d'acculturation : les portugais, familiers de l'usage de la poix pour le calfatage de navires, ont étendu leur savoir-faire à d'autres matériaux. Ils ont probablement assimilé l'usage des bitumes comme agent de calfatage au cours de leur passage dans le Golfe Persique : au cours du 16^{ème} siècle, Bahrain est une forteresse aux mains des Portugais qui contrôlent ainsi les routes maritimes du Golfe. Parallèlement, c'est au cours de leurs échanges commerciaux avec l'Asie, que les Portugais ont assimilé l'emploi des dammars comme agent de calfatage.

Chapitre 4

Etude des processus d'altération des résines de Dipterocarpaceae

Les matériaux organiques retrouvés dans des structures archéologiques ne sont souvent plus identifiables directement, en raison des profondes modifications physiques et chimiques auxquelles ils ont été sujets depuis leur abandon par l'homme. En revanche, leur composition chimique, témoignage direct de l'évolution de ces matériaux, révèle grâce à l'identification de marqueurs moléculaires spécifiques, de précieux indices permettant de retracer leur histoire aussi bien antérieure (modifications d'origine anthropique) que postérieure (altération d'origine naturelle) à leur abandon par l'homme (Regert, 2000).

La caractérisation de marqueurs moléculaires spécifiques nous permettra de mettre en lumière les transformations des matériaux liées à leur exploitation par l'homme, qu'il s'agisse de traitement thermique, de mélange à d'autres substances, etc. Ces manipulations qui induisent des modifications physiques et chimiques de ces matériaux, ont été réalisées dans l'optique d'optimiser leurs propriétés afin d'en faciliter la manipulation et d'en favoriser l'emploi. La compréhension des processus d'altération d'origine anthropique permet d'évaluer l'état des connaissances techniques d'une société à une époque donnée, autrement dit de reconstituer son savoir-faire et ses technologies.

Par ailleurs, la caractérisation des processus d'altération naturelle (biodégradation, oxydation, hydrolyse, etc.) permet dans une certaine mesure, de reconstituer l'environnement dans lequel ont été abandonnés les objets dans ou sur lesquels ont été trouvées ces substances et d'en évaluer le degré de conservation. Les processus de dégradation agissent de manière conjointe ; de ce fait, il est difficile de déterminer l'impact de chacun de ces processus indépendamment sur un ensemble de composés en particulier.

1 Effets de l'irradiation lumineuse et du traitement thermique

1.1 Etude bibliographique

Des études fondamentales de la composition moléculaire des dammars ont été entreprises au cours de ces dernières années afin d'interpréter d'un point de vue chimique, les phénomènes de jaunissement et de craquellement progressifs des vernis picturaux préparés à partir de résines triterpéniques, phénomènes fréquemment observés dans les musées (de la Rie, 1988a; van der Doelen *et al.*, 1998a; van der Doelen *et al.*, 1998b; van der Doelen, 1999; van der Doelen *et al.*, 2003). En effet, bien qu'appliqués à des fins de protection des

couches picturales, ces vernis ne constituent en réalité un rempart efficace que vis-à-vis de l'abrasion et des dépôts de poussière et de saletés. Les gaz, et notamment l'oxygène, diffusent librement dans ces vernis. De plus, ceux-ci ne contiennent pas de pigments capables d'absorber les radiations UV nocives (de la Rie, 1992). C'est pourquoi ces vernis, instables par nature, se détériorent rapidement sous l'effet de l'oxydation, ce qui constitue un véritable obstacle à la restauration des œuvres concernées. Cette opération de restauration consiste à retirer le vernis altéré et à le remplacer par un vernis frais. Or, l'oxydation des vernis mène à l'augmentation globale de la polarité de leurs constituants et par conséquent, à la diminution de leur solubilité. L'élimination de vernis requiert donc l'usage de mélanges de solvants polaires (contenant de l'acétone ou des alcools) qui peuvent causer des dommages conséquents aux couches picturales sous-jacentes (gonflements, etc.). Néanmoins, le nettoyage d'œuvres picturales (terme désignant cette opération dans le domaine de la restauration) est pratiqué depuis des siècles, simplement car il n'existe pas d'alternative (de la Rie, 2003).

D'après la littérature, le craquellement, le jaunissement et la perte de transparence des vernis sont le résultat de réactions radicalaires. Des expériences de photochimie générant un grand nombre de radicaux et d'autres espèces réactives ont par conséquent été entreprises afin d'élucider les mécanismes du vieillissement des résines de Dipterocarpaceae.

Plus récemment, des expériences de vieillissement accéléré par traitement thermique ont également été menées afin de mimer la dégradation des dammars au cours de leur chauffage avant application sur des coques de navires à calfater ou sur des céramiques utilisées notamment pour la conservation d'aliments (*cf.* chapitre 2).

Ces expériences servent également à caractériser la dégradation des dammars dont sont enduites certaines céramiques, se produisant au cours de la préparation de nourriture (cuisson).

Les résultats de ces simulations de dégradation photochimique ou thermique ont été suivies par spectrophotométrie UV-visible et IR (de la Rie, 1988a; Thomson, 1963), mais les principales études ont été menées par CG-SM (Colombini *et al.*, 2000; Dietemann, 2003; Lampert, 2003; van der Doelen, 1999).

1.1.1 Traitement thermique

Lampert, dans son étude des résines de Dipterocarpaceae appliquées sur des céramiques en Asie du Sud-Est, a réalisé des expériences de vieillissement artificiel par traitement thermique (Lampert, 2003). Pour cela, l'auteur a chauffé des tubes contenant de la dammar réduite en poudre à différentes températures s'échelonnant de 100 à 400°C (incrément de 50°C). Une première série de tubes scellés permet d'éviter de perdre les composés volatils ; la seconde série est constituée de tubes ouverts, représentant de cette manière plus fidèlement la réalité.

L'auteur indique qu'aux températures les plus basses (inférieures à 200°C), seules des modifications chimiques mineures prennent place. Elle observe essentiellement des variations légères des proportions relatives de certains composés. L'origine de ces variations n'est pas clairement déterminée, car si elles peuvent être dues à l'élévation de la température, elles peuvent également être liées à la nature non parfaitement homogène de ces échantillons, seulement partiellement fondus à ces températures. Des mesures de points de fusion des dammars commerciales employées pour ces expérimentations fournissent effectivement des valeurs s'échelonnant de 70 à 125°C, qui expliquent l'hétérogénéité de certains échantillons.

A mesure que la température augmente et par comparaison des chromatogrammes obtenus pour les différents tubes, Lampert observe une diminution significative des abondances relatives des composés résistants au traitement thermique, parallèlement à l'augmentation du bruit de fond des chromatogrammes. Alors que la dammaradiénone **T26** et la nor- β -amyronone **T25** semblent bien résister jusqu'à 350°C aussi bien en tubes scellés qu'en tubes ouverts, la nor- α -amyronone disparaît au-delà de 200°C dans les deux séries de tubes.

1.1.2 Irradiation lumineuse

Cartoni, dans le cadre de son étude de résines terpéniques employées dans le domaine de l'art, irradie des vernis de dammar dont la ou les espèce(s) n'est(ne sont) pas précisée(s) durant 22 jours. Pour cela, il utilise une lampe UV à vapeur de mercure (émission maximum à 320 et 370 nm) placée à une distance de 40 centimètres de ces vernis, à une température moyenne de 30°C. Le vieillissement de ces échantillons est achevé dans le noir durant 18 ans. Les analyses CG-SM sont ensuite réalisées sur l'échantillon total sans fractionnement préalable (Cartoni *et al.*, 2004).

Colombini expose à la lumière du jour des vernis de dammar du genre *Hopea* durant 6 mois. Les fractions neutres (cétones, alcools, composés polyfonctionnalisés peu polaires, molécules à chaîne latérale ocotillone ou lactone) et acides (composés polyfonctionnalisés plus polaires) obtenues après fractionnement des échantillons sont ensuite analysées par CG-SM (Colombini *et al.*, 2000).

Van der Doelen (1999) irradie durant 370h en présence ou non d'un filtre UV, des vernis similaires préparés à partir de dammar dont l'espèce n'est pas précisée. Au cours de cette même étude, l'auteur réalise également des expériences de vieillissement artificiel de dammar en solution (espèce non précisée). En partant du principe que les réactifs circulent librement dans une solution puisqu'ils ne sont pas limités par des taux de diffusion tels que ceux rencontrés dans des films solides (vernis), le taux de réaction en solution est supposé être plus important que dans des vernis. De cette manière, l'auteur s'affranchit des problèmes concernant l'irrégularité de surface de ces vernis, c'est-à-dire des problèmes de distribution non homogène de l'oxygène et de l'énergie lumineuse. Par ailleurs, les dommages photochimiques sont essentiellement des phénomènes de surface, ce qui implique que la composition d'un film n'est pas uniforme, alors que ce n'est pas le cas en solution (van der Doelen, 1999; van der Doelen and Boon, 2000).

Avant toute chose, il apparaît au cours de ces travaux que des composés stables vis-à-vis du traitement thermique se révèlent ici sensibles au traitement photochimique, et vice-versa.

Comme cela avait déjà été observé dans les expériences de traitement thermique, les abondances relatives des composés résistants aux processus photochimiques diminuent significativement (acide dammarénolique, acide oléanonique, acide ursonique, etc.), parallèlement à l'augmentation du bruit de fond. Les trois auteurs indiquent notamment que si les nor- α - et nor- β -amyrénones **T28** et **T25** sont relativement stables lors de tels traitements, les aldéhydes oléanonique et ursonique **T42** et **T43** disparaissent totalement. Par ailleurs, après irradiation de 6 mois, Colombini indique que, sans disparaître totalement, l'abondance de la dammaradiénone décroît de manière très importante. Cartoni, qui emploie des conditions de vieillissement plus drastiques, observe quant à lui la disparition totale de cette cétone après 40 jours d'expérimentation, alors qu'elle correspondait à l'un des composés majoritaires de la résine fraîche. Après une semaine d'irradiation de dammar en solution, Van der Doelen observe également la disparition de cette cétone.

1.2 Données expérimentales

Nous avons réalisé au laboratoire deux séries d'expérimentation de vieillissement artificiel de résines fraîches similaires à celles présentées précédemment : traitement thermique de vernis de dammar (du genre *Shorea*) et irradiation lumineuse de vernis de dammar (des genres *Shorea* et *Dipterocarpus*). Ces vernis sont préparés d'une manière similaire à celle employée pour la préparation de vernis picturaux, afin de mimer les phénomènes se produisant sur une toile. Pour cela, de la résine finement broyée est mise en solution dans un solvant (du DCM, ici) et déposée sur des lames de verre, avant évaporation de ce dernier (*cf.* Partie expérimentale). Cette préparation est également similaire à celle employée pour enduire des céramiques afin de les rendre étanches (*cf.* Chapitre 2).

Contrairement à ce qui a été présenté dans le paragraphe 1.1, les analyses CG-SM de ces échantillons ont été réalisées après fractionnement sur plaque (*cf.* Partie expérimentale) afin de caractériser de manière plus fine les effets de ces processus aux différentes polarités. Malheureusement, en raison de problèmes techniques, le spectromètre de masse du laboratoire n'a pas fonctionné durant une longue période et toutes les fractions obtenues n'ont pu être analysées par CG-SM. Les fractions des acides et des composés polyfonctionnalisés notamment, seront traitées ultérieurement.

1.2.1 Traitement thermique

Une série de tubes scellés sous atmosphère inerte contenant des vernis de dammars (*Shorea guiso* Blume) a été chauffée à 200°C et 300°C durant 9 heures (*cf.* Partie expérimentale).

Les profils des fractions apolaires et des alcools de ces échantillons ne présentent pas de modifications majeures. En revanche, comme mentionné dans la littérature, nous avons observé une diminution des proportions relatives individuelles des composés de la fraction des cétones de ces vernis (rapport entre la surface des pics individuels sur la surface du massif triterpénique des cétones, Figure 4.1).

Il apparaît tout d'abord que certains composés sont particulièrement stables dans ces conditions : les proportions relatives de la nor- β -amyrénone **T25**, la dammaradiénone **T26**, la β -amyrénone **T27** et la nor- α -amyrénone **T28** évoluent peu au cours de ces expériences. Ces

résultats sont en accord avec ceux de la littérature sauf dans le dernier cas. Lampert signale effectivement la disparition de la nor- α -amyrénone au-delà de 200°C en tubes ouverts comme en tubes scellés. La nor- α -amyrénone est un composé très minoritaire dans la dammar employée par Lampert et sa disparition pourrait être expliquée par une légère diminution de son intensité relative au cours de l'expérimentation, l'amenant ainsi en dessous de la limite de détection du spectromètre de masse utilisé.

Il semble en outre que l' α -amyrénone **T29**, la stigmasta-3,5-diène-7-one **T31** et la friedours-7-èn-3-one **T32** soient sensibles au traitement thermique (disparition dans le cas du traitement à 200°C). Nous remarquons également une nette diminution de l'abondance relative de l'oléan-13(18)-èn-3-one **T33** après traitement à 200°C ; l'augmentation ultérieure de la température ne semble plus avoir d'effet majeur sur cette cétone. Ces composés subissent probablement des réactions menant à la formation de produits d'altération triterpéniques de polarité plus importante (qui n'ont par conséquent pas été observés ici).

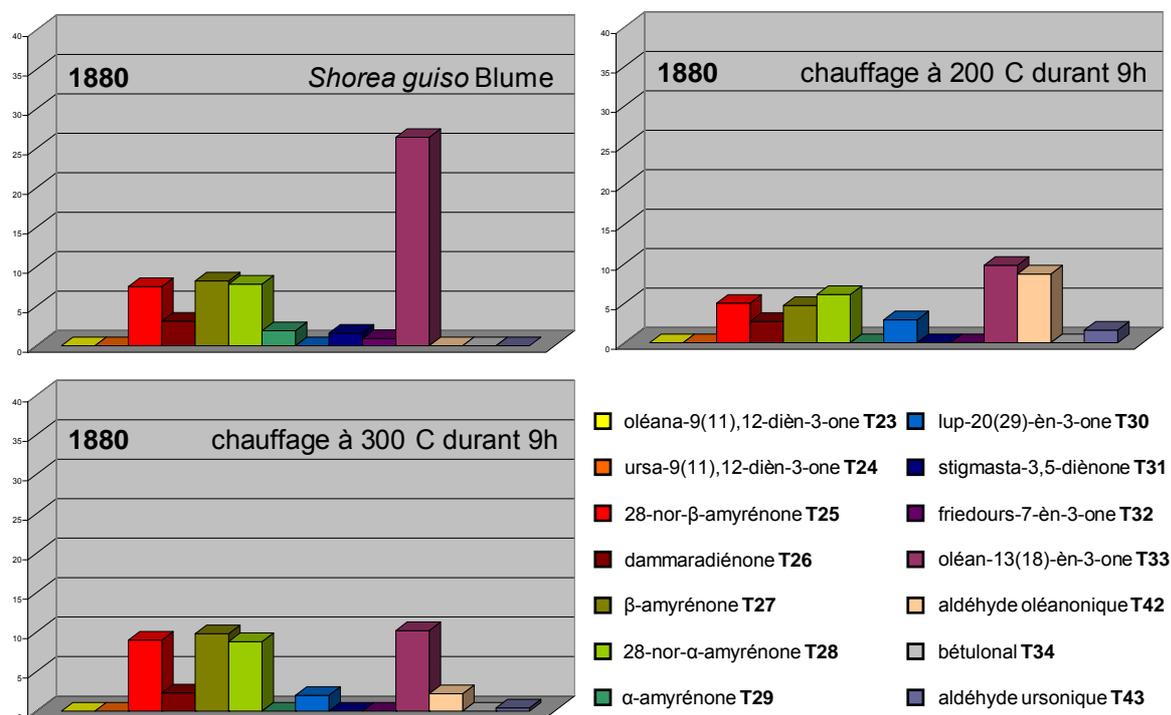


Figure 4.1 Quantification relative des cétones triterpéniques de vernis frais et après traitement thermique de 9h à 200°C et 300°C.

Après traitement à 200°C, nous notons également l'apparition de la lupénone **T30**, ainsi que des aldéhydes oléanonique et ursonique **T42** et **T43**. Il est tout à fait probable que ces composés soient présents dans la résine fraîche en faible quantité et qu'ils soient donc en dessous de la limite de détection de l'appareil. L'apparition de ces composés dans les vernis après traitement thermique pourrait également être expliquée par leur néoformation dans les conditions expérimentales de ces simulations. Enfin, les traitements thermiques de ces vernis étant réalisés en présence d'oxygène, ces composés pourraient encore résulter de processus d'oxydation dont les mécanismes ne sont pas connus.

1.2.2 Irradiation lumineuse

Des vernis préparés à partir de dammars des espèces *Shorea guiso* Blume (1880) et *Dipterocarpus cf. dyeri* (1884) sont placés sous tunnel de quartz et irradiés à l'aide d'une lampe à spectre lumière du jour durant 790 heures au contact de l'air (*cf.* Partie expérimentale). Ces vernis ont ensuite été fractionnés par CCM, avant analyse des fractions par CG-SM.

De la même manière que pour nos simulations d'altération par traitement thermique, aucune modification majeure n'est observée dans les fractions apolaires et des alcools de ces échantillons.

En revanche, des différences significatives apparaissant dans les profils des fractions des cétones, nous avons entrepris une étude comparative des proportions relatives des composés triterpéniques de ces fractions afin d'en déterminer le comportement vis-à-vis de processus photochimiques. Pour cela, nous avons réalisé des intégrations de la surface des pics individuels, ainsi que de la surface du massif de cétones triterpéniques dans sa totalité (temps de rétention compris entre 50 et 60 minutes) et avons calculé la proportion relative de chaque composé par rapport au massif complet. Les résultats représentés graphiquement dans la Figure 4.3 nous serviront ultérieurement à interpréter nos résultats concernant les échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.

Parmi les oxydants présents dans le milieu naturel et susceptibles de réagir avec la matière organique exposée aux conditions atmosphériques, l'oxygène triplet est le plus abondant. Il est caractérisé par deux électrons non appariés dans les orbitales π (Kearns, 1971)

et est connu pour participer à des réactions d'oxydation de type radicalaire. Ainsi, l'oxygène triplet est considéré comme responsable de la plupart des réactions d'autooxydation observées (Ingold, 1969; Korcek *et al.*, 1972; Voronenkov *et al.*, 1970). Les processus d'oxydation radicalaire à l'origine de ces réactions d'autooxydation des hydrocarbures font intervenir l'abstraction d'un atome d'hydrogène conduisant à un radical alkyle qui réagit avec l'oxygène triplet pour former un radical hydroperoxyde (Figure 4.2). Ce dernier peut ensuite abstraire un atome d'hydrogène sur un autre squelette d'hydrocarbure pour former un nouveau radical alkyle capable lui aussi de réagir. Cette séquence conduit ainsi à une réaction radicalaire en chaîne. Les peroxydes et les radicaux peroxydes intermédiaires peuvent être transformés en différentes espèces oxygénées tels que les acides, les alcools et les cétones, ou peuvent induire des ruptures de liaison (Perkel' *et al.*, 1994) conduisant à la formation de molécules oxygénées. Les positions les plus sensibles à ce type d'oxydation sont les positions benzyliques, allyliques et tertiaires qui conduisent toutes par abstraction d'un atome d'hydrogène, à des radicaux relativement stables.

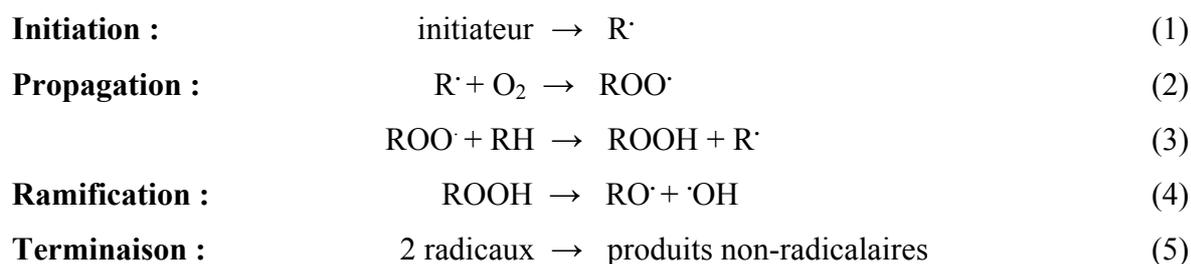


Figure 4.2 Mécanisme d'oxydation radicalaire des composés organiques (d'après Dietemann, 2003).

Cependant, l'oxygène triplet n'est, généralement, pas assez réactif pour abstraire un atome d'hydrogène, même sur des positions activées. C'est pourquoi des radicaux libres sont nécessaires pour initier ces réactions d'oxydation. Or, des radicaux libres sont généralement présents dans le milieu naturel. Les radicaux peuvent également être formés photochimiquement en présence d'initiateurs de radicaux comme par exemple, les cétones, en particulier, les cétones benzyliques (Kopecký, 1992).

A côté de l'oxygène triplet, plusieurs autres oxydants peuvent être responsables de la formation de composés oxygénés dans les matières organiques soumises à une altération atmosphérique. Ce sont par exemple, l'oxygène singulet, l'ozone, les radicaux hydroxyles et peroxydes, les superoxydes, les espèces nitrées de type NO_x, le peroxyde d'hydrogène (Aneja *et al.*, 1994; Cooper and Zika, 1983; Thompson, 1994), etc. Certains d'entre eux, bien que présents en faible concentration, sont ubiquistes (peroxyde d'hydrogène, dérivés nitrés), d'autres ne sont que des espèces transitoires mais hautement réactives (radicaux hydroxyles, oxygène singulet).

D'après les études précédemment menées, les processus radicalaires d'autooxydation sont à l'origine des modifications de la composition moléculaire des vernis picturaux au cours du temps (Dietemann, 2003). Ces processus d'autooxydation mènent ainsi à la disparition de certains composés et la formation de nouveaux produits contenant des groupements hydroxyles, carbonyles et acides carboxyliques ou des doubles liaisons (de la Rie, 1988a). Certains groupements fonctionnels sont plus sujets à ces réactions que d'autres, en raison de la présence de liaisons aisément rompues ou d'atomes d'hydrogène labiles : il s'agit principalement des groupements carbonyles, des doubles liaisons carbone-carbone, des atomes de carbone tertiaires (de la Rie, 1988b).

La plupart des composés identifiés dans les dammars contiennent entre autres, de tels groupements fonctionnels (Mills and Werner, 1955; Mills, 1956; Mills and White, 1977). Les phénomènes d'autooxydation participent donc à la complexité accrue de la composition moléculaire de résines altérées.

- Les réactions photochimiques sont fréquemment initiées au niveau du groupement carbonyle de composés triterpéniques. La lumière de longueur d'onde 275-295 nm induit la rupture homolytique de la liaison carbone-carbone située à proximité de ce groupement, entraînant l'ouverture du cycle correspondant (réaction de Norrish de type I), comme cela est présenté dans la Figure 4.4. Les réactions ultérieures des radicaux ainsi obtenus mènent à la formation de doubles liaisons et à l'oxydation en aldéhydes ou en acides carboxyliques (Zumbühl *et al.*, 1998).

De tels processus pourraient être à l'origine de la disparition de la stigmasta-3,5-diène-7-one **T31** après 360h d'irradiation et de celle du bétulonol **T34** dans la résine du genre *Dipterocarpus* après 790h d'irradiation (Figure 4.3). Ces processus pourraient également

expliquer la diminution nette de l'abondance relative de l'oléan-13(18)-èn-3-one **T33** après 360h d'irradiation lumineuse.

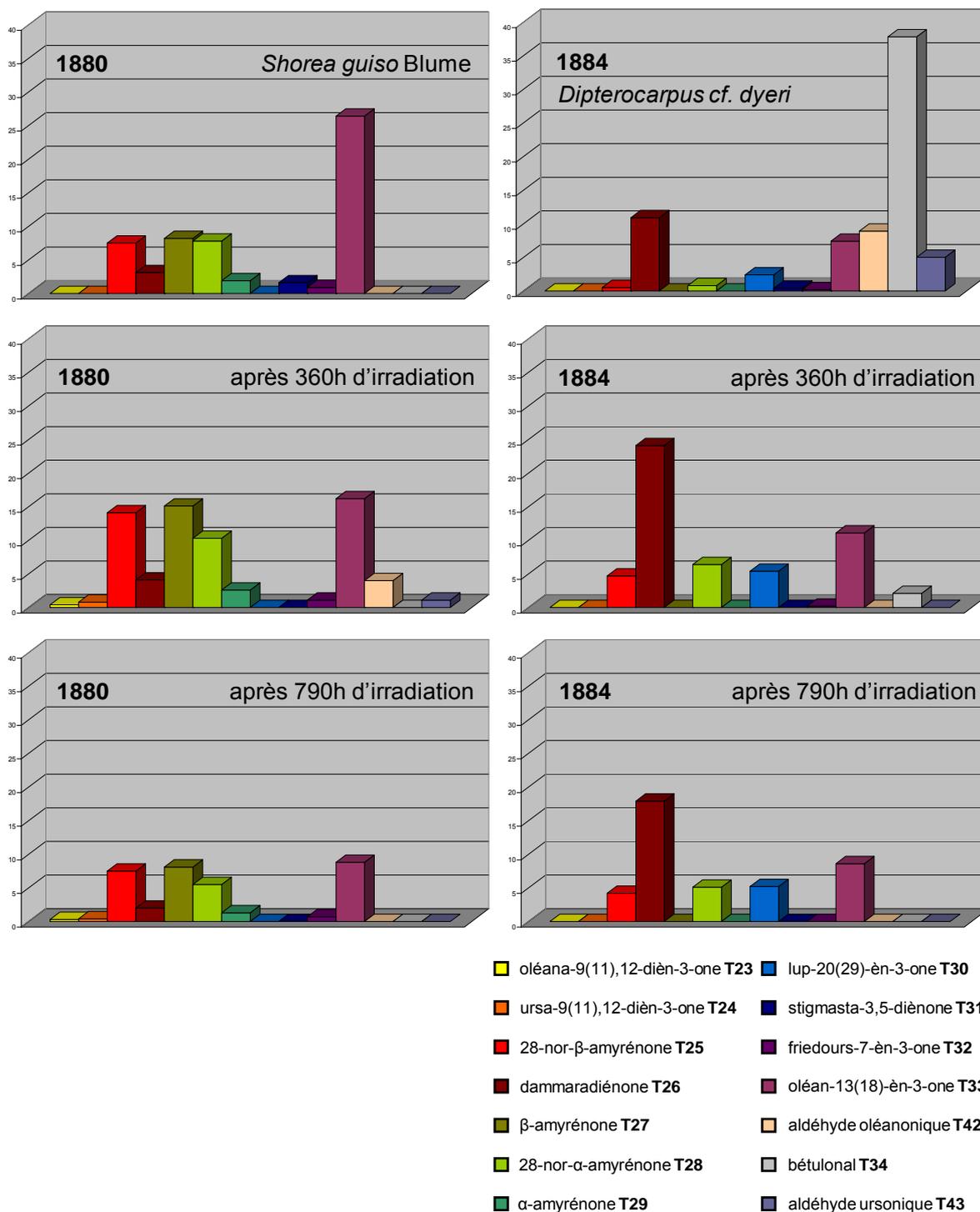


Figure 4.3 Quantification relative des cétones triterpéniques des dammars 1880 et 1884 fraîches et après irradiation de 360h et 790h.

Des produits d'oxydation plus polaires sont probablement générés suite à ces réactions : les fractions les plus polaires n'ayant pu être analysées, nous ne pouvons conclure à ce sujet. Il est par ailleurs précisé dans la littérature que la caractérisation par CG-SM d'un certain nombre de ces produits d'oxydation dans des résines altérées est problématique, car ils ne sont souvent eux-mêmes que des intermédiaires à la formation d'autres composés, disparaissant donc rapidement (Dietemann, 2003).

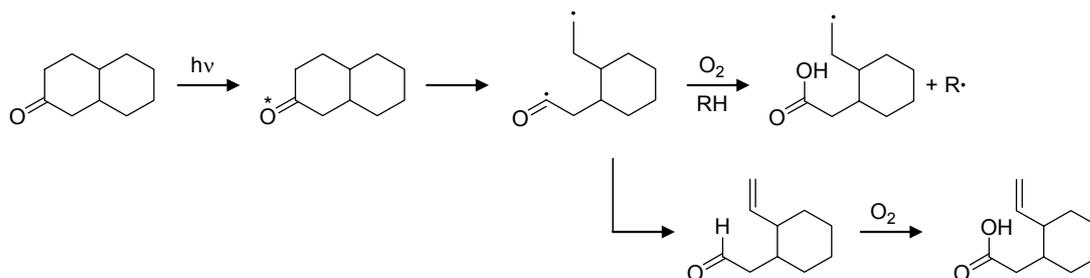


Figure 4.4 Réaction d'autooxydation initiée au niveau d'un groupement cétone (d'après Zumbühl et al., 1998).

- D'après de la Rie (1988), des radicaux alkoxy peuvent donner lieu à la formation de nouvelles cétones (1) ou, par rupture, à la formation d'aldéhydes, eux-mêmes facilement oxydés par la suite en acides carboxyliques (2), comme cela est présenté dans la Figure 4.5.

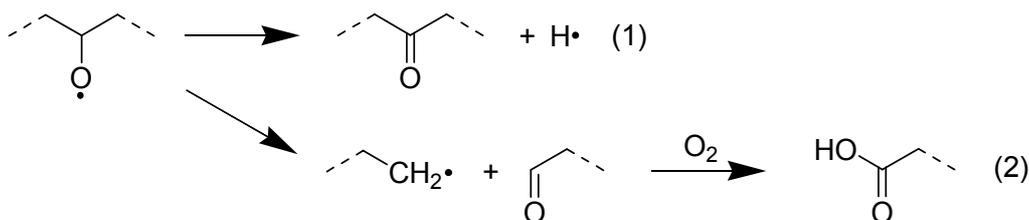


Figure 4.5 Formation de cétones et d'acides à partir de radicaux alkoxy (d'après de la Rie, 1988a).

Cette réaction radicalaire pourrait aisément expliquer la formation des aldéhydes oléanonique et ursonique **T42** et **T43** dans le vernis 1884 irradié durant 360h. Des précurseurs potentiels d'une telle réaction sont les alcools (C_{28} -OH) portant une fonction cétone ou alcool en position 3. De tels composés n'ont à notre connaissance, pas été retrouvés sous forme libre

dans les dammars. Il est possible qu'ils existent sous forme de saponines fréquemment isolées chez les dicotylédones, c'est-à-dire sous forme de composés mixtes résultant de la combinaison d'un sucre et d'un triterpène (Haralampidis and Osbourn, 2002).

Les saponines identifiées chez les végétaux supérieurs consistent en des triterpènes sur lesquels est fixé un sucre en position 3 par une liaison O-glycosidique. Elles sont essentiellement trouvées dans les tissus riches en substances nutritives comme les racines, les feuilles, les fleurs, les tubercules ou les graines, où elles servent très probablement de substances défensives, en particulier contre les insectes (Harmatha, 2000), les nématodes (Chitwood, 2002) et les attaques fongiques.

Des saponines dans lesquelles le sucre est fixé sur une fonction alcool en position 28, ont été isolées dans différentes espèces de la division des Angiospermes : *Gymnema sylvestre* de la famille des Asclepiadaceae (Yoshikawa *et al.*, 1991), *Centipeda minima* de la famille des Asteraceae (Gupta and Singh, 1990) ou encore *Stereospermum zenkeri* de la famille des Bignoniaceae (Lenta *et al.*, 2007). Il n'est pas impossible que de tels composés soient également présents chez les individus appartenant à la famille des Dipterocarpaceae et qu'ils constituent, après rupture de la liaison glycosidique, les précurseurs de ces aldéhydes oléanonique et ursonique.

Du fait de la présence de ces deux aldéhydes dans la résine fraîche 1880, il est tout à fait possible que ces composés soient également présents dans la résine fraîche 1884 mais en faible quantité, c'est-à-dire en quantité inférieure à la limite de détection de l'appareil. Par enrichissement relatif par rapport aux autres composés, ils apparaissent dans le vernis après 360h d'irradiation lumineuse.

- Sous l'effet de la lumière, nous notons la formation de l'oléan-9(11),12-dièn-3-one **T23** et de l'ursa-9(11),12-dièn-3-one **T24** dans les vernis 1880 irradiés (Figure 4.3).

Etant donnée l'absence de ces deux composés dans les vernis traités thermiquement (*cf.* paragraphe précédent), leur formation est très certainement photo-induite. Les β - et α -amyronones en sont des précurseurs éventuels qui, par réaction radicalaire, pourraient donner lieu à des intermédiaires réactionnels oxydés sur le cycle C, menant eux-mêmes à la formation des cétones **T23** et **T24** (Figure 4.6). La caractérisation de composés portant un groupement cétone additionnel en position 11 dans des vernis picturaux préparés à base de dammar semble conforter cette hypothèse (van der Doelen, 1999; van der Doelen and Boon, 2000).

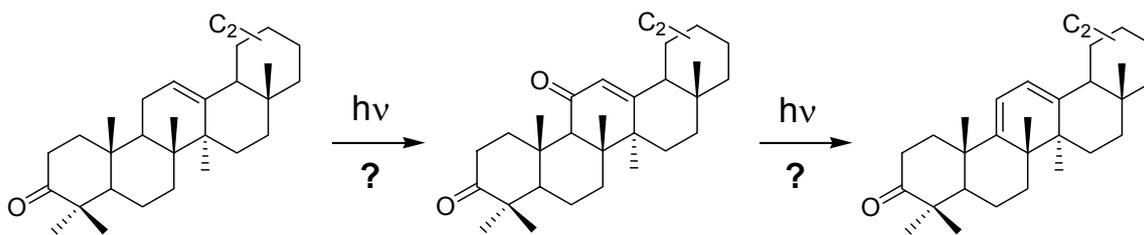


Figure 4.6 Mécanisme proposé pour la formation des oléana-9(11),12-dièn-3-one **T23** et urs-9(11),12-dièn-3-one **T24**.

- Au cours de nos expérimentations, il apparaît qu'un certain nombre de composés triterpéniques est stable vis-à-vis des processus d'altération photochimique. C'est le cas notamment des nor- α - et nor- β -amyrénones **T28** et **T25**, des α - et β -amyrénones **T29** et **T27**, de la lupénone **T30** et de la friedours-7-èn-3-one **T32**.

Nous remarquons que la proportion relative de la dammaradiénone **T26** demeure relativement inchangée au cours de nos expérimentations. La sensibilité de cette cétone aux processus photochimiques mentionnée dans la littérature s'y explique très probablement par la durée plus longue de l'irradiation subie (Colombini *et al.*, 2000) ou par des conditions plus drastiques du traitement lumineux (traitement aux UV, Cartoni *et al.*, 2004). Nos conditions expérimentales se voulaient proches des conditions d'exposition d'un vernis pictural en contexte muséal.

1.3 Echantillons archéologiques

* *Shorea guiso* Blume

Dans le chapitre 3, nous avons établi que les dammars constituant les échantillons 2037 et 2038 de l'épave M1J appartenaient à une espèce proche d'un point de vue moléculaire de l'espèce *Shorea guiso* Blume. Ainsi, par comparaison des profils de ces trois échantillons, nous remarquons que les composés les plus stables vis-à-vis des processus d'altération subis par 2037 et 2038 sont l' α -amyrénone **T29** et la β -amyrénone **T27**. Nous observons une inversion des abondances relatives de ces deux composés par rapport à l'échantillon frais : la β -amyrénone semble plus touchée par les processus d'altération subis que l' α -amyrénone, indiquant une altération préférentielle des dérivés de types β -amyrine par rapport aux dérivés de type α -amyrine, déjà soulignée par Wakeham (1980).

Les nor- α - et nor- β -amyrénones **T28** et **T25** présentes en proportions relatives à peu près égales dans la dammar fraîche, semblent relativement sensibles aux processus d'altération. Là encore, le dérivé de la série ursane semble plus résistant que son isomère, car alors que le premier est encore détecté dans l'échantillon 2037, le second y a totalement disparu.

La dammaradiénone **T26** et l'oléan-13(18)- \textasciitilde -3-one **T33**, bien que sensibles aux processus d'altération subis, ne disparaissent pas pour autant totalement.

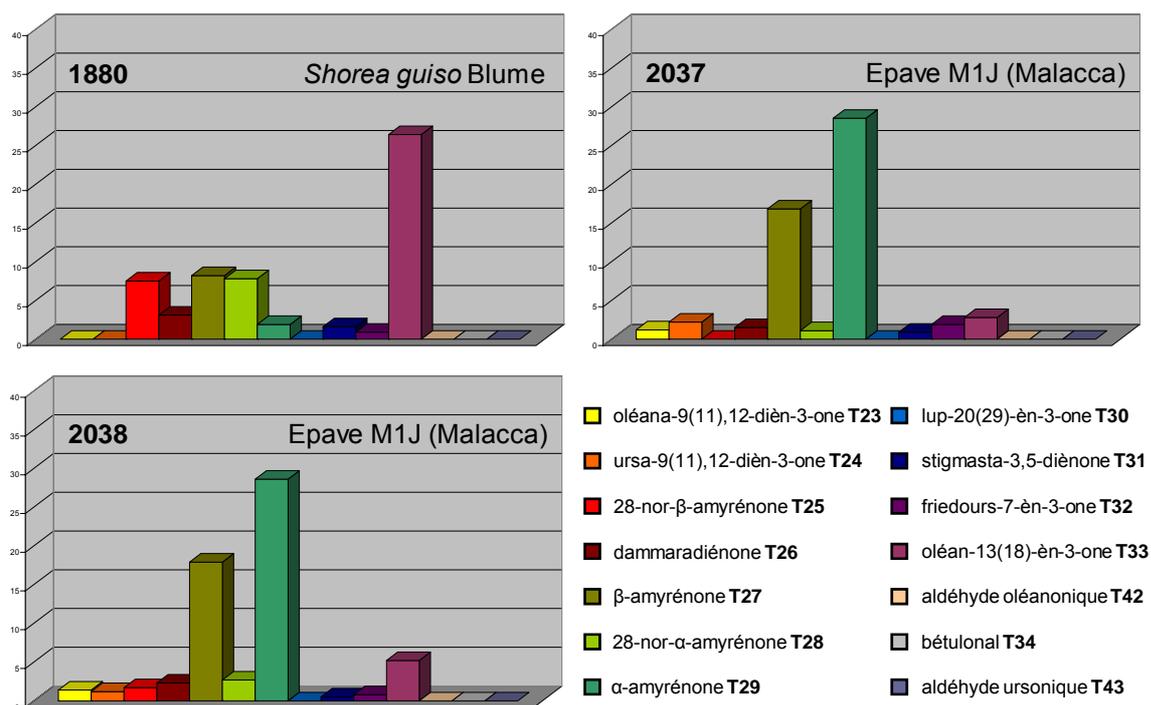


Figure 4.7 Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce *Shorea guiso* Blume et des échantillons archéologiques supposés contenir de la dammar de cette espèce.

Parmi les composés largement minoritaires présents dans l'échantillon frais, on remarque que si la stigmasta-3,5dién-3-one **T31** tend à disparaître sous l'effet de l'altération, la friedours-7- \textasciitilde -3-one **T32** semble plutôt bien y résister. Une telle tendance avait déjà été observée au cours de nos expériences d'irradiation lumineuse.

La présence dans ces échantillons archéologiques de l'oléana-9(11),12-dièn-3-one **T23** et l'ursa-9(11),12-dièn-3-one **T24** indique que ceux-ci ont probablement été soumis à des réactions radicalaires photo-induites.

L'échantillon 2037 semble plus altéré que l'échantillon 2038 étant donné que certains des composés sensibles vis-à-vis des processus d'altération subis par ces échantillons (nor- β -amyrénone) sont encore présents dans l'échantillon 2038, alors qu'ils ont disparus dans l'échantillon 2037.

* *Dipterocarpus cf. dyeri*

Dans le chapitre précédent, nous avons émis l'hypothèse que les dammars présentes dans les échantillons 1874, 1894, 2308, 2036C, 2036S et 2039 appartiennent à l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri* ou qu'elles proviennent d'espèces proches d'un point de vue moléculaire.

Il apparaît immédiatement que le betulonal **T34** est fortement affecté par les processus d'altération subis par les différents échantillons archéologiques et notamment par 2308, par rapport aux autres composés présents dans cette fraction des cétones triterpéniques. Il est intéressant de noter les comportements inverses de ce composé dans les deux échantillons prélevés sur le site terrestre de Khao Sam Kaeo (2307 et 2308) : dans l'échantillon 2307, ce composé semble bien résister à l'altération. L'environnement de dépôt ne semble donc pas en être la cause. Il est plus logique de penser que les différences observées à ce niveau sont à relier à l'histoire différente des deux échantillons avant leur abandon par l'homme. Nous avons déjà noté une différence majeure entre ces deux échantillons : 2307 a été collecté par brûlage, alors que rien n'abonde dans ce sens concernant l'échantillon 2308.

On observe une très bonne résistance de l'oléan-13(18)-èn-3-one **T33** qui domine la fraction des cétones triterpéniques de tous les échantillons retrouvés en contexte subaquatique.

Les nor- α - et nor- β -amyrénones **T28** et **T25**, et dans une moindre mesure, les aldéhydes oléanonique **T42** et ursonique **T43** semblent de manière générale bien résister aux processus d'altération.

Présentes toutes deux en très faibles proportions relatives dans la résine fraîche 1884, la stigmasta-3,5-dièn-3-one **T31** a disparu dans quasiment tous les échantillons archéologiques alors que la friedours-7-èn-3-one **T32** semble bien résister aux processus d'altération subis par ces échantillons archéologiques.

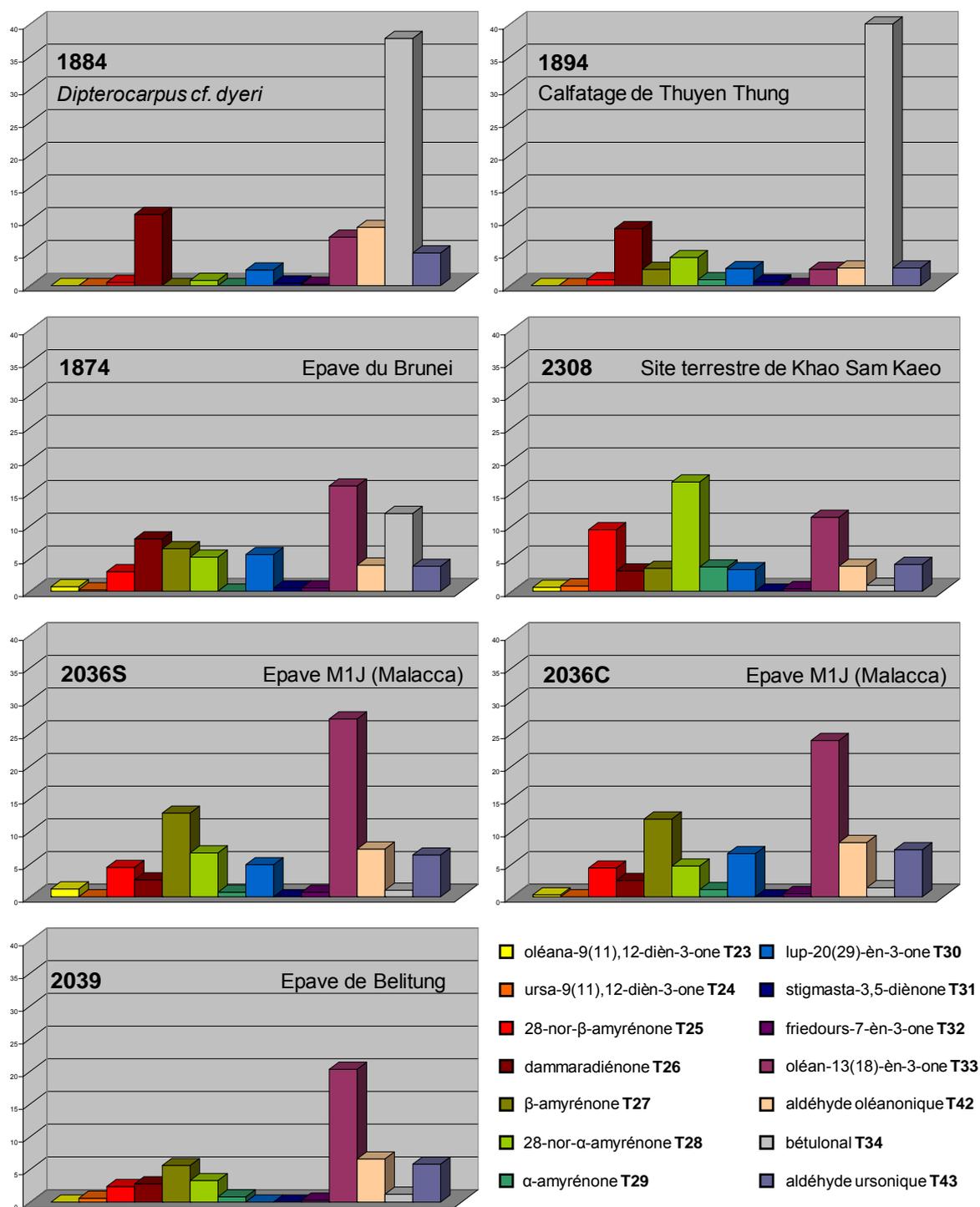


Figure 4.8 Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyer* et des échantillons archéologiques supposés contenir de la dammar de cette espèce.

Les α - et β -amyrénones **T29** et **T27**, non détectées dans la dammar fraîche, sont présentes dans les dammars archéologiques. Les mêmes hypothèses que celles énoncées dans le paragraphe précédent sont valables dans ce cas là, pour expliquer ce phénomène :

- Il est possible que les processus d'altération aient favorisé l'oxydation des précurseurs correspondants, à savoir les α - et β -amyrines **T40** et **T38**, présentes dans les fractions des alcools correspondantes.
- Il peut également être supposé que les dammars de ces échantillons archéologiques appartiennent à des espèces différentes mais tout de même proches de l'espèce *Dipterocarpus cf. dyeri* qui contiendraient ces deux cétones.

La lupénone **T30** qui semble bien résister aux processus d'altération puisqu'elle est présente dans les échantillons archéologiques 1874, 2308, 2036C et 2036S, n'est pas détectée dans l'échantillon 2039. Cette absence constitue probablement un indice de l'appartenance de la dammar de cet échantillon à une espèce proche de *Dipterocarpus cf. dyeri*, différente de celle des échantillons 1874, 2308, 2036C et 2036S.

Enfin, nous relevons la formation dans les échantillons archéologiques, de l'oléana-9(11),12-dièn-3-one **T23** et de l'ursa-9(11),12-dièn-3-one **T24**, probables témoins des réactions radicalaires photo-induites auxquelles ils ont été sujets. Il est intéressant de remarquer que ces composés ne sont pas isolés dans l'échantillon récent 1894 : la formation de ces cétones se déroule probablement sur des temps plus longs.

* *Dipterocarpus intricatus* Dyer

Nous avons supposé dans le chapitre 3 que les dammars des échantillons archéologiques 1873 et 2307 appartenaient à l'espèce *Dipterocarpus intricatus* Dyer ou à une espèce similaire du point de vue moléculaire. Le profil chromatographique de la fraction des cétones de cette espèce indique que par rapport aux autres résines étudiées, celle-ci ne renferme qu'un nombre restreint de composés.

La dammaradiénone **T26** et l'oléan-13(18)-èn-3-one **T33** semblent bien résister aux processus d'altération subis par ces échantillons archéologiques avant et après leur abandon par l'homme, puisque leurs proportions relatives augmentent comparativement à celles des autres composés présents dans les massifs correspondants.

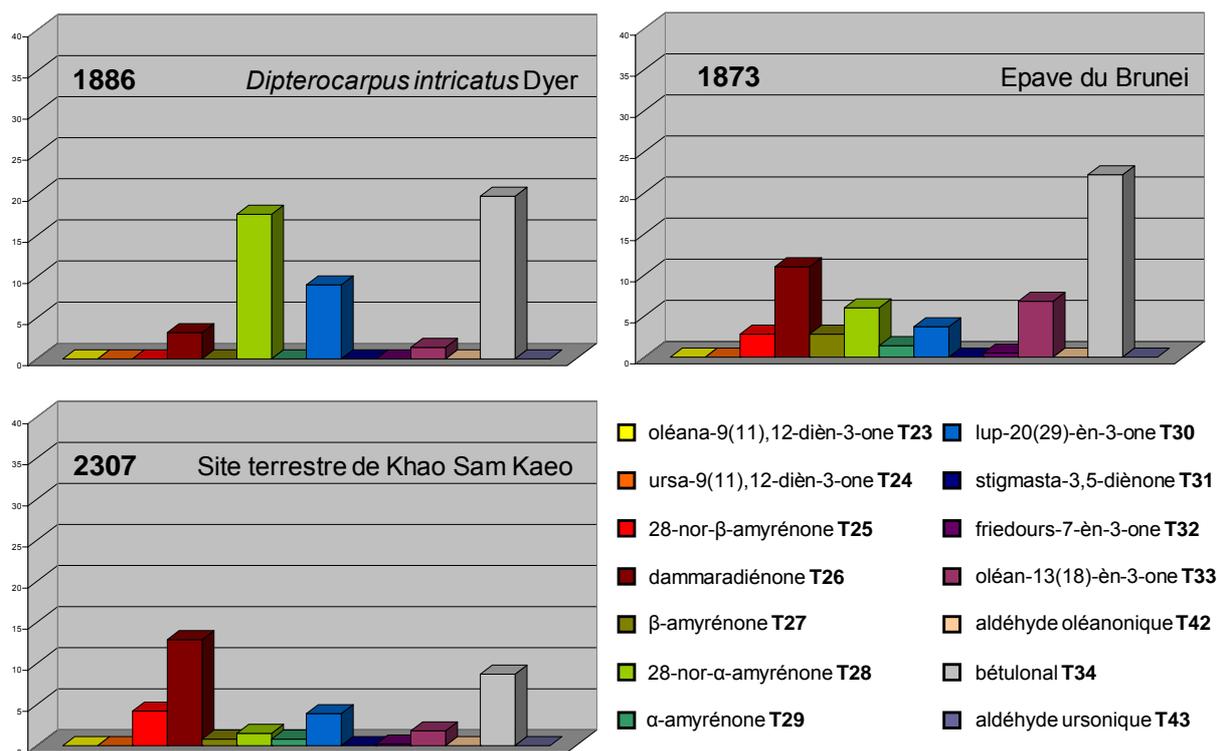


Figure 4.9 Quantification relative des cétones triterpéniques de l'espèce *Dipterocarpus intricatus* Dyer et de l'échantillon archéologique supposé contenir de la dammar de cette espèce.

En revanche, les proportions relatives du bétulonol **T34** et surtout celles de la nor- α -amyrénone **T28** et de la lupénone **T30** diminuant nettement au cours du vieillissement de la matière organique, ces composés semblent sensibles aux processus d'altération.

Ces échantillons archéologiques sont constitués d'un plus grand nombre de composés que la dammar fraîche. Si l'apparition des α - et β -amyrénones **T29** et **T27** peut être expliquée par l'oxydation des α - et β -amyrines présentes dans les dammars constituant ces échantillons, la présence de la nor- β -amyrénone **T25** et de la friedours-7-èn-3-one **T32** constitue plutôt un indice de l'appartenance de celles-ci à une autre espèce, proche de *Dipterocarpus intricatus* Dyer.

Enfin, l'absence de l'oléana-9(11),12-diènone **T23** et l'ursa-9(11),12-diènone **T24** semble indiquer une certaine protection, intentionnelle ou non, de ces échantillons vis-à-vis de l'irradiation lumineuse (conditions de stockage particulières à l'abri de la lumière). Les

échantillons 1874 et 2308 respectivement retrouvés dans les mêmes contextes archéologiques contiennent ces deux cétones. Il semble donc que la préservation des échantillons 1873 et 2307 date plutôt de périodes antérieures à leur abandon, mais ces différences peuvent être simplement dues à la différence d'espèces de ces échantillons : ces cétones sont éventuellement formées plus lentement dans certaines espèces que dans d'autres.

1.4 Conclusions

Aucun de nos échantillons archéologiques ne révèle d'indice d'un quelconque traitement thermique. Cette observation peut être aisément expliquée par le fait que les températures employées lors de nos expérimentations sont plus élevées que celles qui ont pu être atteintes au cours de la préparation des dammars. Or, peu de modifications du profil des cétones étant générées à ces températures élevées (200°C-300°C), le chauffage employé lors de la préparation d'enduits de calfatage ou d'étanchéification de céramique n'a probablement que peu d'impact au niveau moléculaire sur la fraction des cétones.

En revanche, les variations des profils des cétones des échantillons archéologiques par rapport à ceux des résines fraîches constituent des témoignages directs des réactions radicalaires photo-induites prenant place au cours de l'altération de ces échantillons. L'exposition à la lumière ne pouvant pas être totalement évitée au cours de l'histoire d'un échantillon de résine, certains échantillons semblent tout de même avoir été plus préservés que d'autres. C'est le cas notamment des échantillons 1873 et 2307 qui ne contiennent pas l'oléana-9(11),12-dièn-3-one **T23** et l'ursa-9(11),12-dièn-3-one **T24**.

Nous avons également noté l'apparition des α - et β -amyronones **T29** et **T27** dans certaines dammars archéologiques. Il est possible que les assignations spécifiques réalisées dans le chapitre 3 ne soient pas tout à fait correctes et que les dammars archéologiques appartiennent en réalité à des espèces différentes mais proches d'un point de vue moléculaire. Une autre hypothèse vraisemblable est que ces cétones soient formées par oxydation des α - et β -amyrines **T40** et **T38** présentes dans les fractions des alcools correspondantes. Dans l'échantillon récent 1894, la β -amyronone est présente en quantité plus importante que l' α -amyronone, indiquant l'oxydation préférentielle de la β -amyrine. Par la suite, nous observons d'une manière générale dans les échantillons archéologiques, la disparition préférentielle des composés de type β -amyrine, par rapport aux dérivés de type α -amyrine.

Sur la seule base de ces comparaisons des profils des fractions des cétones, nous ne pouvons pas établir une hiérarchisation des états d'altération des échantillons archéologiques. En effet, les différences observées au niveau moléculaire peuvent être directement liées aux espèces des dammars en présence. Seuls les échantillons 2037 et 2038 provenant tous deux de l'épave de Malacca, appartiennent à des espèces proches d'un point de vue moléculaire : 2037 semble plus altéré que 2038, car certains des composés sensibles aux processus d'altération sont encore présents dans ce dernier alors qu'ils ont totalement disparu dans l'échantillon 2037.

2 Biodégradation

Au cours de l'étude des fractions apolaires des échantillons archéologiques, nous avons mis en évidence un certain nombre de composés qui n'ont pas été isolés dans les résines fraîches. Ces composés ont été identifiés comme étant des produits de dégradation des triterpènes pentacycliques oxygénés en position 3, principalement produits par des végétaux supérieurs (Das and Mahato, 1983; Mahato and Sen, 1997; Pant and Rastogi, 1979). Nous avons ainsi identifié dans nos échantillons des des-A-triterpénoïdes, dérivés tétracycliques, ainsi que des dérivés pentacycliques polyaromatiques.

De nombreuses études concernant l'altération des triterpènes pentacycliques oxygénés en position 3 ont été menées au cours des dernières décennies (Corbet, 1980; Haven and Rullkötter, 1988; Lohmann, 1988; Rullkötter *et al.*, 1994; Spyckerelle, 1975; Ten Haven *et al.*, 1992; Trendel *et al.*, 1989). Ces transformations, appréhendées initialement sur la seule base d'identifications structurales, ont été confirmées par incubation dans un sédiment actuel de précurseurs radioactifs dont les résultats ont montré l'influence prépondérante de micro-organismes (Albrecht and Trendel, 1987; Lohmann *et al.*, 1990; Trendel, 1985).

Bien que les chaînes réactionnelles de dégradation de ces composés soient à l'heure actuelle encore incomplètes, un schéma intégrant les deux principales voies de transformation a pu être établi (Figure 4.10).

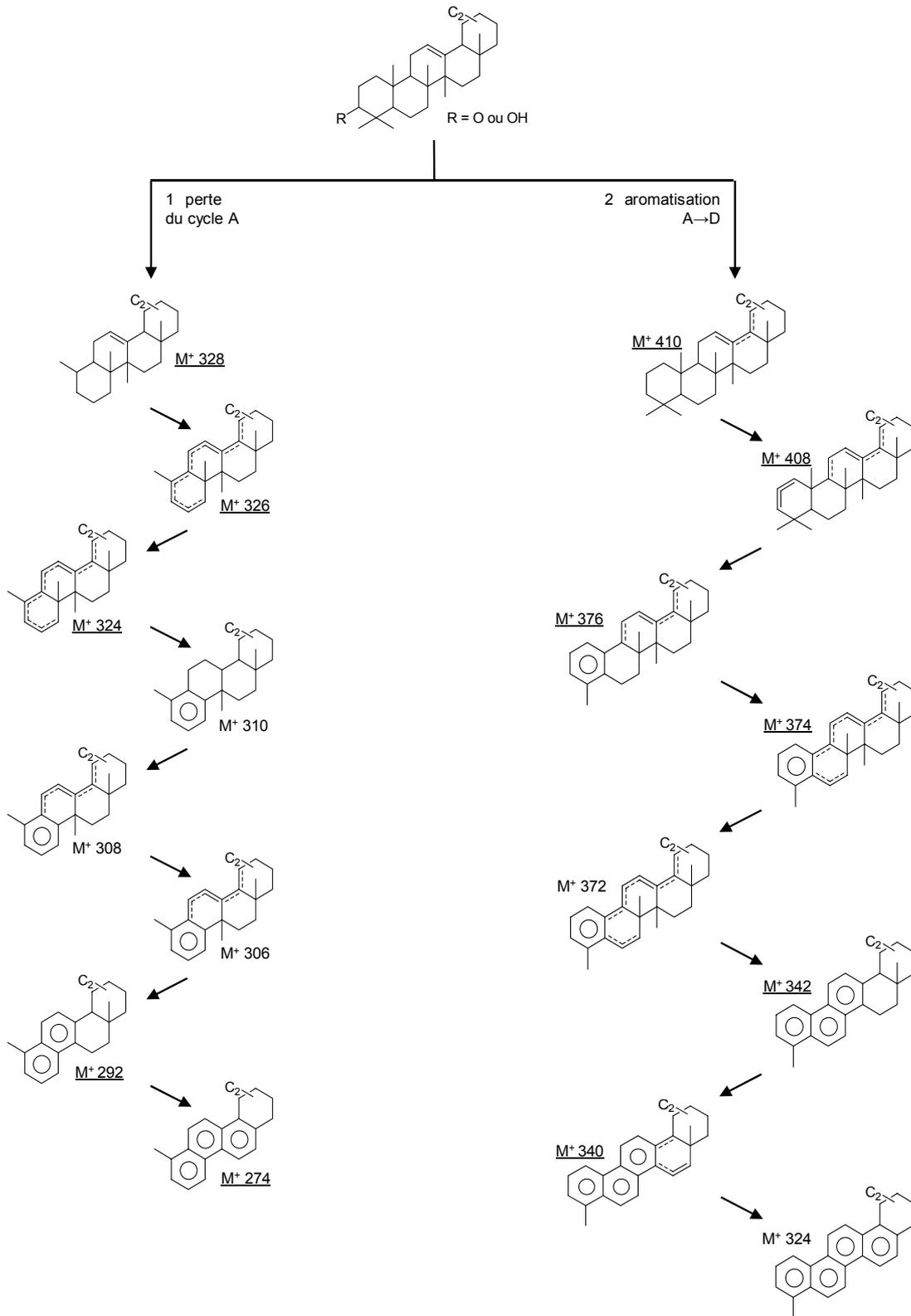


Figure 4.10 Voies de biodégradation des triterpènes pentacycliques de végétaux supérieurs (d'après Stout, 1992). Les composés dont les masses sont soulignées ont été détectés dans nos échantillons.

2.1 Les des-A-triterpénoïdes

Au cours de l'analyse des chromatogrammes des fractions apolaires extraites des échantillons provenant de l'épave du Brunei (1873 et 1874) et de l'épave M1J de Malacca (2036, 2037 et 2038), nous remarquons la présence d'un massif attribué à des composés dont les temps de rétention sont intermédiaires à ceux des hydrocarbures sesquiterpéniques et des hydrocarbures triterpéniques (33 à 42 minutes). Ces composés n'ont en revanche pas été mis en évidence dans les résines fraîches, ni dans les échantillons archéologiques provenant de l'épave de Belitung (2039) ou encore du site de fouilles terrestres de Khao Sam Kaeo (2307 et 2308). Il s'agit de triterpénoïdes tétracycliques, les des-A-triterpénoïdes. Ces composés présentant des masses moléculaires s'échelonnant de 274 à 330 u.m.a, intermédiaires à celles des composés sesquiterpéniques et triterpéniques, ont été identifiés par l'étude de leur fragmentation en spectrométrie de masse et par comparaison avec des données de la littérature (Corbet and Albrecht, 1980; Jacob *et al.*, 2007; Logan and Eglinton, 1994; Trendel *et al.*, 1989; Wakeham *et al.*, 1980). Des des-A-triterpénoïdes portant de 0 à 3 degrés d'insaturation supplémentaire(s) (masses de 330 à 324 u.m.a.), ainsi que quelques dérivés aromatiques correspondants (masses de 310 à 274 u.m.a) ont ainsi été caractérisés dans nos échantillons.

2.1.1 Etude bibliographique

Les des-A-triterpènes sont étudiés depuis quelques décennies en géochimie. Lors de travaux sur des sédiments anciens et récents, Spyckerelle *et al.* isolent le composé tétracyclique monoaromatique **A** appartenant à la série de l'oléane dont la structure est présentée dans la Figure 4.11 (Spyckerelle *et al.*, 1977b).

Parmi les composés aromatiques détectés dans ces sédiments, Spyckerelle a également identifié les dérivés tétracycliques **B** et **C** et a établi par comparaison avec des composés de référence synthétisés, qu'ils correspondaient respectivement à des dérivés di- et triaromatiques de la série de l'oléane. Ces deux derniers ont par la suite été identifiés dans les sédiments deltaïques de la Mahakam, Indonésie (Schaeffle, 1979) et de l'Amazone (Laflamme and Hites, 1978), ainsi que dans des sédiments marins profonds (Tissier and Dastillung, 1978) et plus récemment dans une tourbe acide de la région de Nancy (Ries, 1986).

C'est à cette époque qu'a également été déterminée la structure du composé **D** isolé dans une vase provenant d'une mare alsacienne (Spyckerelle *et al.*, 1977b), ainsi que dans les sédiments du lac de Washington (Wakeham *et al.*, 1980). A partir de sa fragmentation en spectrométrie de masse, il a été déterminé qu'il s'agit d'un dérivé tétracyclique triaromatique de la série du lupane.

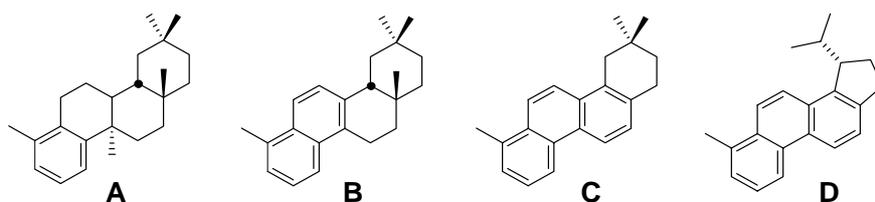


Figure 4.11 Triterpènes tétracycliques caractérisés par Spyckerelle *et al.* (1977a).

De nombreux auteurs ont suggéré que la séquence réactionnelle menant aux dérivés aromatiques démarrait par la perte du cycle A des triterpènes insaturés oxygénés en position 3, ubiquistes au sein du sous-branchement des Angiospermes. Ces derniers appartiennent majoritairement aux séries de l'oléanane et de l'ursane (dérivés des α - et β -amyrines, Tulloch, 1976), et dans une moindre mesure aux séries du lupane et du friedelane. Ils sont présents dans tous les tissus végétaux et plus particulièrement dans les tissus aériens (cires cuticulaires et écorces, Boileau *et al.*, 1964) qui possèdent une plus grande capacité à les synthétiser.

La perte du cycle A est suivie de l'aromatisation progressive de ces composés, se déroulant du cycle B vers le cycle D, menant ainsi à la formation de composés tétracycliques. Les produits ultimes de cette voie de transformation correspondent aux di- et triméthylchrysènes dont les structures sont présentées sur la Figure 4.12 (Spyckerelle, 1975; Spyckerelle *et al.*, 1977a; Spyckerelle *et al.*, 1977b; Wakeham *et al.*, 1980).

Dastillung a postulé, sur la base de l'interprétation de spectres de masse, la formation de composés tétracycliques mono- et di-insaturés, préalablement à l'aromatisation de tels composés (Dastillung, 1976). La découverte en 1985 des hydrocarbures di-insaturés **T10** et **T11**, appartenant respectivement aux séries de l'oléanane et de l'ursane dans un sédiment subaquatique local (Huttenheim, Alsace) valide cette hypothèse (Trendel, 1985).

Au cours de ces mêmes travaux, par incubation de lupan-3-one tritiée dans un sédiment subaquatique régional, Trendel démontre que la perte du cycle A de ces composés résulte très probablement de l'activité de micro-organismes présents dans le milieu (Trendel, 1985). L'étude de sédiments récents et des expérimentations de dégradation de composés radiomarqués indiquent que la perte du cycle A est un processus relativement rapide, qui peut prendre effet en quelques années (Lohmann, 1988).

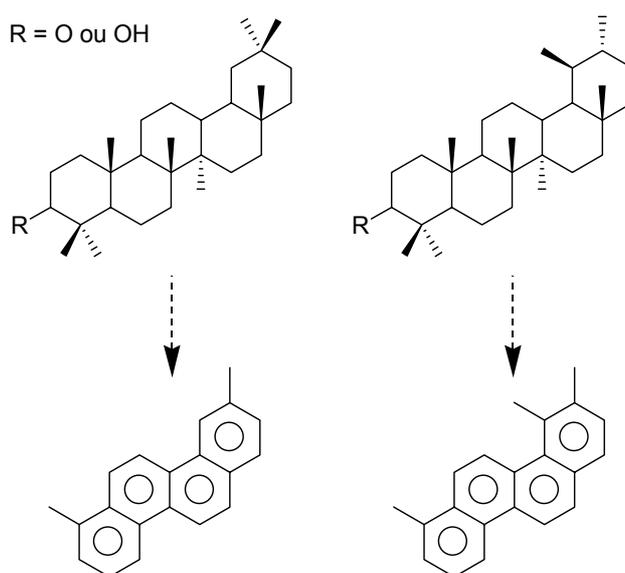


Figure 4.12 Structures des di- et triméthylchrysènes, termes de la voie de dégradation des des-A-triterpènes (d'après Spyckerelle, 1975; Spyckerelle et al., 1977a; Spyckerelle et al., 1977b).

Il est important de noter que les données spectrales des hydrocarbures tétracycliques insaturés permettent d'établir leur parenté avec les triterpènes pentacycliques précurseurs car à ce niveau de transformation, les composés conservent pratiquement l'intégralité de l'information contenue dans le triterpène original.

En revanche, plus l'aromatisation est avancée, plus les données spectrales sont difficiles à interpréter. Des coinjections en chromatographie en phase gazeuse des fractions en question avec les produits de référence disponibles au laboratoire peuvent rendre ces identifications possibles.

2.1.2 Données expérimentales

Dans les échantillons provenant des épaves du Brunei et de Malacca, des des-A-triterpénoïdes saturés, mono-, di- et tri-insaturés mais aussi des dérivés di- et tri-aromatiques ont été mis en évidence. Les chromatogrammes des échantillons correspondants sont présentés sur la Figure 4.14 et la Figure 4.15.

- Dérivés saturés

Le dérivé saturé **T1** (330 u.m.a.) a uniquement été identifié dans l'échantillon 2036. Le spectre de masse de ce composé ne présente pas le fragment $[M^+ - 43]$ typique de la perte d'un groupement isopropyle. Le composé **T1** correspond donc très probablement au des-A-oléanane ou au des-A-ursane. La caractérisation définitive de ce composé n'est pas possible étant donnée la similitude des spectres de masse de ces deux isomères.

Ceux-ci ont déjà été identifiés par Woolhouse qui signale également la similitude de leurs spectres de masse. Il base ses attributions de structures sur les temps de rétention des deux isomères et sur l'élution généralement antérieure des dérivés de l'oléanane par rapport à leurs isomères de la série de l'ursane (Woolhouse *et al.*, 1992).

- Dérivés monoinsaturés

Les composés **T2** et **T3** identifiés dans les prélèvements de l'échantillon 2036, ont été provisoirement identifiés comme étant des des-A-triterpènes appartenant à la série de l'oléanane, sur la base des attributions de structures proposées pour des composés détectés dans des sédiments du dépôt lacustre de Clarkia, Idaho (U.S.A) datant du Miocène (Logan and Eglinton, 1994). Les auteurs réalisent ces attributions de structure par comparaison des fragmentations en spectrométrie de masse de ces composés et de celles obtenues pour des triterpènes de type oléanène (Budzikiewicz *et al.*, 1963; Djerassi *et al.*, 1962; Karliner and Djerassi, 1966) : ils caractérisent ainsi par ordre d'élution, le des-A-oléan-13(18)-ène et le des-A-oléan-12-ène.

Le composé **T2** détecté dans l'échantillon 2036S correspond au des-A-oléan-13(18)-ène.

Le spectre de masse du composé **T3** présente les ions m/z 189, m/z 203 et m/z 218, typiques de la fragmentation de Δ^{12} -oléanène ou Δ^{12} -ursène après une réaction de retro Diels-Alder

initiée par la présence d'une double liaison en position 12 (Figure 4.13 ; Budzikiewicz *et al.*, 1963). Ce composé correspond probablement au des-A-oléan-12-ène.

Etant données les fortes similitudes de leurs spectres de masse respectifs, le composé **T4** correspond probablement à l'isomère du composé **T2**, le des-A-urs-13(18)-ène.

L'identification des composés **T2**, **T3** et **T4** semble correcte puisque leur ordre d'élution dans l'échantillon 2036S correspond à celui établi pour ces trois composés détectés dans les sédiments du lac Caçó au Brésil (Jacob *et al.*, 2007).

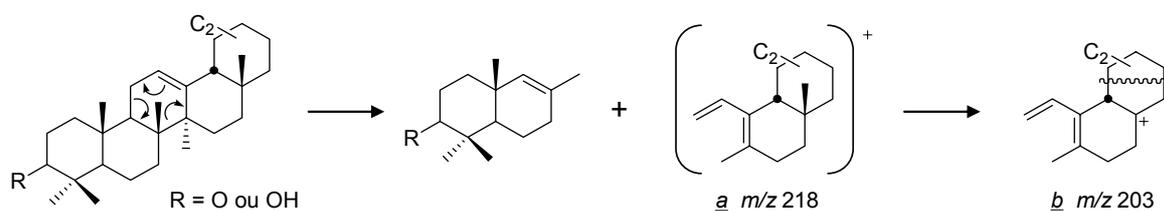


Figure 4.13 Fragmentation des oléan-12-ène et urs-12-ène.

Les composés **T5** et **T6** correspondent très probablement à des dérivés tétracycliques mono-insaturés du lupène car leurs spectres de masse présentent le fragment m/z 285 [$M^+ - 43$] caractéristique de la perte d'un groupement isopropyle. Par coinjection en chromatographie gazeuse de la fraction apolaire de l'échantillon 2036S avec le produit de référence, nous avons déterminé que le composé **T5** correspond au des-A-lup-5(10)-ène (Figure 4.14). La position de la double liaison dans le composé **T6** n'a en revanche pas pu être déterminée ; il est possible qu'il s'agisse du des-A-lup-9-ène.

Le des-A-triterpène **T7** correspond vraisemblablement à un des-A-oléanène ou un des-A-ursène car son spectre de masse ne présente pas de fragment correspondant à la perte d'un groupement isopropyle. La position exacte de la double liaison ainsi que l'appartenance de ce composé à l'une de ces deux séries n'ont pu être déterminées car nous ne disposons pas des produits de référence correspondants.

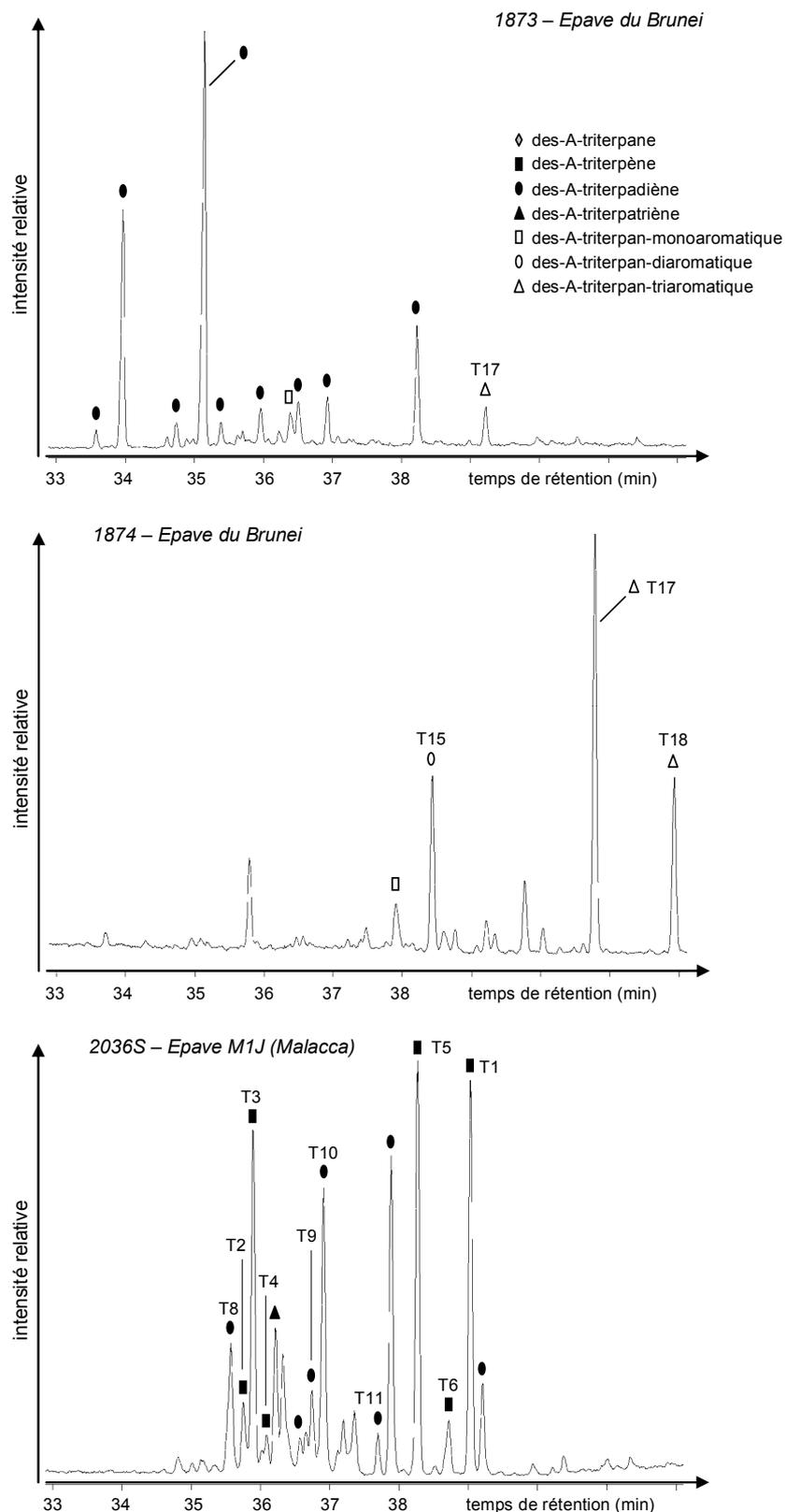


Figure 4.14 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des des-A-triterpénoïdes des échantillons 1873, 1874 (épave du Brunei) et 2036S (épave M1J, Malacca).

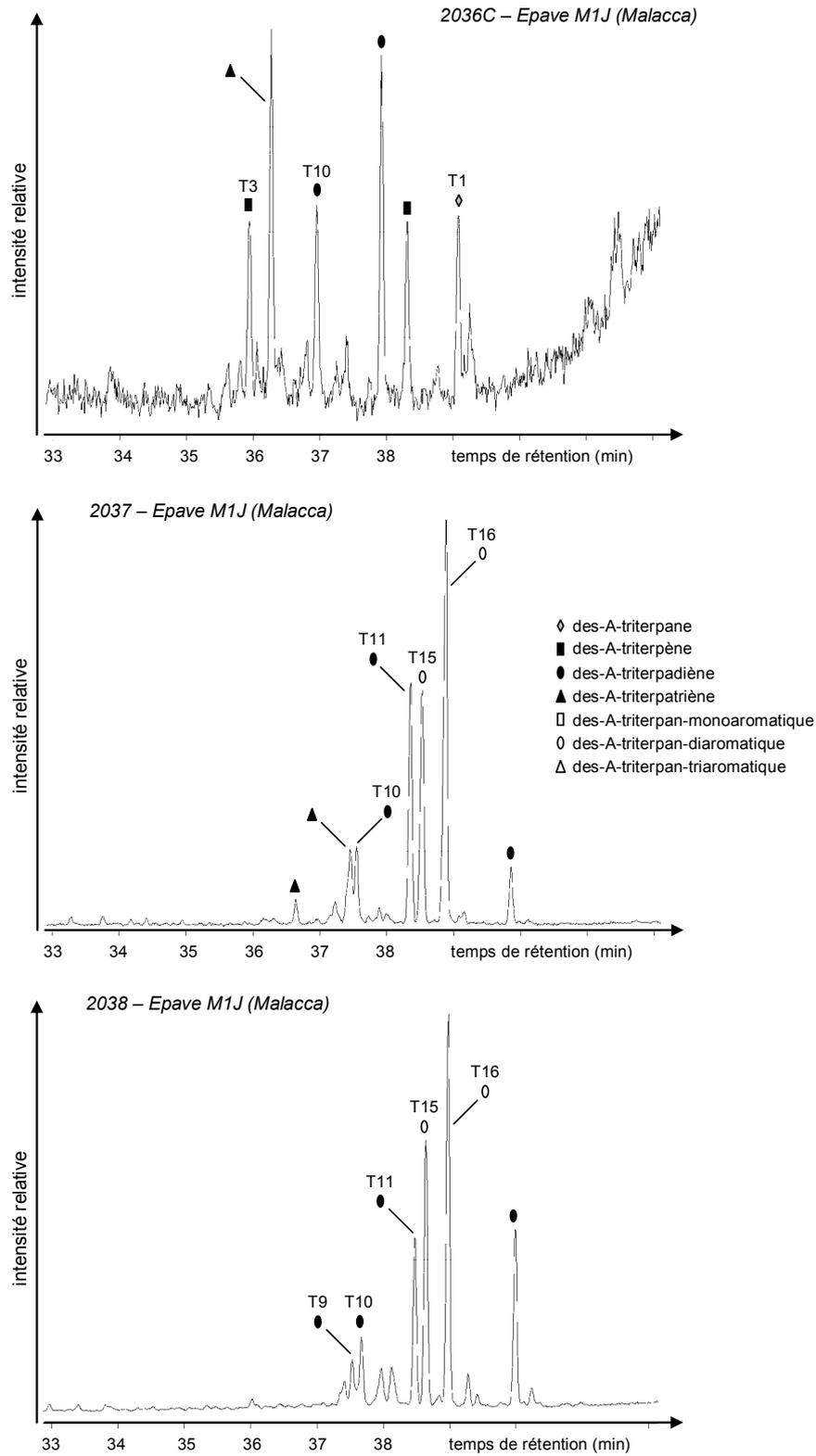


Figure 4.15 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des des-A-triterpénoïdes des échantillons 2036C, 2037 et 2038 (épave M1J, Malacca).

- Dérivés di-insaturés

Le spectre de masse du composé **T8** identifié dans l'échantillon 2036S, est similaire à ceux du des-A-oléan-9,13(18)-diène et du des-A-oléan-9,18-diène (Trendel, communication personnelle). Seules des coinjections en chromatographie en phase gazeuse sur deux colonnes de phase différentes permettraient la détermination de la position de la seconde double liaison, mais ces produits ne sont pas disponibles au laboratoire.

Le spectre de masse du composé **T9** est très similaire à celui du composé 326-2 détecté dans le sédiment de Huttenheim, plaine d'Alsace (Trendel, 1985). Celui-ci a par la suite été identifié comme correspondant au des-A-oléan-5(10),13(18)-diène (Trendel, communication personnelle). L'identification du composé **T9** n'a pu être confirmée par coinjection en chromatographie en phase gazeuse car nous ne disposons pas du produit de référence.

Le pic de base m/z 108 du spectre de masse du des-A-triterpadiène **T10** correspond à la partie gauche d'un oléan/urs-12-ène après une réaction de retro Diels-Alder initiée par la présence de la double liaison sur le carbone 12. La fragmentation de la contrepartie correspondant aux cycles C, D et E (m/z 218) se poursuit et les fragments m/z 203, m/z 189 et m/z 133 sont obtenus. Le composé **T10** correspond donc très vraisemblablement à un des-A-oléan/urs-x,12-diène. D'après ses données spectrales, il correspond au des-A-oléan-5(10),12-diène, caractérisé par Trendel dans le sédiment de Huttenheim (Trendel, 1985; Trendel *et al.*, 1989). De la même manière, nous avons identifié le composé **T11** : il s'agit de l'isomère du composé **T9**, le des-A-urs-5(10),12-diène (Trendel, 1985; Trendel *et al.*, 1989).

La présence de deux autres des-A-triterpadiènes dont les spectres de masse présentent un fragment $[M^+ - 43]$ caractéristique de la perte d'un groupement isopropyle, a également été observée. Il s'agit vraisemblablement de des-A-lupan-diènes **T12**. Les produits de référence correspondants n'étant pas disponibles au laboratoire, les positions des doubles liaisons n'ont pas pu être déterminées de manière définitive, mais les plus vraisemblables sont les positions 5(10), 12 et 20(29), à savoir celles des doubles liaisons des précurseurs triterpéniques pentacycliques de la série du lupane.

Dans certains échantillons des épaves du Brunei et de Malacca nous avons mis en évidence la présence de deux autres des-A-triterpadiènes. Les spectres de masse de ces composés ne présentent pas le fragment $[M^+ - 43]$. Ces composés correspondent donc à des des-A-oléana-

diènes ou des-A-ursa-diènes de structure **T13**. Les positions des doubles liaisons n'ont pas non plus pu être déterminées, mais les plus vraisemblables sont les positions 5(10), 9, 12, 13(18) et 18, occupées généralement chez les précurseurs triterpéniques pentacycliques des séries de l'oléanane et de l'ursane.

- Dérivés tri-insaturés

Trois des-A-triterpatriènes ont également été mis en évidence dans nos échantillons. Leurs spectres de masse ne présentant pas de fragment correspondant à $[M^+ - 43]$, il s'agit de des-A-oléan-triènes ou de des-A-ursan-triènes de structure **T14**. Les positions des doubles liaisons n'ont pu être déterminées, mais les plus vraisemblables sont les positions 5(10), 9, 12, 13(18) et 18.

- Dérivés diaromatiques

Dans les échantillons 1874 (Brunei), 2037 et 2038 (Malacca), nous avons mis en évidence des composés tétracycliques di-aromatiques (292 u.m.a.). Les spectres de masse très similaires de ces composés (pic de base m/z 207) sont très semblables à ceux des isomères XXIII et XXIV mis en évidence dans les sédiments du lac Washington, U.S.A. (Wakeham *et al.*, 1980). Les identifications définitives de ces composés ont été réalisées par coinjection en chromatographie en phase gazeuse avec des produits de référence : il s'agit des dérivés des-A-triterpéniques diaromatiques (cycles B et C) appartenant respectivement aux séries de l'oléanane et de l'ursane **T15** et **T16** (Trendel, 1985).

- Dérivés triaromatiques

La présence de composés tétracycliques tri-aromatiques (274 u.m.a.) a également été mise en évidence dans les échantillons provenant de l'épave du Brunei. Ces composés n'ont été détectés dans aucun autre échantillon étudié au laboratoire.

Le composé **T17** a été détecté dans les échantillons 1873 et 1874. Le pic de base m/z 231 de son spectre de masse correspond au fragment $[M^+ - 43]$ indiquant la perte d'une chaîne isopropyle. Le composé **T17** correspond donc à un composé tétracyclique tri-aromatique dont le cycle E porte 5 carbones. Un composé au spectre de masse similaire a été observé dans un

sédiment du lac Washington (Wakeham *et al.*, 1980). La position de la chaîne isopropyle sur le cycle E n'ayant pu être déterminée de façon certaine, ce composé appartient vraisemblablement à la série du lupane ou à celle de l'arborane.

Le composé tétracyclique tri-aromatique **T18** n'a été détecté que dans l'échantillon 1874. Par coinjection en chromatographie en phase gazeuse de la fraction apolaire de cet échantillon avec des produits de référence, nous avons établi qu'il s'agissait du dérivé triaromatique (cycles B, C et D) de la série de l'oléanane, identifié par Wakeham dans les sédiments récents du lac Greifensee, Suisse, et du lac Washington, U.S.A. (Wakeham *et al.*, 1980).

2.1.3 Discussion

En raison de la présence du composé saturé **T1** dans l'échantillon 2036 de l'épave de Malacca, celui-ci semble moins altéré que les échantillons 2037 et 2038 où ont été détectés les composés tétracycliques di-aromatiques **T15** et **T16**. En revanche, aucune distinction de ces deux échantillons n'est possible étant données leurs compositions similaires en dérivés tétracycliques.

Des des-A-triterpanes ayant été identifiés dans des pétroles provenant de bassins répartis à travers le monde (Schmitter *et al.*, 1981; Woolhouse *et al.*, 1992), nous nous sommes interrogés sur la possibilité d'une contribution du bitume de l'échantillon 2038 dans le profil de des-A-triterpénoïdes de cet échantillon. Il a finalement été établi que le bitume contenu dans cet échantillon correspondait en réalité à une huile dérivée de roche mère à dominante carbonatée dans laquelle il n'y a pas de matière végétale (Connan, 2008, communication personnelle). Les des-A-triterpènes de l'échantillon 2038 ont donc pour seule origine les triterpénoïdes pentacycliques présents dans la résine de Dipterocarpaceae.

La biodégradation des échantillons originaires de l'épave du Brunei (1873 et 1874) semble plus avancée que celles des échantillons de l'épave M1J : nous y avons en effet identifié des composés tétracycliques tri-aromatiques. La fraction apolaire de l'échantillon 1874, largement dominée par le composé tétracyclique tri-aromatique **T17**, ne renferme pas de composés tétracycliques insaturés. Cet échantillon semble donc avoir été soumis à une biodégradation plus poussée que l'échantillon 1873, qui contient encore de nombreux composés tétracycliques insaturés.

Il n'a, à notre connaissance, jamais été fait mention de la présence de tels témoins des processus de biodégradation dans des résines de la famille des Dipterocarpaceae, dans la littérature traitant de l'étude moléculaire de ces exsudats (Lampert, 2003; van der Doelen, 1999). La raison en est probablement l'analyse préférentielle des fractions polaires de ces dammars au cours de ces travaux. Notre méthodologie consistant à fractionner les échantillons selon des polarités croissantes semble donc mieux adaptée à l'étude moléculaire de l'altération de ces derniers.

2.2 Les triterpènes pentacycliques aromatiques

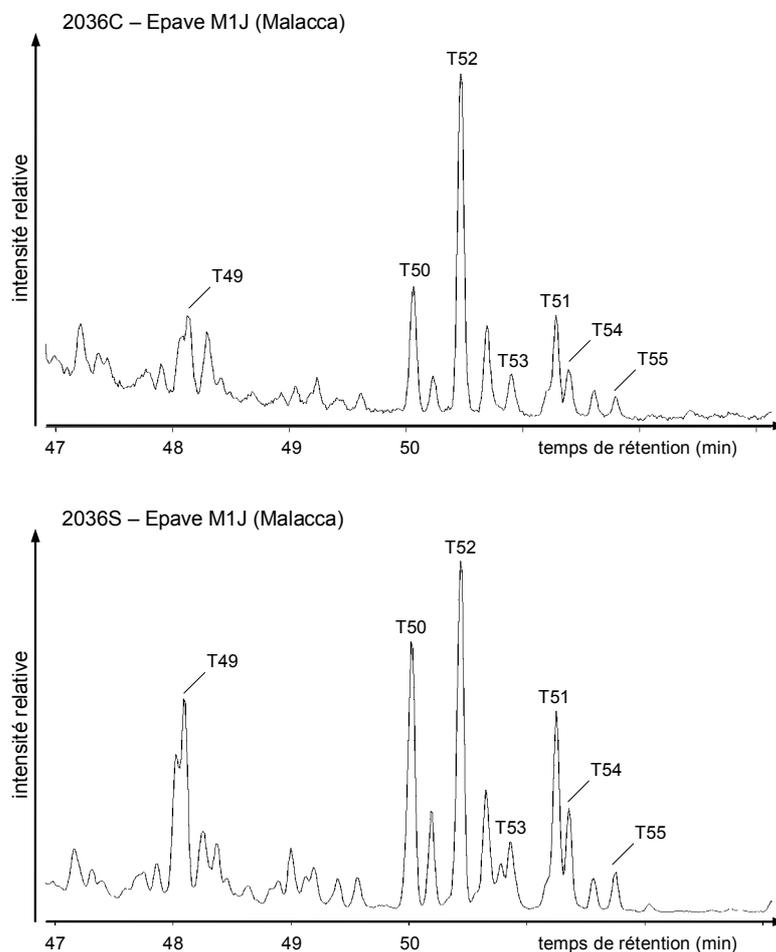


Figure 4.16 Chromatogrammes en phase gazeuse du massif des triterpènes pentacycliques aromatiques des fractions apolaires des prélèvements de cœur et de surface de l'échantillon 2036 (épave de Malacca).

Dans les fractions apolaires des prélèvements de l'échantillon 2036, nous avons également mis en évidence la présence d'autres composés particuliers de masses égales à 340, 342, 374 et 376 u.m.a. (Figure 4.16). Nous les avons identifiés à l'aide de la littérature, comme étant des triterpènes pentacycliques polyaromatiques.

2.2.1 Etude bibliographique

C'est au cours de travaux sur des schistes bitumineux lacustres, des lignites et des sédiments deltaïques qu'ont été identifiés les premiers triterpènes pentacycliques polyaromatiques (Spyckerelle, 1975; Spyckerelle *et al.*, 1977a; Spyckerelle *et al.*, 1977b; Streibl and Herout, 1969). Les structures de ces produits de dégradation de triterpènes pentacycliques oxygénés en position 3 ont été déduites de leurs données physiques (RMN, UV, SM) et certaines ont été confirmées par synthèse des produits correspondants (Jacob *et al.*, 2007; Spyckerelle, 1975; Spyckerelle *et al.*, 1977a; Spyckerelle *et al.*, 1977b; Stout, 1992; Trendel, 1985).

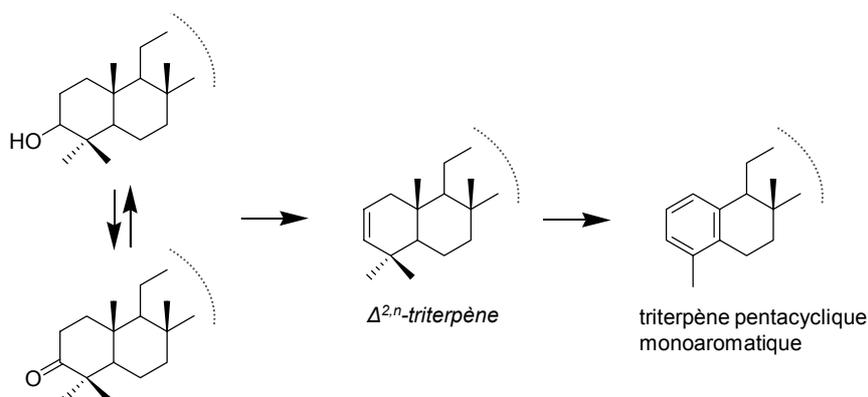


Figure 4.17 Aromatisation du cycle A de triterpènes oxygénés en position 3 sous l'influence de micro-organismes (d'après Lohmann, 1988; Trendel *et al.*, 1989).

Il a été déterminé que sous l'influence de micro-organismes, l'aromatisation de ces composés est initiée dans le cycle A, par la perte de la fonction oxygénée en position 3 (Laflamme and Hites, 1979; Wakeham *et al.*, 1980; Wolff *et al.*, 1989). Ceci entraîne très probablement la formation d'un intermédiaire triterpénique insaturé en position 2 (Figure 4.17).

L'aromatisation se poursuit ensuite progressivement vers le cycle D ou le cycle E, par déshydrogénations et par pertes de méthyles angulaires : des dérivés mono-, di-, tri ou tétra-aromatiques sont ainsi obtenus. Les termes de cette voie de transformation correspondent à la formation des di- et triméthylpicènes (Figure 4.18).

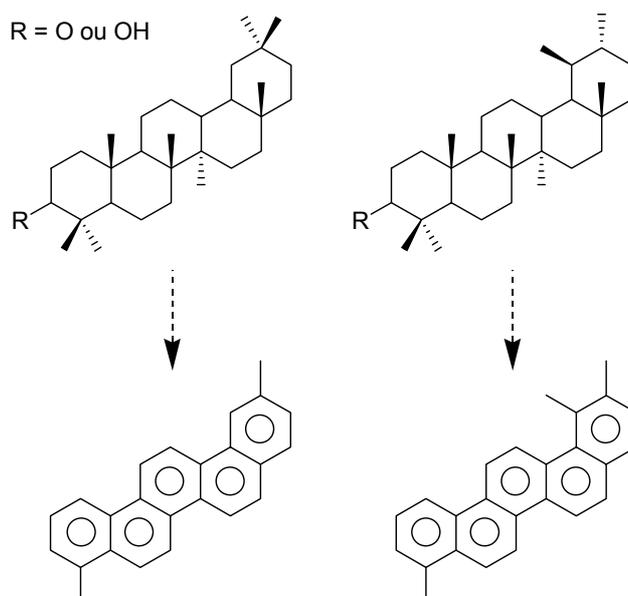


Figure 4.18 Structures des di- et triméthylpicènes, termes de l'aromatisation progressive des triterpènes pentacycliques (d'après Spyckerelle, 1975; Spyckerelle et al., 1977a; Spyckerelle et al., 1977b).

Du fait de la découverte de tels composés dans des roches sédimentaires, il a longtemps été suggéré que les réactions menant à ces produits se déroulaient sur des échelles de temps géologiques (millions d'années). Plus récemment, de tels hydrocarbures polycycliques aromatiques ont été mis en évidence dans des sédiments récents (quelques dizaines d'années), indiquant que de tels composés pouvaient être formés sur des échelles de temps plus courtes et à des températures peu élevées (Wakeham *et al.*, 1980).

2.2.2 Données expérimentales

- Dérivés mono-aromatiques

Nous avons ainsi identifié dans les deux prélèvements de l'échantillon 2036, trois dérivés monoaromatiques (cycle A) de masses égales à 376 et 374 u.m.a. : il s'agit

respectivement de dérivés pentacycliques monoaromatiques monoinsaturés **T49** et **T50** ($C_{28}H_{40}$), ainsi que d'un dérivé monoaromatique di-insaturé **T51** ($C_{28}H_{38}$).

Les spectres de masse de ces composés aromatiques présentent des fragments intenses m/z 145 ou m/z 158, compatibles avec des composés pentacycliques monoaromatiques appartenant aux séries de l'oléanane, de l'ursane et du lupane (Chaffee and Fookes, 1988; Hazai *et al.*, 1989; Jacob *et al.*, 2007; Laflamme and Hites, 1978; Loureiro and Cardoso, 1990; Stout, 1992; Wakeham *et al.*, 1980). Le fragment m/z 158 correspond à la partie gauche de la molécule après réaction de retro Diels-Alder initiée par une double liaison située sur le carbone 12. Le fragment m/z 145 provient quant à lui, de la perte d'un groupement méthyle par le fragment m/z 158 (Figure 4.19). Les intensités relatives de ces fragments dépendent de la localisation des insaturations dans les cycles B, C, D et E. Leurs positions sont généralement conservées par rapport à leurs précurseurs (Lohmann, 1988; Loureiro and Cardoso, 1990).

Des composés aux spectres de masse similaires à ceux de **T49**, **T50** et **T51** ont été détectés dans la fraction des hydrocarbures aromatiques du lignite de Brandon, Vermont (Stout, 1992). Certaines identifications de structures proposées alors ont été confirmées par comparaison des données spectrales publiées pour des standards de synthèse (Wolff *et al.*, 1989).

Le composé **T49** a ainsi été identifié : il s'agit du 24,25-disnoroléana-1,3,5(10),12-tétraène (Figure 4.19).

En revanche, aucune identification définitive n'a été possible pour les composés **T50** et **T51**. D'après leurs fragmentations en spectrométrie de masse, nous avons déterminé qu'ils appartiennent à la série de l'oléanane ou à celle de l'ursane. Cependant, les positions exactes des doubles liaisons supplémentaires n'ont pas pu être établies.

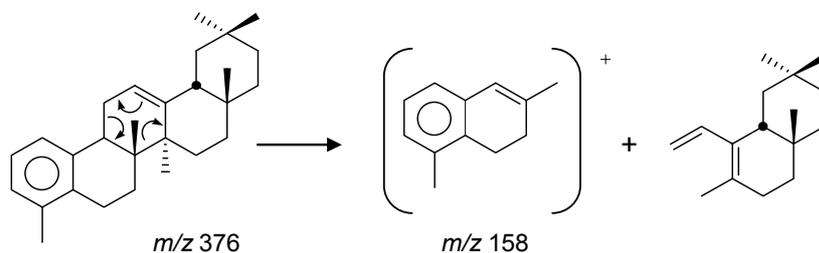


Figure 4.19 Fragmentation du 24,25-disnoroléana-1,3,5(10),12-tétraène.

- Dérivés triaromatiques

Dans les deux prélèvements de l'échantillon 2036, nous avons également identifié trois composés de masse égale à 342 u.m.a., dont les spectres de masse présentent le fragment intense m/z 257 : il s'agit des dérivés triaromatiques **T52**, **T53** et **T54** (cycles A, B et C) de formule $C_{26}H_{30}$.

Le spectre de masse du composé **T53** présente le fragment m/z 299 correspondant à une perte de 43 u.m.a. par rapport au pic moléculaire : il s'agit donc très probablement du dérivé triaromatique de la série du lupane, le tétranor-lupa-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène (Chaffee and Fookes, 1988).

T52 et **T54** correspondent quant à eux, aux dérivés triaromatiques des séries de l'oléane et de l'ursane, identifiés auparavant dans des lignites et des sédiments récents, à savoir le tétranor-oléane-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène et le tétranor-ursa-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène (Chaffee and Johns, 1983; Chaffee and Fookes, 1988; Wakeham *et al.*, 1980).

Enfin, le composé **T55** de masse égale à 340 u.m.a, également isolé dans les deux prélèvements, correspond à un triterpène pentacyclique triaromatique portant une double liaison supplémentaire dont la position n'a pas pu être déterminée sur la base de son spectre de masse.

2.2.3 Discussion

Nous avons donc mis en évidence dans l'échantillon archéologique 2036, la présence de dérivés pentacycliques mono- et tri-aromatiques qui sont des produits de la seconde voie de dégradation des triterpènes pentacycliques végétaux. Dans les échantillons géologiques où de tels dérivés ont été isolés, des dérivés pentacycliques tétra-aromatiques avaient également été mis en évidence (Stout, 1992). Le fait que ces dérivés tétra-aromatiques n'ont pas été détectés dans les prélèvements de l'échantillon 2036, indique que l'aromatisation n'est donc pas complète et explique l'absence des di- et triméthylpicènes, termes de cette voie de dégradation.

L'absence également observée des dérivés pentacycliques di-aromatiques a déjà été mentionnée dans la littérature où elle a été expliquée par la courte durée de vie de ces intermédiaires dans la voie d'aromatisation des triterpènes pentacycliques (Chaffee and Johns, 1983; Chaffee and Fookes, 1988; Hazai *et al.*, 1989; Stout, 1992).

2.3 Les $\Delta^{2,n}$ -triterpènes

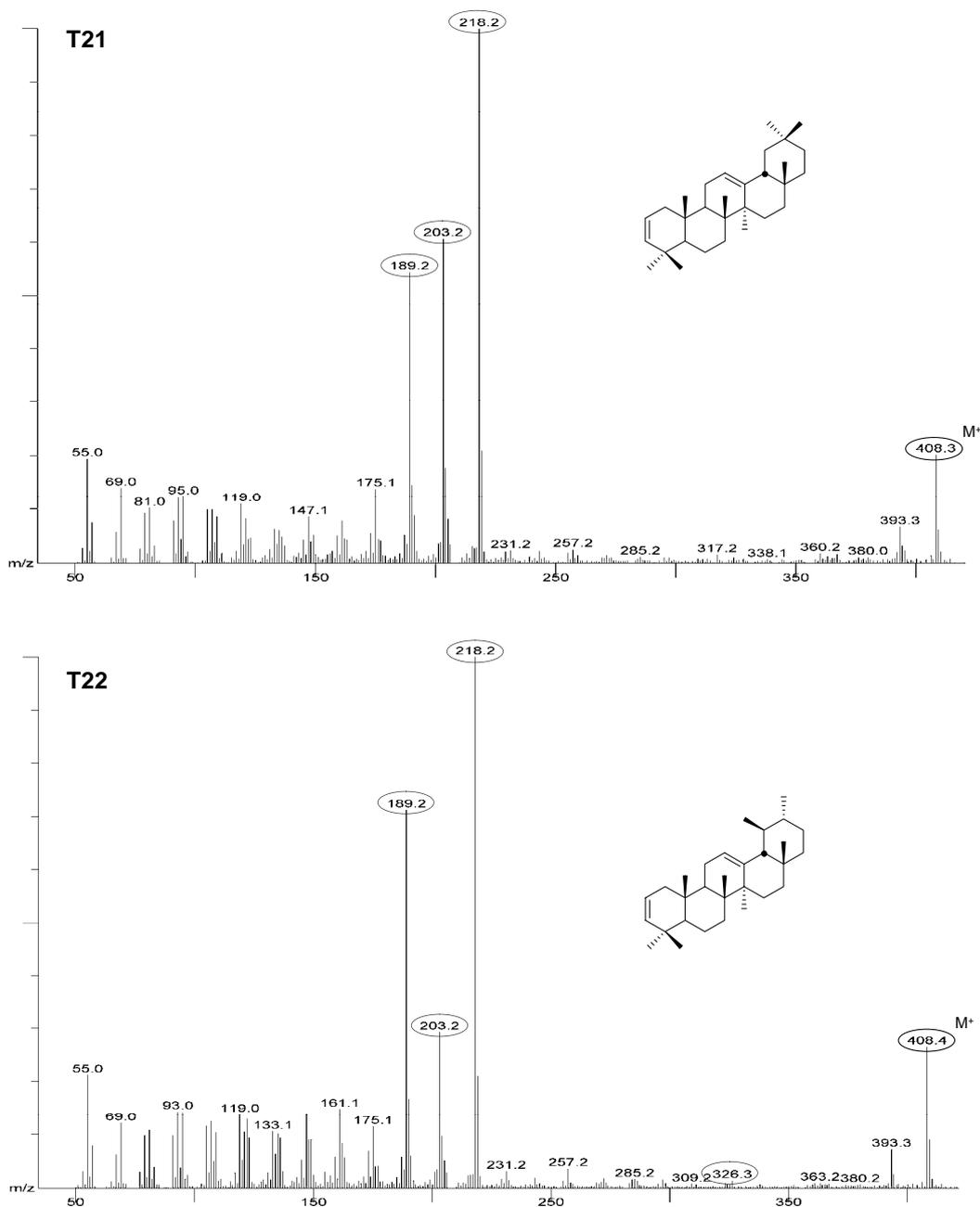


Figure 4.20 Spectres de masse des composés **T21** et **T22** détectés dans l'échantillon 2038.

Dans les fractions apolaires des échantillons 2037 et 2038, nous avons détecté la présence de composés présentant une fragmentation en spectrométrie de masse similaire à celle des Δ^{12} -oléan/ursènes, mais dont l'ion moléculaire indique la présence d'une double liaison supplémentaire ($M^+ = 408$ u.m.a. au lieu de 410 u.m.a.).

La fragmentation en spectrométrie de masse des Δ^{12} -oléan/ursènes a été largement étudiée : elle est gouvernée par la double liaison située en position 12 qui, après réaction de retro Diels-Alder, génère les fragments m/z 218, 203 et 189. Les doubles liaisons supplémentaires ne jouent qu'un rôle secondaire dans la fragmentation de ces composés (Budzikiewicz *et al.*, 1963).

Les spectres de masse des composés **T21** et **T22** sont très semblables : il s'agit probablement de deux isomères. On y retrouve les fragments m/z 218, 203 et 189 intacts : la double liaison supplémentaire est vraisemblablement située dans la partie gauche de ces molécules (cycle A ou B). Ceci est confirmé par la diminution de l'intensité du fragment m/z 191 correspondant à la partie gauche de ces molécules, parallèlement à l'augmentation de l'intensité du fragment m/z 189.

Dans le spectre du composé **T22**, le fragment peu intense m/z 326 résulte très probablement d'une réaction de retro Diels-Alder, initiée dans le cycle A par une double liaison située sur le carbone 2 (Figure 4.21). Cette réaction n'étant que secondaire par rapport à celle initiée par la double liaison en position 12, l'absence du fragment m/z 326 dans le spectre de masse du composé **T21** n'est pas étonnante.

Les composés **T21** et **T22** correspondent donc respectivement à l'oléan-2,12-diène et à l'ursa-2,12-diène, préalablement isolés dans un lignite et dans un sédiment de mangrove (Ten Haven *et al.*, 1992).

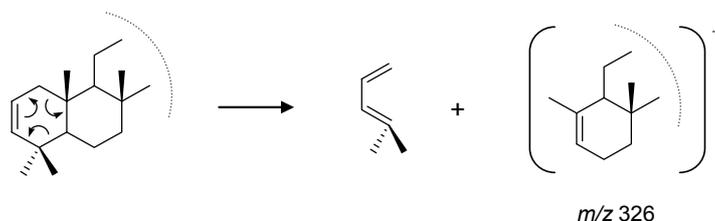


Figure 4.21 Fragmentation du cycle A des $\Delta^{2,n}$ -triterpènes par réaction de retro Diels-Alder initiée par la double liaison située en position 2.

Ten Haven indique que lors d'expérimentations en laboratoire les $\Delta^{2,n}$ -triterpènes dérivent des α - et β -amyrynes dont le groupement hydroxyle est dans la configuration α . Or la plupart des triterpénols présents dans la nature portent leur groupement hydroxyle dans la configuration β . Il émet alors l'hypothèse que dans les sédiments, des processus de déshydratation induits par des micro-organismes permettent la formation de ces $\Delta^{2,n}$ -triterpènes directement à partir des β -triterpénols présents.

2.4 Conclusions

Nous avons identifié des des-A-triterpènes insaturés et aromatiques, des triterpènes pentacycliques polyaromatiques et des $\Delta^{2,n}$ -triterpènes dans les échantillons archéologiques provenant des épaves du Brunei et de Malacca, indiquant l'intervention de processus microbiens au cours de l'altération de ces échantillons (Tableau 4.1).

		$\Delta^{2,n}$ -triterpadiènes	Voie 1°		Voie 2°
			des-A-triterpènes insaturés	des-A-triterpènes aromatiques	triterpènes pentacycliques polyaromatiques
Epave du Brunei	1873	-	+	+	-
	1874	-	-	+	-
Epave MIJ	2036C	-	+	-	+
	2036S	-	+	-	+
	2037	+	+	+	-
	2038	+	+	+	-
Epave de Belitung	2039	-	-	-	-
Site terrestre de Khao Sam Kaeo	2307	-	-	-	-
	2308	-	-	-	-

Tableau 4.1 Récapitulatif des produits de biodégradation identifiés dans les échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail.

Les échantillons de l'épave du Brunei (1873 et 1874) contiennent uniquement des produits de la voie de biodégradation 1°. Il est tout à fait concevable que les deux dammars pures constituant ces deux échantillons qui appartiennent très probablement à des espèces différentes du genre *Dipterocarpus* (cf. Chapitre 3), se comportent de manière similaire vis-à-vis des processus de biodégradation, en l'occurrence ici vis-à-vis de la voie de dégradation microbienne 1°. Une comparaison directe des profils de ces deux échantillons est par conséquent réalisable. Il apparaît que l'échantillon 1874 a subi une altération microbienne plus avancée que l'échantillon 1873 qui renferme encore des des-A-triterpènes insaturés.

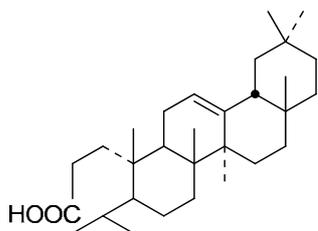
Tous les échantillons provenant de l'épave de Malacca contiennent des produits d'altération microbienne issus des voies 1° et 2°, qui traduisent des états d'avancement différents de ces deux voies de biodégradation. En effet, la voie 1° semble plus avancée dans les échantillons 2037 et 2038 que dans l'échantillon 2036 qui ne contient pas de dérivé tétracyclique aromatique. A l'inverse, la voie 2° semble avoir bien pris place dans l'échantillon 2036 où nous notons la présence de dérivés pentacycliques aromatiques, absents des échantillons 2037 et 2038. En revanche, ces deux échantillons contiennent des $\Delta^{2,n}$ -triterpènes décrits par Lohmann (1988) comme des intermédiaires de la voie 2°.

Ces différences peuvent être dues aux natures et aux histoires très différentes de ces échantillons : la dammar pure de l'échantillon 2036 appartient probablement à une espèce du genre *Dipterocarpus*, tandis que les dammars des échantillons composites 2037 et 2038 pourraient appartenir à des espèces du genre *Shorea*. Du fait de ces différences, il est difficile d'établir une comparaison des états d'altération de ces trois échantillons.

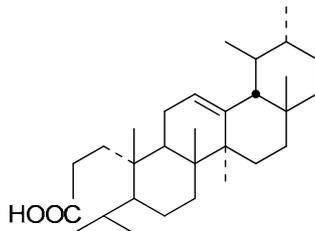
Des acides 3,4-*seco*-triterpéniques ont été mis en évidence dans des échantillons de surface du delta de la Mahakam, en plus des des-A-triterpènes et des dérivés pentacycliques aromatiques (Corbet *et al.*, 1980; Saptorahardjo, 1985). Cette observation a mené certains auteurs à ajouter une troisième voie au schéma de dégradation des triterpènes oxygénés en position 3, menant à l'ouverture du cycle A de ces précurseurs (Lohmann, 1988; Trendel, 1985).

Nous avons donc recherché spécifiquement, sans succès, les acides 3,4-*seco*-oléan-12-èn-3-oïque, 3,4-*seco*-urs-12-èn-3-oïque et 3,4-*seco*-lup-20(29)-èn-3-oïque dans les fractions des acides et des composés polyfonctionnalisés (Figure 4.22).

acide 3,4-*seco*-oléan-12-èn-3-oïque
ou acide dihydronyctanthique



acide 3,4-*seco*-urs-12-èn-3-oïque
ou acide dihydroroburique



acide 3,4-*seco*-lup-20(29)-èn-3-oïque
ou acide dihydrocanarique

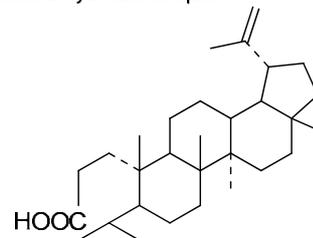


Figure 4.22 Acides 3,4-*seco*-triterpéniques recherchés spécifiquement dans nos échantillons archéologiques.

3 Deshydratation : formation de A-neo-triterpènes

3.1 Données expérimentales

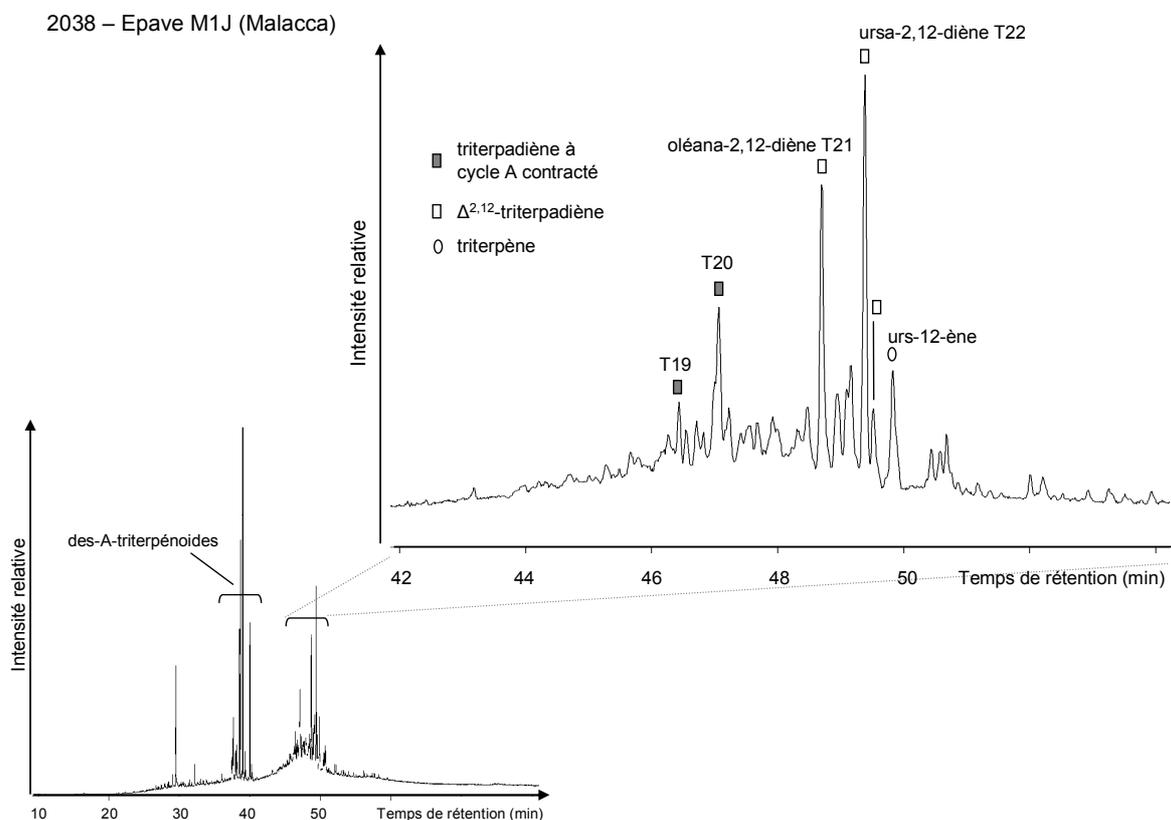


Figure 4.23 Chromatogrammes en phase gazeuse de la fraction apolaire de l'échantillon 2038.

Dans les fractions apolaires des échantillons 2037 et 2038 de l'épave de Malacca, nous avons mis en évidence la présence des composés **T19** et **T20** de masse égale à 408 u.m.a. (Figure 4.23) qui correspondent donc à des triterpadiènes.

Leurs spectres de masse sont très similaires : il s'agit probablement d'isomères (Figure 4.24). On y trouve le fragment m/z 218 classiquement obtenu après réaction de retro Diels-Alder dans le cycle C des dérivés de type Δ^{12} -oléan/ursène (espèce a, Figure 4.25, Budzikiewicz *et al.*, 1963). Les ions de l'espèce a sont typiquement accompagnés de produits satellites résultant de la perte du groupement méthyle situé sur le carbone 17 (fragment m/z 203, espèce b, Assimopoulou and Papageorgiou, 2004), suivie à son tour de la perte de 70 u.m.a.

supplémentaires par coupure du cycle E (fragment m/z 133, espèce c, Budzikiewicz *et al.*, 1963).

Ces fragments classiques étant intacts dans ces spectres de masse, il apparaît que la double liaison supplémentaire est localisée dans la portion gauche de ces molécules, c'est-à-dire dans les cycles A ou B. Le pic de base m/z 365 correspond à une perte de 43 u.m.a. $[M^+ - 43]$, caractéristique de la perte d'un groupement isopropyle : ceci suggère la présence d'un cycle à cinq carbones situé également dans la partie gauche de la molécule.

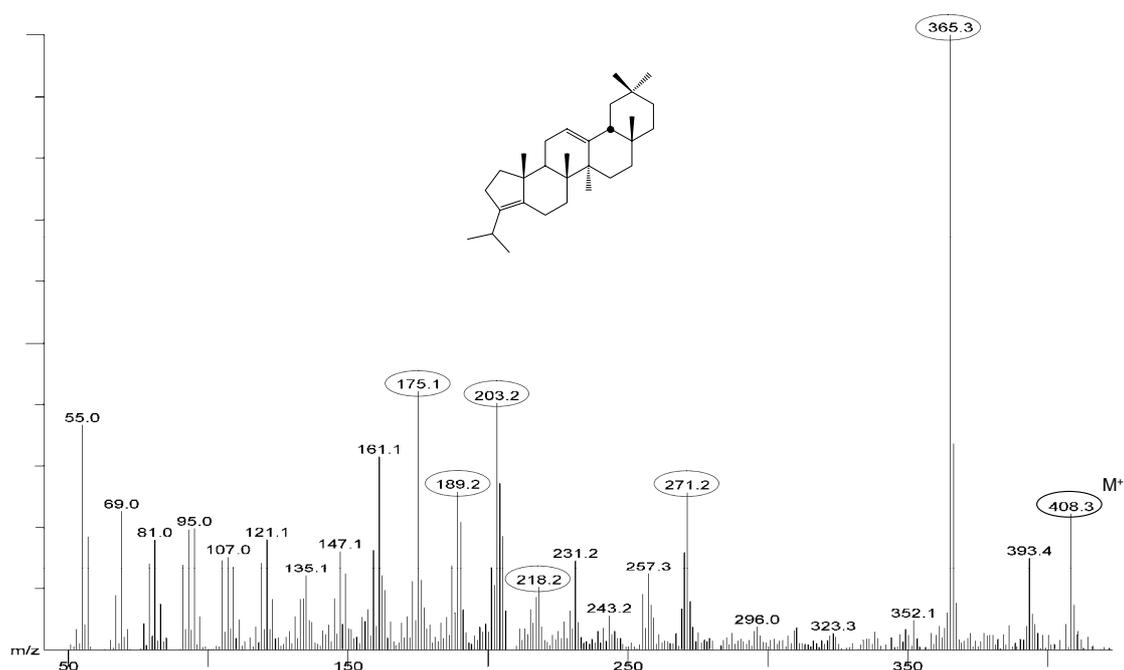


Figure 4.24 Spectre de masse du *A-neo-oléana-3(5),12-diène T19* identifié dans l'échantillon archéologique de l'épave M1J, Malacca (2038).

Des composés présentant des spectres de masse similaires ont été obtenus par déshydratation de la β -amyrine par ajout de terre de Fuller (argile acide contenant de la montmorillonite ou de la palygorskite ; Elgamal and Fayez, 1967). Ils ont été identifiés comme correspondant à des triterpadiènes à cycle A contracté, les *A-neo-triterpa-3(5),12-diènes*. Au cours de ces travaux, les auteurs attribuent le fragment m/z 271 à l'espèce d obtenue d'après eux par coupure du cycle B après rupture des liaisons C₆-C₇ et C₉-C₁₀ selon le mécanisme présenté sur la Figure 4.26 (Elgamal *et al.*, 1969).

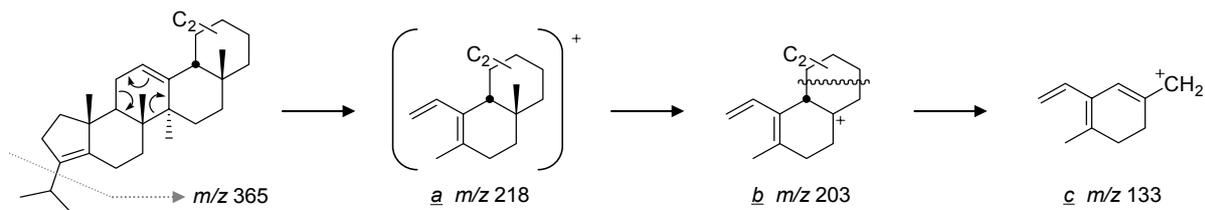


Figure 4.25 Fragmentations caractéristiques de la partie droite de triterpènes insaturés en position 12 (d'après Budzikiewicz *et al.*, 1963, Assimopoulou and Papageorgiou, 2004).

Les attributions de structures définitives aux composés **T19** et **T20** ont été réalisées par comparaison avec le profil d'élution des A-*neo*-triterpènes isolés dans le lignite de Brandon (Vermont, U.S.A) par Ten Haven (Ten Haven *et al.*, 1992) : **T19** correspond au A-*neo*-oléana-3(5),12-diène et **T20**, au A-*neo*-ursa-3(5),12-diène.

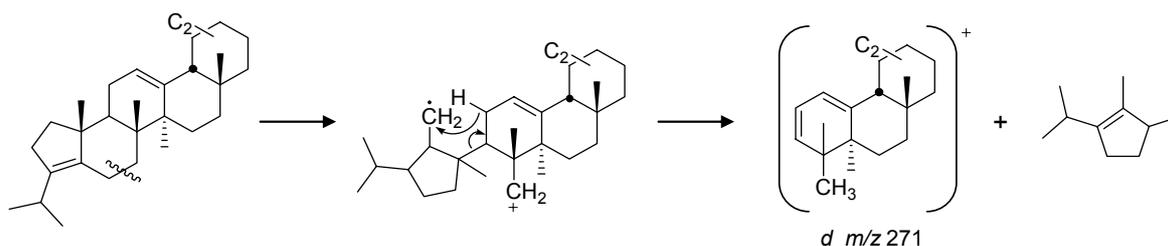


Figure 4.26 Mécanisme proposé pour la formation de l'espèce \underline{d} (d'après Elgamal *et al.*, 1969).

3.2 Discussion

Nous avons identifié des A-*neo*-triterpadiènes dans les dammars des échantillons 2037 et 2038. C'est pourquoi nous avons recherché de manière spécifique ce type de composés dans les autres échantillons étudiés dans le cadre de ce travail. De manière attendue, aucune des dammars fraîches ne renferme de tels produits de déshydratation. En revanche, leur absence dans les autres dammars archéologiques est plus inattendue.

L'échantillon 2036, provenant également de l'épave de Malacca, bien que ne contenant pas le A-*neo*-oléana-3(5),12-diène et le A-*neo*-ursa-3(5),12-diène, contient d'autres A-*neo*-triterpadiènes (M^+ = 408 u.m.a., pic de base : m/z 365) qui n'ont pas pu être identifiés de

manière précise. Il s'agit probablement de *A-neo*-triterpènes portant deux doubles liaisons dont l'une est positionnée soit sur le groupement isopropyle, soit dans le cycle A contracté. Le processus de déshydratation a donc affecté spécifiquement les échantillons provenant de l'épave de Malacca. Au cours de son étude, Ten Haven propose un schéma d'évolution des triterpènes oxygénés en position 3 présenté sur la Figure 4.27, qui explique la formation de tels dérivés.

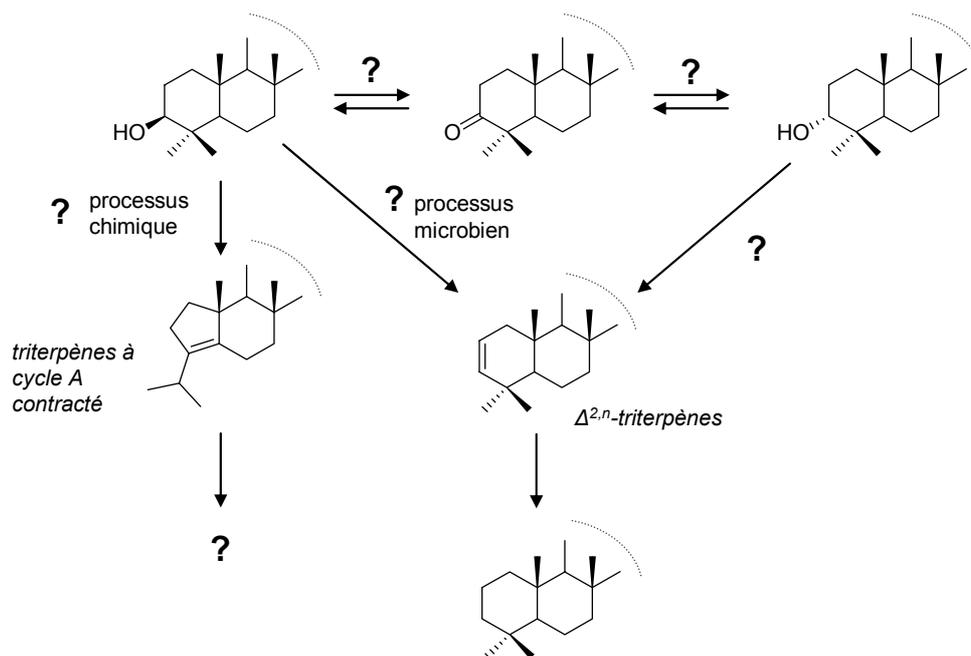


Figure 4.27 Schéma d'évolution des triterpènes oxygénés en position 3 (d'après Ten Haven et al., 1992).

4 Evaporation et lessivage

Les processus physiques de lessivage et d'évaporation interviennent très certainement dans l'altération de nos échantillons. Affectant tous les composés et plus particulièrement les sesquiterpènes du fait de leur faible poids moléculaire, ces processus ont donc un effet direct sur la composition moléculaire de nos échantillons. Sous l'action de tels processus, les composés tendent à disparaître. Cependant, comme nous l'avons observé dans les paragraphes précédents, les processus d'oxydation et de biodégradation induisent également la disparition de certains composés. Tous ces processus agissant de manière conjointe, il ne nous est donc pas possible de quantifier les effets de l'évaporation et du lessivage.

5 Conclusions

Dans ce chapitre nous avons mis en évidence le fait que nos échantillons archéologiques ont tous été sujets à des réactions radicalaires photo-induites. Ces réactions entraînent de profondes modifications de la composition chimique des résines, compliquant ainsi leur identification. Bien que l'exposition à la lumière ne peut pas être totalement évitée au cours de l'histoire d'un échantillon de résine, certains semblent tout de même avoir été plus préservés que d'autres.

Nous avons également mis en évidence dans les échantillons des épaves du Brunei et de Malacca, des produits de dégradation microbienne qui n'avaient encore jamais été mis en évidence dans des résines végétales trouvées en contexte archéologique. Ces composés, déjà étudiés en géologie, proviennent de différentes voies de dégradation des triterpènes végétaux pentacycliques oxygénés en position 3, contrôlées par des associations de micro-organismes probablement différentes. Toutes ces voies de biodégradation ne semblent pas prendre place simultanément dans les échantillons et nous avons même observé la mise en place de voies différentes dans des échantillons prélevés sur le même site archéologique. Ceci semble indiquer que la nature de la résine contenue dans un échantillon (d'un point de vue taxonomique) influence les processus d'altération subis par ce dernier, tout autant que l'environnement de dépôt lui-même.

Chapitre 5

Conclusion générale

Dans le cadre de ce travail, quatre séries d'échantillons organiques archéologiques supposés contenir de la résine de Dipterocarpaceae (dammar) ont été caractérisés d'un point de vue moléculaire : la série d'échantillons du site terrestre de Khao Sam Kaeo, Thaïlande (4^{ème} – 2^{ème} siècles av. J.-C.), la série d'échantillons collectés aux abords de l'épave de Belitung (9^{ème} siècle apr. J.-C.), la série d'échantillons collectés aux abords de l'épave de Malacca (16^{ème} siècle apr. J.-C.) et la série d'échantillons prélevés dans les jarres d'une épave du Brunei (15^{ème}-16^{ème} siècles apr. J.-C.). Cette étude menée au moyen de techniques chromatographiques et de spectrométrie de masse, a été complétée par l'analyse de dammars de genres et d'espèces différents, collectées récemment au Vietnam.

Une des difficultés de cette étude réside dans la caractérisation des molécules constituant ces échantillons. La majorité des assignations de structures, parfois erronées, proposées dans la littérature et sur lesquelles reposent certaines de nos identifications moléculaires, est basée uniquement sur les données de spectrométrie de masse, sans confirmation par RMN.

Un vaste travail de caractérisation précise (synthèse ou purification du composé, RMN, SM) des constituants des résines permettrait des analyses plus approfondies de ces substances, notamment lorsque celles-ci sont altérées.

Il a par ailleurs été fait mention dans la littérature que des mélanges de dammars d'espèces diverses étaient couramment employés pour calfater les navires en Asie du Sud-Est. Or, la détermination de la présence d'une ou plusieurs espèces de dammar dans un échantillon n'est pas possible à l'aide de notre protocole expérimental, étant donnée la grande similitude des diverses espèces de dammar d'un point de vue moléculaire. Ne disposant d'aucune donnée concernant la préparation de nos échantillons archéologiques, nous avons postulé que les dammars qui les constituent n'appartiennent qu'à une espèce, mais nous n'avons aucun moyen de vérifier l'exactitude de cette hypothèse.

Caractérisation de la nature et de l'origine des échantillons

L'étude moléculaire des échantillons de chaque série a permis de déterminer, selon les critères établis dans la littérature, que tous étaient constitués de résines de la famille des Dipterocarpaceae. En effet, les profils chromatographiques de ces échantillons sont tous constitués de composés sesquiterpéniques et surtout de marqueurs moléculaires triterpéniques

appartenant aux séries de l'oléanane, de l'ursane et du dammarane. Cependant, il est rapidement apparu que ce paramètre n'est pas toujours utilisable étant données la présence quasi-ubiquiste des dérivés de l'oléanane dans les résines triterpéniques et la faible représentation des dérivés du dammarane dans certaines espèces de cette famille, voire leur absence dans certains échantillons altérés.

Par comparaison des profils chromatographiques de tous ces échantillons, nous avons pu déterminer un nouveau critère d'appartenance à la famille des Dipterocarpaceae. Celui-ci s'avère très fiable, notamment lorsqu'il s'agit de confirmer la présence de dammar dans des échantillons organiques archéologiques, qu'ils soient homogènes ou composites. Nous avons ainsi établi que les fractions des composés polyfonctionnalisés des dammars présentaient toutes un profil similaire, bien distinct des profils des fractions correspondantes d'autres résines triterpéniques de composition moléculaire parfois très proche (mastic, par exemple). En effet, on y retrouve toujours en mêmes proportions les composés suivants : l'acide $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyoléan-12-èn-28-oïque, l'acide $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyurs-12-èn-28-oïque, l'acide $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyoléana-2,12-dièn-28-oïque, ainsi que l'acide $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyursa-2,12-dièn-28-oïque, ce dernier dominant largement cette fraction.

Une étude comparative des fractions des cétones triterpéniques des dammars fraîches nous a permis de mettre en évidence la présence du bétulonal dans les résines du genre *Dipterocarpus* et non dans celle du genre *Shorea*. Bien que le bétulonal ait été identifié dans des mastics, il n'a à notre connaissance jamais été cité dans la littérature en tant que constituant des dammars. D'après nos observations, il semble constituer un marqueur moléculaire générique de la famille des Dipterocarpaceae. Une telle hypothèse est évidemment à envisager avec prudence étant donné le nombre restreint de dammars actuelles analysées au laboratoire, n'appartenant de surcroît qu'à deux genres de la famille des Dipterocarpaceae. Il est en effet possible que l'absence du bétulonal dans la résine de *Shorea guiso* Blume ne soit en fait qu'une caractéristique de cette espèce et non du genre *Shorea* dans sa globalité.

La caractérisation du bétulonal dans six des échantillons archéologiques analysés indique que ce composé résiste bien, de façon surprenante, aux processus d'altération naturelle et anthropique.

Cette étude devra être complétée par l'analyse moléculaire d'autres dammars appartenant à différents genres de la famille des Dipterocarpaceae, afin d'établir la valeur du bétulonal en tant que marqueur moléculaire du genre *Dipterocarpus*. Ces analyses complémentaires

permettront certainement de caractériser également d'autres marqueurs moléculaires génériques, voire spécifiques de la famille des Dipterocarpaceae.

Nous avons par ailleurs mis en évidence par le biais de l'identification de marqueurs moléculaires spécifiques, la nature composite de deux des échantillons archéologiques analysés au cours de ce travail. Dans ces échantillons, tous deux collectés aux abords de l'épave portugaise de Malacca (M1J), nous avons ainsi détecté, en plus des marqueurs moléculaires triterpéniques typiques des dammars, des marqueurs moléculaires diterpéniques dérivant du réarrangement thermique de l'acide abiétique et de l'acide pimarique. Ces composés attestent de la présence de poix dans ces échantillons. Ce goudron, préparé par traitement thermique de bois et d'écorce de conifères, a été très largement employé en Europe pour le calfatage de navires.

Dans l'un de ces deux échantillons, nous avons également mis en évidence la présence de stéranes et hopanes, marqueurs moléculaires typiques des bitumes. Nous avons déterminé qu'il s'agissait en fait d'une huile dérivée de roches mères à dominante carbonatée, provenant soit de la région de Mossul, au nord de l'Iraq, soit de la plaine de Deh Luran, au nord-ouest de l'Iran. Au Moyen-Orient, la tradition de calfatage au bitume est établie depuis des millénaires. L'épave dont proviennent ces deux échantillons constitue un bon exemple du phénomène d'acculturation : les Portugais, familiers de l'usage de la poix pour le calfatage de navire, adoptent le savoir-faire d'autres peuples rencontrés au gré de leurs échanges commerciaux. Ainsi, l'usage du bitume pour le calfatage est assimilé par les Portugais durant le 16^{ème} siècle, période à laquelle ils contrôlent les routes maritimes du Golfe Persique grâce à la mainmise sur la forteresse de Bahreïn. L'emploi de la dammar comme enduit de calfatage a, quant à lui, été acquis au cours de leurs échanges commerciaux avec l'Asie.

Etat d'altération des échantillons

Par comparaison des profils chromatographiques des échantillons frais et archéologiques selon les taxonomies établies préalablement au cours de ce travail, nous notons que de profondes modifications moléculaires prennent place au cours du vieillissement de ces derniers. Nous remarquons la disparition de certains composés mais aussi l'apparition de nouvelles molécules. Le cortège moléculaire des résines altérées s'en trouve complexifié, ce qui rend leur identification difficile.

Afin de caractériser les processus d'altération naturelle à l'origine de ces phénomènes moléculaires, nous avons réalisé des expériences de simulation de vieillissement de vernis de dammar par traitement thermique et par irradiation lumineuse.

Certains composés apparaissent très stables vis-à-vis du traitement thermique (nor- β -amyronone, dammaradiénone, etc.), tandis que d'autres, qui disparaissent rapidement (α -amyronone, stigmasta-3,5-diène-7-one, etc.), mènent très certainement à la formation de produits d'altération triterpéniques de polarité plus importante.

Les effets de l'irradiation lumineuse sur les résines sont plus manifestes que ceux du traitement thermique, et également mieux caractérisés, du fait des nombreuses études menées sur l'altération au cours du temps de vernis picturaux de résines triterpéniques. Des processus radicalaires d'autooxydation sont à l'origine des modifications de leur composition moléculaire (disparition de certains composés, formation de nouveaux produits contenant des groupements hydroxyles, carbonyles et acides carboxyliques ou des doubles liaisons). Nous avons ainsi noté la disparition de quelques composés (stigmasta-3,5-diène-7-one, oléan-13(18)-ène-3-one, etc.) qui, par réactions photo-induites, sont très probablement transformés en composés plus polaires. La validité de cette hypothèse sera vérifiée lors de l'analyse par CG-SM des fractions des acides et des composés polyfonctionnalisés des vernis traités au cours de nos expériences de simulation. Des réactions d'autooxydation nous ont par ailleurs permis d'expliquer la présence d'un certain nombre de composés, détectés dans les vernis irradiés et non dans les vernis frais (aldéhydes oléanonique et ursonique, oléan-9(11),12-diène-3-one, ursa-9(11),12-diène-3-one, etc.).

L'exposition à la lumière des échantillons étudiés dans le cadre de ce travail, ne serait-ce qu'au moment de la collecte de la résine, ne pouvant être totalement évitée et entraîne leur oxydation photo-induite, via des réactions radicalaires autooxydatives.

D'autres expériences d'irradiation de composés isolés en solution pourraient être menées afin de déterminer le devenir de chaque composé individuellement. L'analyse de vernis picturaux (vieillis sur des toiles en musées), selon notre protocole expérimental, compléterait ces travaux.

Nous avons également mis en évidence dans deux séries d'échantillons (épaves du Brunei et de Malacca), la présence de produits de biodégradation de triterpènes pentacycliques de végétaux supérieurs, qui n'avaient encore jamais été détectés dans des résines végétales trouvées en contexte archéologique. Nous avons ainsi mis en évidence dans les fractions apolaires de ces échantillons, des composés tétracycliques, les des-A-

triterpénoïdes. Des des-A-triterpénoïdes portant de 0 à 3 degrés d'insaturation supplémentaire(s), ainsi que quelques dérivés aromatiques correspondants, ont été isolés dans ces échantillons où ils constituent un massif de composés aux masses molaires intermédiaires à celles des sesquiterpénoïdes et triterpénoïdes. La séquence réactionnelle menant à de tels dérivés démarre, sous contrôle microbien, par la perte du cycle A des précurseurs pentacycliques et se poursuit par l'aromatisation progressive de ces composés du cycle B vers le cycle D (voie 1°).

Nous avons par ailleurs mis en évidence dans les fractions apolaires des prélèvements d'un échantillon provenant de l'épave du Brunei, la présence de triterpènes pentacycliques polyaromatiques. Ces composés résultent de l'aromatisation progressive des précurseurs, initiée dans le cycle A par la perte de la fonction oxygénée en position 3 et se poursuivant vers le cycle D ou le cycle E, par déshydrogénations et par pertes de méthyles angulaires, sous l'influence de micro-organismes (voie 2°).

Ces deux types de dérivés, déjà étudiés en géologie, proviennent de deux voies distinctes de biodégradation très probablement contrôlées par des associations de micro-organismes spécifiques. Nous avons observé la mise en place de ces deux voies de biodégradation en parallèle dans les échantillons de l'épave de Malacca, mais elles n'évoluent pas de la même manière. Des expériences de simulations microbiologiques (incubation de 3-oxy/hydroxy-triterpénoïdes avec des souches appropriées) permettraient éventuellement de caractériser les associations de micro-organismes qui régissent chacune de ces deux voies de biodégradation.

Les échantillons archéologiques étudiés dans le cadre de ce travail présentent des compositions disparates (dammars d'espèces et de genres différents, pures ou en mélange avec une ou plusieurs autres substances organiques, Figure 5. 1) et ont été prélevés dans des environnements divers : il ne nous a donc pas été possible d'établir un schéma d'altération englobant tous ces échantillons.

Echantillon	Dammar	Autres matériaux	Altération	Divers
1894	<i>Dipterocarpus cf. dyeri</i>			
1873	<i>Dipterocarpus (intricatus Dyer ?)</i>	Soufre	Biodégradation	
1874	<i>Dipterocarpus (cf. dyeri ?)</i>	Soufre	Biodégradation	
2307	<i>Dipterocarpus (intricatus Dyer ?)</i>			Gemmage par brûlage
2308	<i>Dipterocarpus (?)</i>			
2036	<i>Dipterocarpus (?)</i>		Biodégradation	
2037	<i>Dipterocarpus</i> <i>Shorea (?)</i>	Soufre Poix	Biodégradation	
2038	<i>Dipterocarpus</i> <i>Shorea (?)</i>	Soufre Poix Bitume	Biodégradation	
2039	<i>Dipterocarpus (?)</i>			

Figure 5.1 Récapitulatif des résultats.

Partie expérimentale

1 Observation des échantillons

Les échantillons sont observés à l'œil nu, puis photographiés. Dans certains cas, une binoculaire Nikon *SMZ 10* (oculaire 10× ; agrandissement de 6,6× à 40×) a été employée pour des observations plus précises.

2 Analyses isotopiques

Les analyses isotopiques ont été réalisées au Service Central d'Analyse du CNRS à Vernaison, à l'aide d'un analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse isotopique. Pour cela, on réalise une combustion totale à 1050°C de quelques milligrammes d'un échantillon homogène sous courant d'un mélange d'oxygène et d'hélium. Le carbone est transformé en dioxyde de carbone qui est séparé des autres produits de combustion sur une colonne chromatographique. L'étalonnage de l'analyseur est effectué à l'aide d'un gaz étalon interne, préalablement analysé afin de connaître sa valeur isotopique à l'aide de substances de référence certifiées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA).

Les mesures sont déterminées par comparaison avec un standard de référence international appelé PDB (Pee Dee Belemnite, carbonate de calcium provenant d'un rostre fossile de bélemnite datant du crétacé et extrait de la formation géologique de Pee Dee en Caroline du Sud) et les valeurs isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$) sont calculées selon la formule suivante et exprimées en ‰ PDB :

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{standard}}} \right) - 1 \right] \times 1000 \quad \text{avec } R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$$

La précision de ces mesures pour des substances naturelles est de 0,30‰ sur le delta.

Le PDB étant très riche en ${}^{13}\text{C}$, la plupart des produits organiques en abondance naturelle présenteront des déviations isotopiques négatives.

Dans ce manuscrit, les valeurs données pour les échantillons étudiés correspondent aux valeurs moyennes obtenues après deux déterminations du $\delta^{13}\text{C}$.

3 Analyses géochimiques

3.1 Précautions particulières

Afin d'éviter toute contamination organique de nos échantillons, un certain nombre de précautions particulières ont été prises :

- Tous les solvants commerciaux utilisés ont été redistillés.
- Le coton, le sable, la célite et la silice ont été extraits durant deux jours au dichlorométhane dans un soxhlet. La silice, une fois sèche, est réactivée dans une étuve à 120°C durant 24h.
- Toute la verrerie utilisée a été soigneusement lavée au détergent, rincée abondamment à l'eau, séchée à l'acétone, puis lavée au dichlorométhane redistillé.
- Les plaques de silice pour les chromatographies sur couche mince ont été lavées à l'acétate d'éthyle, séchées durant 24 heures à température ambiante avant d'être réactivées une nuit à l'étuve à 120°C.
- Les diverses fractions obtenues au cours de notre protocole ont été conservées à sec et à froid (-18°C) sous atmosphère inerte.

3.2 Préparation des extraits organiques

Les échantillons finement broyés dans un mortier en agate (préalablement lavé de la même manière que la verrerie, *cf.* 3.1), sont extraits durant 5 minutes dans un bain à ultrasons, au minimum trois fois à l'aide d'un mélange dichlorométhane/méthanol 9/1 v/v, puis au moins une fois à l'aide d'un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 3/2 v/v. Après chaque extraction, les surnageants sont séparés du résidu solide par décantation, collectés et combinés pour constituer l'extrait organique total après évaporation des solvants d'extraction sous pression réduite.

3.3 Fractionnement des extraits organiques

Le protocole analytique mis en oeuvre pour l'étude du mélange complexe que représente l'extrait organique est schématisé dans la Figure E.1.

Les composés sont séparés selon leur polarité grâce aux techniques de chromatographie classiques. Pour cela, l'extrait organique est dissous dans un minimum de dichlorométhane et est fractionné par chromatographie liquide après dépôt sur colonne de silice préalablement conditionnée au cyclohexane. La fraction peu polaire F1 est éluée au cyclohexane. La fraction polaire F2 est éluée au dichlorométhane, puis à l'aide d'un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 1/1 v/v. Enfin, la fraction très polaire F3 est éluée à l'aide du mélange dichlorométhane/méthanol dans les proportions 3/2 v/v : cette dernière renferme les composés polyfonctionnalisés.

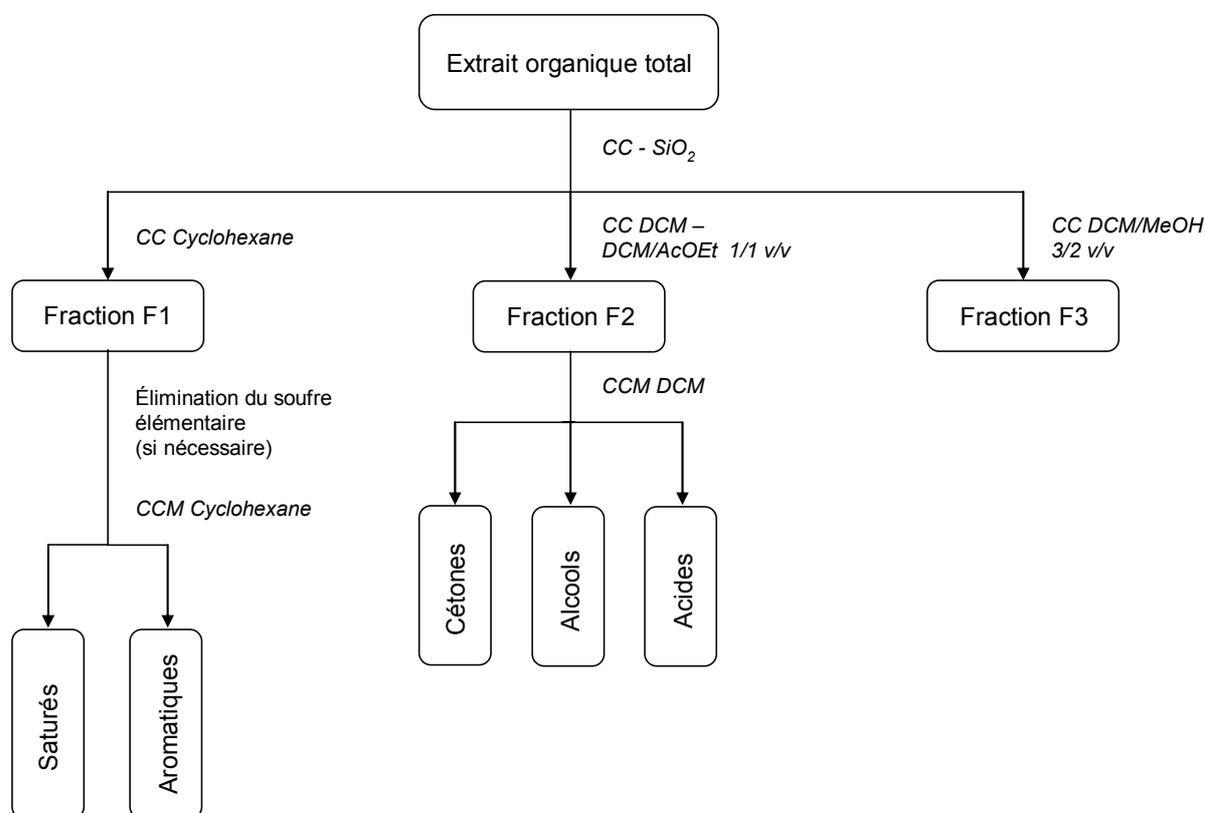


Figure E.1 *Protocole analytique.*

4 Techniques chromatographiques

4.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ de 0.25 mm d'épaisseur (Merck).

La fraction F1 est déposée sur une plaque de silice et éluée au cyclohexane. Le fractionnement est réalisé à l'aide de produits de référence permettant de délimiter des zones de rétention frontale (Rf), selon le schéma présenté dans la Figure E.2.

Rf = 0,85-1 : hydrocarbures saturés (référence : soufre élémentaire)

Rf = 0,1-0,85 : hydrocarbures aromatiques (référence : dibenzathracène).

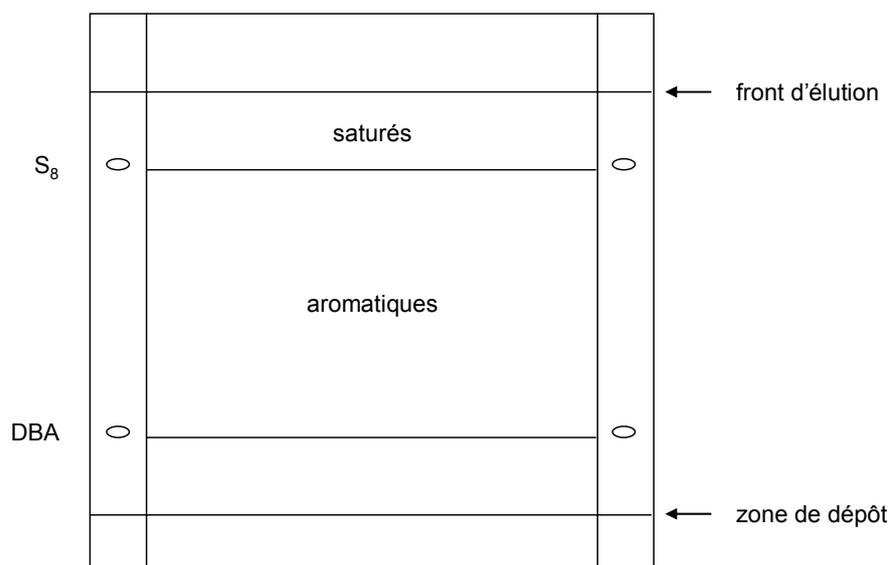


Figure E.2 Schéma de fractionnement de la fraction F1 par CCM (élution au cyclohexane).

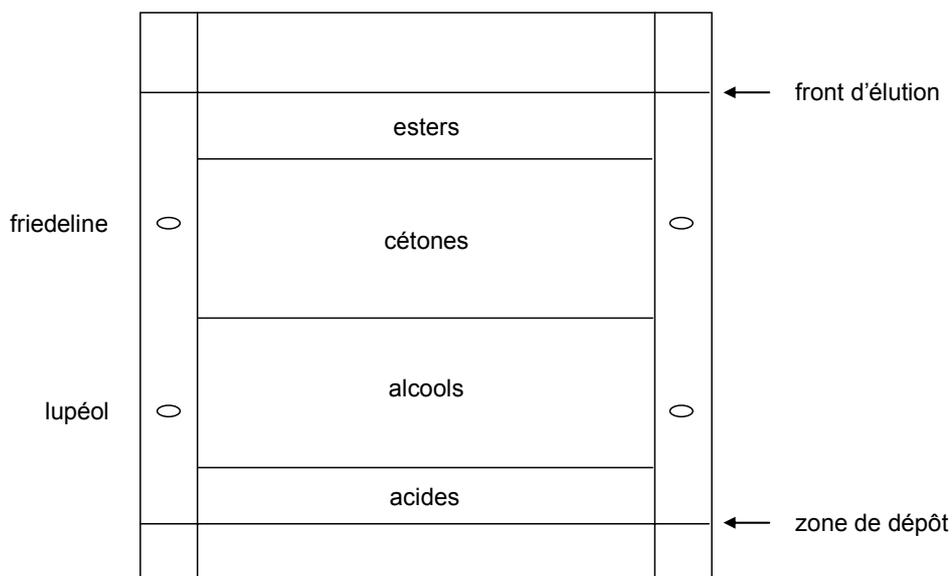


Figure E.3 Schéma de fractionnement de la fraction F2 par CCM (élution au dichlorométhane).

La fraction F2 est déposée sur une plaque de silice et éluée au dichlorométhane. Le fractionnement est réalisé à l'aide de produits de référence permettant de délimiter des zones de Rf, selon le schéma présenté à la Figure E.3.

Rf = 0,8-1 : esters

Rf = 0,4-0,8 : cétones (référence : friedeline)

Rf = 0,1-0,4 : alcools (référence : lupéol)

Rf = 0-0,1 : acides

4.2 Chromatographie sur colonne de silice (CC)

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur gel de silice 60 de granulométrie 40-63 μm (Merck).

4.3 Chromatographie en phase gazeuse (CG)

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées sur un appareil HEWLETT-PACKARD HP 6890 *series* équipé d'un injecteur "on-column" et d'un détecteur à ionisation de flamme. L'appareil est piloté par un ordinateur PC, muni du logiciel HP GC ChemStation.

Conditions d'utilisation :

- Programme de températures: 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-300°C (4°C/min), isotherme à 300°C (30min).
- Température de l'injecteur : asservie au programme de températures.
- Température du détecteur : 300°C.
- Gaz vecteur : hydrogène, régulé en débit constant de 2,5 mL/min.

Les injections en chromatographie gazeuse ont été réalisées sur une colonne capillaire en quartz HP-5 (phase de diméthylsiloxane comportant 5% de groupements phényles) dont les caractéristiques sont les suivantes : HP-5 30 m x 0,32 mm (diamètre interne) x 0,25 μm (épaisseur du film).

Les expériences de coinjection en chromatographie gazeuse ont été réalisées sur une colonne HP-5 déjà caractérisée ainsi que sur une colonne capillaire en quartz DB-17-HT de phase différente (phase de diméthylsiloxane comportant 50% de groupements phényles) dont les caractéristiques sont les suivantes : DB-17-HT 30 m x 0,25 mm (diamètre interne) x 0,15 µm (épaisseur du film).

5 Mesures physiques

5.1 Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse ont été obtenus par impact électronique ou par ionisation chimique par couplage CG-SM sur un appareil VARIAN 1200 L couplé à un chromatographe en phase gazeuse VARIAN CP-3800 équipé d'un injecteur automatique "on-column" et piloté par un ordinateur DELL muni du logiciel GC/MS WORKSTATION Saturn® (VARIAN).

Les introductions directes en spectrométrie de masse ont été réalisées sur un appareil MAT TSQ 700 couplé à un chromatographe en phase gazeuse VARIAN 3400 équipé d'un injecteur "on-column" et piloté par un ordinateur DEC STATION 5000 muni du logiciel ICIS.

Conditions d'utilisation:

- Colonne capillaires en quartz :
HP-5MS 30 m x 0,32 mm (diamètre interne) x 0,25 µm (épaisseur du film).
- Programmation de l'injecteur : 35°C, 35-300°C (200°C/min), 300°C (85min).
- Température de la source : 180°C.
- Programme de températures de la colonne : 40°C (1 min), 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-300°C (4°C/min), isotherme à 300°C (30 min).
- Gaz vecteur : hélium, débit constant de 1,5 mL/min.
- Gamme de masses : $m/z = 50$ à 700 u.m.a.
- IE, énergie d'ionisation : 70 eV.
- CI, gaz réactant : ammoniac.

Les expériences de SM-SM ont été réalisées avec de l'argon comme gaz de collision et des énergies comprises entre 4 et 8 eV.

5.2 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les études de résonance magnétique nucléaire ^1H , ^1H -RMN (400MHz) ont été réalisées en solution dans le chloroforme deutéré sur un appareil Bruker Avance DPX-400 (400 MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane ($\delta^1\text{H}$: 7.26 ppm, $\delta^{13}\text{C}$: 77 ppm). Les constantes de couplage sont exprimées en hertz (Hz).

6 Désulfuration

Du soufre est présent dans certaines fractions apolaires F1 : celui-ci doit être éliminé avant injection en CG-MS car il endommage les colonnes capillaires CG (Innes *et al.*, 1997). Pour cela, du cuivre métallique (Cu 40 mesh 99,5%) est placé dans un erlen d'eau distillée et activé par de l'acide chlorhydrique (HCl 37%). Le mélange eau/acide est éliminé et le cuivre lavé à l'eau distillée jusqu'à neutralité. Le cuivre est ensuite séché à l'acétone avant d'être lavé plusieurs fois au dichlorométhane redistillé.

On ajoute du cuivre à la fraction F1 en solution dans le dichlorométhane. Le mélange est conservé 15 minutes à température ambiante, avant d'être filtré sur célite (diatomite) afin de séparer la fraction du cuivre.

7 Dérivations

Les composés portant des groupements hydroxyles et/ou carboxyles doivent être dérivés afin d'améliorer leur comportement chromatographique vis-à-vis des colonnes capillaires utilisées en routine au laboratoire.

7.1 Acétylation

On ajoute 500 μL de pyridine et 500 μL d'anhydride acétique aux fractions sèches (solvants évaporés sous flux d'azote ou d'argon) des alcools et des composés polyfonctionnalisés. Le milieu réactionnel est placé durant 2 heures à 60°C (Innes *et al.*, 1997,

Figure E.4). Les réactifs sont ensuite éliminés par évaporation à sec sous flux d'azote ou d'argon.

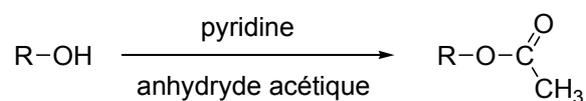


Figure E.4 Réaction d'acétylation des fonctions hydroxyles.

La fraction des alcools est ensuite purifiée sur une petite colonne chromatographique (éluant : DCM/AcOEt 1/1 v/v) avant d'être analysée en CG-SM.

On ajoute 1 mL de méthanol à la fraction des composés polyfonctionnalisés. Le mélange est placé durant une heure à température ambiante avant évaporation du méthanol et poursuite de la dérivation des composés de cette fraction.

7.2 Méthylation

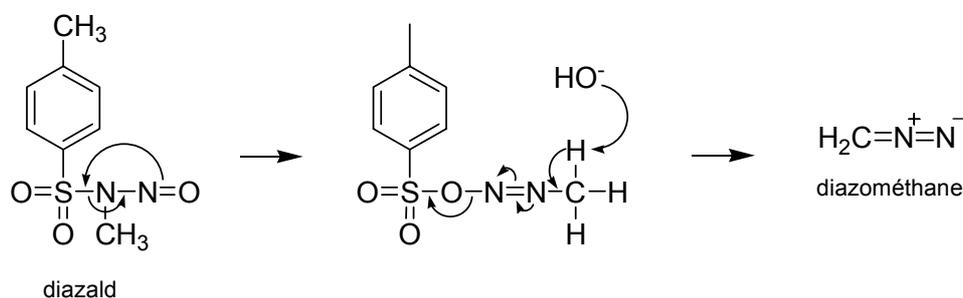


Figure E.5 Synthèse de diazométhane à partir de diazald.

On ajoute 1 mL d'une solution étherée de diazométhane (Figure E.5), préparée à partir de *N*-méthyl-*N*-nitroso-*p*-toluènesulfonamide (Diazald) dans un générateur MNNG (*N*-méthyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine) Diazométhane (Aldrich), à la fraction des acides, ainsi qu'à celle, préalablement acétylée, des composés polyfonctionnalisés (Technical Bulletin AL-180, 2003, Wisconsin; Fales *et al.*, 1973; Ngan and Toofan, 1991).

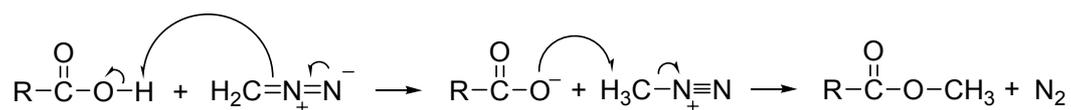


Figure E.6 Méthylation des groupements carboxyliques par application de diazométhane.

Les mélanges réactionnels sont placés durant 2 heures à température ambiante (Figure E.6). Ces fractions sont ensuite évaporées à sec sous flux d'azote ou d'argon.

La fraction des composés polyfonctionnalisés est alors purifiée sur colonne chromatographique de silice, avant d'être analysée en CG-MS.

8 Synthèse du bétulonol

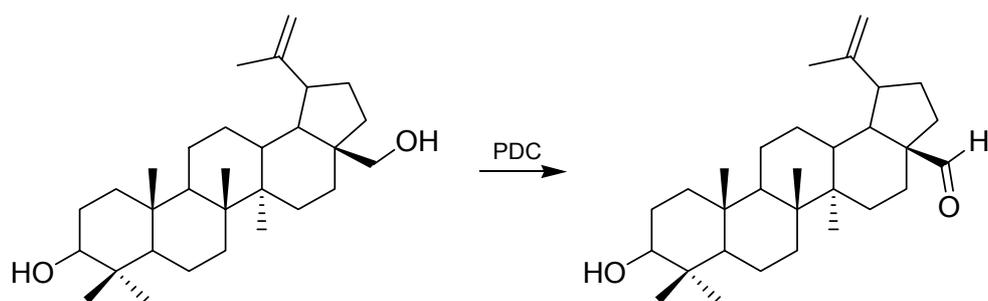


Figure E.7 Synthèse de bétulonol à partir de bétuline.

Le bétulonol **T34** a été préparé à partir de bétuline (Figure E.7) en suivant une procédure analogue à celle décrite par Pichette *et al.*, 2004.

On dissout 170 mg de bétuline dans un volume minimum de dichlorométhane anhydre (10 mL). On y ajoute 10 g de dichromate de pyridinium en solution dans du dichlorométhane anhydre (20 mL) et le mélange résultant est agité durant 24 heures à température ambiante. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (élution au dichlorométhane et détection à l'acide phosphomolybdique).

Une fois la réaction terminée, l'essentiel du dichromate de pyridinium est éliminé par centrifugation (10 min à 2000 tr/min). La solution est ensuite filtrée sur colonne de silice par élution au dichlorométhane, afin d'éliminer le dichromate de pyridinium résiduel. Le mélange

de produits oxydés est séparé par chromatographie sur couche mince (élution au dichlorométhane) et les composés sont révélés par la rhodamine sous UV.

Le bétulonol **T34** ainsi obtenu est caractérisé par ses données spectrales (RMN, SM), similaires à celles présentées dans la littérature (Lavoie, 2001) :

RMN ^1H (400 Hz, CDCl_3) 9.67 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-28),
 4.76 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-29)
 4.63 (1H, t, $J=1.8$ Hz, H-29)
 2.88 (1H, td, $J=11.2$ et 5.8 Hz, H-19)
 2.44 (2H, m, H-2)
 1.10-2.12 (25H, m, CH and CH_2)
 1.70 (3H, s, CH_3 -30)
 1.07, 1.02, 0.98, 0.95, 0.92 (3H, tous s, $5 \times \text{CH}_3$)

9 Expériences de simulation

9.1 Simulation d'altération photochimique

9.1.1 Protocole

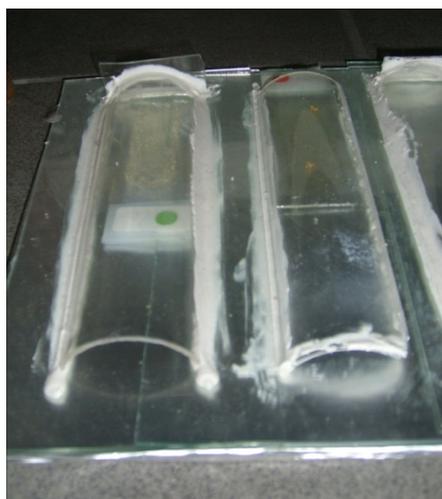


Figure E.8 Vernis de dammar (*Dipterocarpus cf. dyeri* et *Shorea guiso* Blume).

Des vernis de dammars ont été préparés à partir de 40 mg de résine broyée dissoute dans du dichlorométhane et répartie de manière égale sur deux plaques de verre, avant évaporation lente du solvant durant une nuit. Pour cela, on utilise les résines fraîches appartenant à deux espèces préalablement étudiées au laboratoire : *Dipterocarpus cf. dyeri* et *Shorea guiso* Blume (Figure E.8).

L'irradiation lumineuse des vernis placés sous tunnel de quartz a été réalisée à l'aide d'une lampe à spectre lumière du jour (lampe Daylight – 5800K, Powerstar HQI-TS 1000W) placée à 50 cm des échantillons. Leur exposition a été menée durant 790 heures au contact de l'air, à une température moyenne de 27,7°C.

9.1.2 Analyses

Au bout de 360 et 790 heures d'irradiation, les vernis sont retirés des plaques de verres par grattage et conditionnés en piluliers avant d'être dissous dans du dichlorométhane par passage aux ultrasons durant 30 secondes.

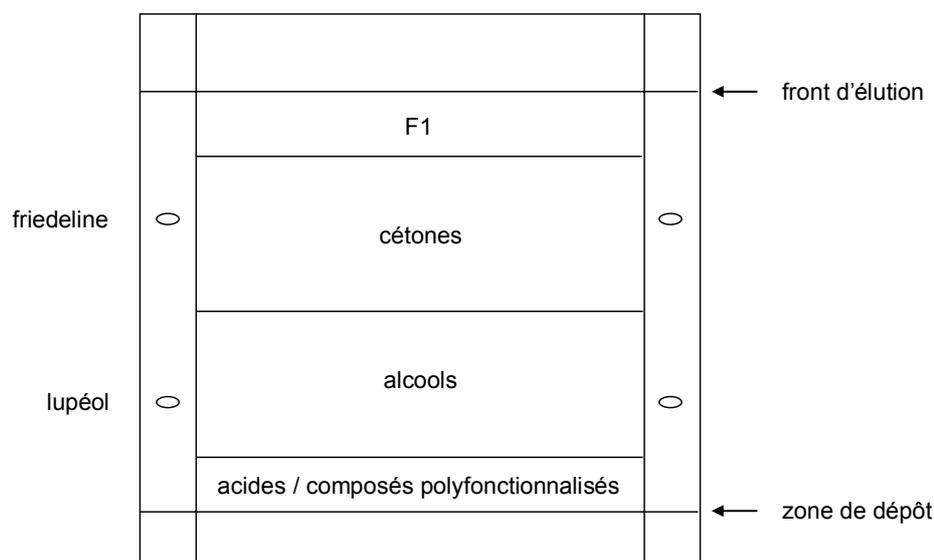


Figure E.9 Schéma de fractionnement de vernis par CCM (élution au dichlorométhane).

Ces vernis sont ensuite fractionnés par CCM (élution au dichlorométhane). L'utilisation de produits de référence (friedeline et lupéol) permet la séparation de la fraction F1 de celles des

cétones, des alcools et de la fraction renfermant les acides en mélange avec les composés polyfonctionnalisés (Figure E.9).

Ce dernier mélange est séparé sur colonne de silice par élution avec un mélange DCM/AcOEt 1/1 v/v. Les fractions des alcools, des acides et des composés polyfonctionnalisés sont ensuite dérivées (*cf.* paragraphe 7), avant analyse par CG-SM de l'ensemble des fractions.

Afin de valider les résultats obtenus, les mêmes analyses ont été réalisées sur des vernis préparés et traités de la même manière mais qui n'ont pas été exposés à la lumière.

9.2 Simulation d'altération thermique

9.2.1 Protocole

On dissout 50 mg de résine broyée de *Shorea guiso* Blume dans du dichlorométhane. Cette solution est distribuée en quantités égales dans 7 tubes à sceller. Les parois des tubes sont alors soigneusement rincées au dichlorométhane afin d'y éliminer toute trace de résine, principalement au niveau du resserrement du tube où se fera le scellage. Le solvant est ensuite évaporé à sec sous flux d'azote. Les tubes sont alors scellés sous atmosphère inerte avant d'être chauffés de manière homogène dans un bain de sable placé dans un four durant 9 heures à 200 et 300°C.

9.2.2 Analyses

Après refroidissement lent, les tubes scellés sont ouverts à l'aide d'un couteau à verre. Les résines sont alors récupérées par dissolution dans du dichlorométhane et fractionnées par CCM (élution au DCM), à l'aide de produits de référence (friedeline et lupéol) afin de séparer les diverses fractions comme précédemment (*cf.* 9.1.2, Figure E.9). L'ensemble des fractions ainsi obtenues est analysé par CG-SM.

Afin de valider les résultats obtenus, les mêmes analyses ont été réalisées sur la résine contenue dans un tube scellé préparé de la même manière mais qui n'a pas été chauffé.

10 Synthèse de A-*neo*-triterpènes

De l' α -amyrine est mélangée à de la montmorillonite K10 (Fluka) dans un pilulier et le tout est chauffé à 300°C jusqu'à ce que le mélange noircisse (1 à 2 min). Le mélange est ensuite déposé sur une colonne de célite et élué au dichlorométhane.

Les A-*neo*-triterpènes sont caractérisés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Références bibliographiques

Technical Information Bulletin No. AL-180 (2003)

Diazald, MNNG and diazomethane generators, Aldrich Chemical, Milwaukee, Wisconsin.

Albrecht P. and Trendel J.M. (1987)

De nouvelles réactions microbiennes découvertes à l'aide de fossiles moléculaires. *Le courrier du C.N.R.S. supplément au n°68*, p. 84-86.

Aneja V.P., Das M., Kim D.-S. and Hartsell B.E. (1994)

Measurements and analysis of photochemical oxidants and trace gases in the rural troposphere of Southeast United States. *Israel Journal of Chemistry* **34**, p. 387-401.

Ankarfjard R. and Kegl M. (1998)

Tapping oleoresin from *Dipterocarpus alatus* (Dipterocarpaceae) in a Lao village. *Economic Botany* **52**, p. 7-14.

Appanah S., Ashton M.S., Bawa K.S., Curtet L., Elouard C., Jantan I., Krishnapillay B., Lee S.S., Maury-Lechon G., Shiva M.P., Tompsett P.B. and Weinland G. (1998)

A review of dipterocarps: taxonomy, ecology and silviculture. Appanah S., Turnbull J.W. (Eds.), Bogor.

Assimopoulou A.N. and Papageorgiou V.P. (2004)

GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. *Biomedical Chromatography* **19**, p. 285-311.

Aubaile-Sallenave F. (1987)

Bois et bateaux du Viêt Nam. David Brown (Eds.), Paris.

Bellina B. and Silapanth P. (2006)

Première campagne de fouilles à Khao Sam Kaeo (province de Chumphon, Thaïlande péninsulaire) *Chroniques, Bulletin de l'Ecole Française d'Extrême-Orient* **92**.

Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. and R.E. H. (1987)

Depletion in ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature* **329**, p. 708-710.

Bhatt J.R. (1987)

Development and structure of primary secretory ducts in the stem of *Commiphora wightii* (Burseraceae). *Annals of Botany* **10**, p. 405-416.

Bilimoff M. (2006)

Les plantes, les hommes et les dieux. Ouest-France (Eds.), Rennes.

Billy C. (1991)

Glossaire de Botanique. Lechevalier (Eds.), Paris.

Bisset N.G., Diaz M.A., Ehret C., Ourisson G., Palmade M., Patil F., Pesnelle P. and Streith J. (1966)

Etudes chimio-taxonomiques dans la famille des Dipterocarpacees-II. : Constituants du genre *Dipterocarpus* Gaertn. F. Essai de classification chimio-taxonomique. *Phytochemistry* **5**, p. 865-880.

- Bisset N.G., Diaz-Parra M.A., Ehret C. and Ourisson G. (1967)**
 Etudes chimio-taxonomiques dans la famille des Dipterocarpacees-III. : Constituants des genres *Anisoptera* Korth., *Cotylelobium* pierre, *Dryobalanops* gaertn.F. et *Upuna* sym. *Phytochemistry* **6**, p. 1396-1405.
- Bisset N.G., Chavanel V., Lantz J.-P. and Wolff R.E. (1971)**
 Constituants sesquiterpéniques et triterpéniques des résines du genre *Shorea*. *Phytochemistry* **10**, p. 2451-2463.
- Blanc L. (1998)**
 Les formations forestières du Parc National de Cat Tien (Viêt Nam) : caractérisation structurale et floristique, étude de la régénération naturelle et de la dynamique successionnelle. Ph.D. Thesis, Université Claude Bernard, Lyon.
- Boileau P., Pasich B. and Ratsimamanga A.R. (1964)**
Les triterpénoides en physiologie végétale et animale. Gauthier-Villars (Eds.), Paris.
- Brody R.H., H.G.M. E. and Pollard A.M. (2001)**
 A study of Amber and Copal samples using FT-Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A* **57**, p. 1325-1338.
- Budzikiewicz H., Wilson J.M. and Djerassi C. (1963)**
 Mass spectrometry in structural and stereochemical problems—XXXII. Pentacyclic Triterpenes. *Journal of the American Chemical Society* **85**, p. 3688-3699.
- Bui Thi Mai and Girard M. (2002)**
 Contenu végétal. Spores et grains de pollen, in *Géologie de la préhistoire : méthodes, techniques, applications*, Geopre (Eds.), p. 683-703.
- Bui Thi Mai and Girard M. (2007)**
 Les thuyên thung, bateaux-paniers ronds en bambou tressé du Centre Viêt Nam. *Neptunia* **248**, p. 17-23.
- Bui Thi Mai and Girard M. (2008)**
 De l'Archéopalynologie à l'Ethnobotanique : analyse d'oléorésines anciennes et récentes d'Asie tropicale. Bougon Papers (Eds.), Conférence EurASEEA 2006, p. 281-286.
- Cartoni G., Russo M.V., Spinelli F. and Talarico F. (2004)**
 GC-MS characterisation and identification of natural terpenic resins employed in works of art. *Annali di Chimica* **94**.
- Chaffee A.L. and Johns R.B. (1983)**
 Polycyclic aromatic hydrocarbons in Australian coals. I. Angularly fused pentacyclic tri- and tetraaromatic components of Victorian brown coal. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **47**, p. 2141-2155.
- Chaffee A.L. and Fookes C.J.R. (1988)**
 Polycyclic aromatic hydrocarbons in Australian coals--III. Structural elucidation by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Organic Geochemistry* **12**, p. 261-271.

- Charrié-Duhaut A.** (1999)
Etude des processus d'oxydation abiotique de bitumes pétroliers en conditions naturelles et simulées. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Charrié-Duhaut A., Connan J., Rouquette N., Adam P., Barbotin C., de Rozières M.-F., Tchaplal A. and Albrecht P.** (2007)
The canopic jars of Rameses II: real use revealed by molecular study of organic residues. *Journal of Archaeological Science* **34**, p. 957-967.
- Chiavari G., Fabbri D., Mazzeo R., Bocchini P. and Galletti G.C.** (1995)
Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of natural resins used for artistic objects. *Chromatographia* **41**, p. 273-281.
- Chiavari G. and Prati S.** (2003)
Analytical pyrolysis as diagnostic tool in the investigation of works of art. *Chromatographia* **58**, p. 543-554.
- Chitwood D.J.** (2002)
Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review Phytopathology* **40**, p. 221-249.
- Colombini M.P., Modugno F., Giannarelli S., Fuoco R. and Matteini M.** (2000)
GC-MS characterization of paint varnishes. *Microchemical Journal* **67**, p. 385-396.
- Colombini M.P., Giachi G., Modugno F., Pallecchi P. and Ribechini E.** (2003)
The characterization of paints and waterproofing materials from the shipwrecks found at the archaeological site of the Etruscan and Roman harbour of Pisa (Italy). *Archaeometry* **45**, p. 659-674.
- Connan J. and Deschesne O.** (1996)
Le bitume à Suse. Réunion Des Musées Nationaux (Eds.), Pau and Paris.
- Connan J.** (1999)
Use and trade of bitumen in antiquity and prehistory: molecular archaeology reveals secrets of past civilizations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **B 354**, p. 33-50.
- Connan J., Maurin B., Long L. and Sebire H.** (2002)
Identification de poix et de résine de conifère dans des échantillons archéologiques du lac de Sanguinet: exportation de poix en Atlantique à l'époque gallo-romaine. *Revue d'Archéométrie* **26**, p. 177-196.
- Connan J. and Nissenbaum A.** (2003)
Conifer tar on the keel and hull planking of the Ma'agan Mikhael Ship (Israel, 5th century BC): identification and comparison with natural products and artefacts employed in boat construction. *Journal of Archaeological Science* **30**, p. 709-719.
- Connan J. and Nissenbaum A.** (2004)
The organic geochemistry of the Hasbeya asphalt (Lebanon): comparison with asphalts from the Dead Sea area and Iraq. *Organic Geochemistry* **35**, p. 775-789.

- Connan J., Nissenbaum A., Imbus K., Zumberge J. and Macko S.** (2006)
Asphalt in iron age excavations from the Philistine Tel Mique-Ekron city (Israel): Origin and trade routes. *Organic Geochemistry* **37**, p. 1768-1786.
- Cooper W.J. and Zika R.G.** (1983)
Photochemical formation of hydrogen peroxide in surface and ground waters exposed to sunlight. *Science* **220**, p. 711-712.
- Corbet B.** (1980)
Origine et transformation de triterpènes dans des sédiments récents. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Corbet B. and Albrecht P.** (1980)
Origine et transformation des terpenes dans les sédiments récents. *Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau-sédiment marin, Colloques internationaux du C.N.R.S.* **293**.
- Corbet B., Albrecht P. and Ourisson G.** (1980)
Photochemical or photomimetic fossil triterpenoids in sediments and petroleum. *Journal of the American Chemical Society* **102**, p. 1171-1173.
- Croteau R., Kutchan T.M. and Lewis N.G.** (2002)
Natural Products (Secondary Metabolites), in *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan Bob, Grisse Wilhelm, Jones Russell L. (Eds.), p. 1408.
- Dalvai J.** (2007)
Etude de poix antiques par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Effets de l'altération. Master, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Das M.C. and Mahato S.B.** (1983)
Triterpenoids. *Phytochemistry* **22**, p. 1071-1095.
- Dastillung M.** (1976)
Lipides de sédiments récents. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- de la Rie E.R.** (1988a)
Photochemical and thermal degradation of films of Dammar resin. *Studies in Conservation* **33**, p. 53-70.
- de la Rie E.R.** (1988b)
Polymer stabilizers. A survey with reference to possible applications in the conservation field *Studies in Conservation* **33**, p. 9-22.
- de la Rie E.R.** (1992)
Stability and function of coatings used in conservation, in *Polymers in conservation*, Allen N.S., Edge M., Horie C.V. (Eds.), p. 62-81.
- de la Rie E.R.** (2003)
Why use synthetic picture varnish? Bernier J.-C., Guignot F., Mohen J.-P., Potier P. (Eds.), *Art et Chimie - Les polymères*, p. 63-68.

- De Wit H.** (1966)
Les plantes du monde - Tome 1. Hachette (Eds.), Paris.
- Diaz M.A., Ehret C., Ourisson G., Palmade M., Patil F., Pesnelle P. and Streith J.** (1966)
 Constituants des résines de *Dipterocarpus vietnamiens*. *Vietnam Chimica Acta*, p. 79-85.
- Diaz M.A. and Ourisson G.** (1966)
 Etudes chimiotaxonomiques dans la famille des Dipterocarpacees I. *Phytochemistry* **5**, p. 855-863.
- Dietemann P.** (2003)
 Towards more stable natural resin varnishes for paintings - The aging of terpenoid resins and varnishes. Ph.D. Thesis, Swiss Federal Institute of Technology (ETH).
- Dillon Gorham L. and Bryant V.M.** (2001)
 Pollen, phytoliths, and other microscopic plant remains in underwater archeology. *International Journal of Nautical Archaeology* **30**, p. 282-298.
- Diot F.** (1991)
 Analyse pollinique des mousses de calfatage du bateau fluvial à Godefroy, commune de Bouillac (Gironde). *Aquitania* t. **IX**, p. 225-235.
- Djerassi C., Budzikiewicz H. and Wilson J.M.** (1962)
 Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. Unsaturated pentacyclic triterpenoids. *Tetrahedron Letters* **3**, p. 263-270.
- Doménech-Carbó M.T., Kuckova S., de la Cruz-Cañizares J. and Osete-Cortina L.** (2006)
 Study of the influencing effect of pigments on the photoageing of terpenoid resins used as pictorial media. *Journal of Chromatography A* **1121**, p. 248-258.
- Echard J.P.** (2003)
 Le vernis des instruments de musique: principe et spécificité. Bernier J.-C., Guignot F., Mohen J.-P., Potier P. (Eds.), *Art et Chimie - Les polymères*, p. 75-80.
- Echard J.P., Benoit C., Peris-Vicente J., Malecki V., Gimeno-Adelantado J.V. and Vaiedelich S.** (2007)
 Gas chromatography/mass spectrometry characterization of historical varnishes of ancient Italian lutes and violin. *Analytica Chimica Acta* **584**, p. 172-180.
- Elgamal M.H.A. and Fayez M.B.E.** (1967)
 Dehydration and solvolysis products from glycyrrhetic acid. *Tetrahedron* **23**, p. 1633-1640.
- Elgamal M.H.A., Fayez M.B.E. and Kemp T.R.** (1969)
 The mass spectra of some triterpenoid dehydration products. *Organic Mass Spectrometry* **2**, p. 175-194.
- Ella A.B. and Tongacan A.L.** (1987)
 Tapping of palosapis [*Anisoptera thurifera* (Blanco) Blume ssp. *Thurifera*] for resin yield. *Forest Products Research and Development Institute Journal* **16**, p. 15-26.

- Fahn A.** (1979)
Secretory tissues in plants. Press Academic (Eds.), New York.
- Fales H.M., Jaouni T.M. and Babashak J.F.** (1973)
 Simple device for preparing ethereal diazomethane without resorting to codistillation. *Analytical Chemistry* **45**, p. 2302-2303.
- Farquhar G.D., O'Leary M.H. and Berry J.A.** (1982)
 On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**, p. 121-137.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. and Hubick K.T.** (1989)
 Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, p. 503-537.
- Flecker M.** (2000)
 A 9th-century Arab or Indian shipwreck in Indonesian waters. *International Journal of Nautical Archaeology* **29**, p. 199-217.
- Flecker M.** (2007)
 16th century portuguese shipwreck found off Malacca. *Heritage Asia*, p. 9-15.
- Flecker M.** (2008)
 A 9th-century Arab or Indian shipwreck in Indonesian waters: Addendum. *International Journal of Nautical Archaeology* **37**, p. 384-386.
- Fotinos S., Panaitescu L., Kletsas D., Platsinis H., Zervolea I., Skaltsounis A.-L., Mitakou S. and Magiatis P.** (2003)
 Use of Mastic and its components for the control of microbial infections
- Fron del J.W.** (1967)
 X-ray diffraction study of fossil Elemis. *Nature* **215**, p. 1360-1361.
- Gettings F.** (1971)
Polymer painting manual Vista Studio (Eds.), London.
- Gianno R., Erhardt D., von Endt D.W., Hopwood W. and Baker M.T.** (1990a)
 Archaeological resins from shipwrecks off the coast of Saipan and Thailand. *MASCA Research Papers in Science and Archaeology* **7**, p. 59-67.
- Gianno R., Erhardt W.D., Von Endt D.W., Hopwood W. and Baker M.T.** (1990b)
 Organic Contents of Ancient Vessels: Materials Analysis and Archaeological Investigation. Biers W.R., McGovern P.E. (Eds.), *MASCA Research Papers in Science and Archaeology*, p. 59-67.
- Girard M.** (1978)
 Résultats préliminaires de l'analyse pollinique. *L'épave romaine de la Madrague (Var): Campagnes 1972-1975. Fouilles de l'Institut d'Archéologie Méditerranéenne. 34th Supplément à "Galla"*, p. 112-116.
- Gupta D. and Singh J.** (1990)
 Triterpenoid saponins from *Centipeda minima*. *Phytochemistry* **29**, p. 1945-1950.

- Guy R.D., Reid E.M. and Krouse H.R.** (1986)
Factors affecting $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of inland halophytes. II. Ecophysiological interpretations of patterns in the field. *Canadian Journal of Botany* **64**, p. 2700-2707.
- Hairfield E.M. and Hairfield H.H.** (1990)
Identification of a late Bronze Age resin. *Analytical chemistry* **62**, p. 41-45.
- Haldane C.** (1991)
Recovery and analysis of plant remains from some Mediterranean shipwreck sites, in New light on early farming: recent developments in palaeoethnobotany, Renfrew J.M. (Eds.), p. 213-223.
- Hall Roth I.** (2003)
New threats to the 17th century warship Vasa. Bernier J.-C., Guignot F., Mohen J.-P., Potier P. (Eds.), Art et Chimie - Les polymères, p. 159-162.
- Haralampidis M.T. and Osbourn A.** (2002)
Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* **75**, p. 32-49.
- Harmatha J.** (2000)
Chemo-ecological role of spirostanol saponins in the interaction between plants and insects, in Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants, Olezsek W., Marston A. (Eds.).
- Hashimoto N., Aoyama T. and Shioiri T.** (1981)
New methods and reagents in organic synthesis. 14. A simple efficient preparation of methyl esters with trimethylsilyldiazomethane (TMSCHN₂) and its application to gas chromatographic analysis of fatty acids. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* **29**, p. 1475.
- Haven H.L.t. and Rullkötter J.** (1988)
The diagenetic fate of taraxer-14-ene and oleanene isomers. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **52**, p. 2543-2548.
- Hayes J.M., Takigiku R., Ocampo R., Callot H.J. and Albrecht P.** (1987)
Isotopic compositions and probable origins of organic molecules in the Eocene Messel shale. *Nature* **329**, p. 48-51.
- Hayes J.M., Freeman K.H., Popp B.N. and Hoham C.H.** (1990)
Compound-specific isotopic analyses: a novel tool for reconstruction of ancient biogeochemical processes. *Organic Geochemistry* **16**, p. 1115-1128.
- Hazai I., Alexander G. and Székely T.** (1989)
Study of aromatic biomarkers in brown coal extracts. *Fuel* **68**, p. 49-54.
- Hovaneissian M., Archier P., Mathe C. and Vieillescazes C.** (2006)
Contribution de la chimie analytique à l'étude des exsudats végétaux styrax, storax et benjoin. *Comptes Rendus Chimie* **9**, p. 1192-1202.
- Ingold K.U.** (1969)
Peroxy radicals. *Accounts of Chemical Research* **2**, p. 1-9.

- Innes H.E., Bishop A.N., Head I.M. and Farrimond P.** (1997)
 Preservation and diagenesis of hopanoids in Recent lacustrine sediments of Priest Pot, England. *Organic Geochemistry* **26**, p. 565-576.
- Jacob J., Disnar J.-R., Boussafir M., Spadano Albuquerque A.L., Sifeddine A. and Turcq B.** (2007)
 Contrasted distributions of triterpene derivatives in the sediments of Lake Caco reflect paleoenvironmental changes during the last 20,000 yrs in NE Brazil. *Organic Geochemistry* **38**, p. 180-197.
- Jansen H.S.** (1962)
 Depletion of carbon-13 in young Kauri tree. *Nature* **196**, p. 84-85.
- Karliner J. and Djerassi C.** (1966)
 Terpenoids. LVII. Mass spectral and nuclear magnetic resonance studies of pentacyclic triterpene hydrocarbons. *Journal of Organic Chemistry* **31**, p. 1945-1955.
- Kearns D.R.** (1971)
 Physical and chemical properties of singlet molecular oxygen. *Chemical Reviews* **71**, p. 395-427.
- Kopecký J.** (1992)
Organic Photochemistry: A Visual Approach. Wiley-Vch (Eds.), New York.
- Korcek S., Chenier J.H.B., Howard J.A. and Ingold K.U.** (1972)
 Absolute rate constants for hydrocarbon autoxidation. XXI. Activation energies for propagation and the correlation of propagation rate constant with carbon-hydrogen bond strengths. *Canadian Journal of Chemistry* **50**, p. 2285-2297.
- L'Hour M.** (2001)
La mémoire engloutie de Brunei, une aventure archéologique sous-marine. Textuel (Eds.), Paris.
- Laflamme R.E. and Hites R.A.** (1978)
 The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **42**, p. 289-303.
- Laflamme R.E. and Hites R.A.** (1979)
 Tetra- and pentacyclic, naturally-occurring, aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **43**, p. 1687-1691.
- Lambert J.B., Frye J.S., Lee T.A., Welch C.J. and Poinar G.O.J.** (1989)
 Analysis of Mexican Amber by carbon-13 NMR spectroscopy, in *Archaeological chemistry IV*, Allen R.O. (Eds.), p. 381-388.
- Lampert C.D., Glover I.C., Heron C.P., Stern B., Shoocongdej R. and Thompson G.B.** (2002)
 Characterization and radiocarbon dating of archaeological resins from Southeast Asia, in *Archaeological Chemistry - Materials, methods, and meaning*, Jakes K. A. (Eds.), p. 84-109.

- Lampert C.D.** (2003)
The characterisation and radiocarbon dating of archaeological resins on Southeast Asian ceramics. Ph.D. Thesis, University of Bradford.
- Langenheim J.H.** (2003)
Plant resins - Chemistry, Evolution, Ecology and Ethnobotany. Timber Press (Eds.), Portland, Cambridge.
- Lavoie S.** (2001)
Contribution à la synthèse de dérivés de l'acide bétulinique à partir de bétulinol extrait de l'écorce du bouleau blanc (*Betula papyrifera*). Master, Université du Québec, Chicoutimi.
- Lenta B.N., Weniger B., Antheaume C., Nougoué D.T., Ngouela S., Assob J.-C.N., Vonthron-Sénécheau C., Fokou P.A., Devkota K.P., Tsamo E. and Sewald N.** (2007)
Anthraquinones from the stem bark of *Stereospermum zenkeri* with antimicrobial activity. *Phytochemistry* **68**, p. 1595-1599.
- Lloyd J. and Farquhar G.D.** (1994)
¹³C discrimination during CO₂ assimilation by the terrestrial biosphere. *Oecologia* **99**, p. 201-215.
- Lockheart M.J., van Bergen P.F. and Evershed R.P.** (1997)
Variations in the stable carbon isotope compositions of individual lipids from the leaves of modern angiosperms: implications for the study of sedimentary organic matter. *Organic Geochemistry* **26**, p. 137-153.
- Logan G.A. and Eglinton G.** (1994)
Biogeochemistry of the Miocene lacustrine deposit, at Clarkia, northern Idaho, U.S.A. *Organic Geochemistry* **21**, p. 857-870.
- Lohmann F.** (1988)
Aromatisations microbiennes de triterpènes végétaux. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Lohmann F., Trendel J.-M., Hetru C. and Albrecht P.** (1990)
C-29 tritiated b-amyryn: Chemical synthesis aiming at the study of aromatization processes in sediments. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **28**, p. 377-386.
- Longstreth D.J. and Noble P.S.** (1977)
Salinity effects on leaf anatomy. Consequences for photosynthesis. *Plant Physiology* **63**, p. 700-703.
- Loureiro M.R.B. and Cardoso J.N.** (1990)
Aromatic hydrocarbons in the Paraíba Valley oil shale. *Organic Geochemistry* **15**, p. 351-359.
- Mahato S.B. and Sen S.** (1997)
Advances in triterpenoid research, 1990-1994. *Phytochemistry* **44**, p. 1185-1236.

- Marouf A.** (2000)
Dictionnaire de la botanique - Les Phanérogames. Dunod (Eds.), Paris.
- Matthews D.E. and Hayes J.M.** (1978)
 Isotope-ratio monitoring gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **50**, p. 1465-1473.
- McCaskill D. and Croteau R.** (1998)
 Some caveats for bioengineering terpenoid metabolism in plants. *Trends in Biotechnology* **16**, p. 349-355.
- McManus S.P. and Pittman C.U.** (1973)
Organic Reactive Intermediates. Mc Manus S.P. (Eds.), New York.
- Méhay S.** (2006)
 Etude de pétroles biodégradés: l'isotopie du soufre comme outil de corrélation et marqueur de processus d'altération. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Messer A.C.** (1990)
 Traditional and chemical techniques for stimulation of *Shorea javanica* (Dipterocarpaceae) resin exudation in Sumatra. *Economic Botany* **44**, p. 463-469.
- Millet J.** (2003)
 Etude de la biodiversité arborée, de la structure et de l'évolution dynamique du massif forestier de Tan Phu (Vietnam) après son exploitation. Ph.D. Thesis, Université Claude Bernard, Lyon.
- Mills J.S. and Werner A.E.A.** (1955)
 The chemistry of dammar resin. *Journal of the Chemical Society*, p. 3132-3140.
- Mills J.S.** (1956)
 The constitution of the neutral tetracyclic triterpenes of dammar resin. *Journal of the Chemical Society*, p. 2196-2202.
- Mills J.S. and White R.** (1977)
 Natural resins of art and archaeology - Their sources, chemistry and identification. *Studies in Conservation* **22**, p. 12-31.
- Modugno F., Ribechini E. and Colombini M.P.** (2006)
 Chemical study of triterpenoid resinous materials in archaeological findings by means of direct exposure electron ionisation mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **20**, p. 1787-1800.
- Murray A.P., Edwards D., Hope J.M., Boreham C.J., Booth W.E., Alexander R.A. and Summons R.E.** (1998)
 Carbon isotope biogeochemistry of plant resins and derived hydrocarbons. *Organic Geochemistry* **29**, p. 1199-1214.

- Ngan F. and Toofan M.** (1991)
Modification of preparation of Diazomethane for methyl esterification of environmental samples analysis by gas chromatography. *Journal of Chromatographic Science* **29**, p. 8-10.
- Nissenbaum A. and Yakir D.** (1995)
Stable isotope composition of amber, in Amber, Resinite, and Fossil Resins, Anderson Ken B. , Crelling John C. (Eds.), p. 32-42.
- Nissenbaum A., Yakir D. and Langenheim J.H.** (2005)
Bulk carbon, oxygen, and hydrogen stable isotope composition of recent resins from amber-producing *Hymenaea*. *Naturwissenschaften* **92**, p. 26-29.
- Pant P. and Rastogi R.P.** (1979)
The triterpenoids. *Phytochemistry* **18**, p. 1095-1108.
- Papageorgiou V.P., Bakola-Christianopoulou M.N., Apazidou K.K. and Psarros E.E.** (1997)
Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *Journal of Chromatography A* **769**, p. 263-273.
- Perkel' A.L., Voronina S.G. and Freidin B.G.** (1994)
Degradation of the carbon chain in the liquid-phase oxidation of saturated compounds. *Russian Chemical Reviews* **63**, p. 751-766.
- Peters K.E., Walters C.C. and Moldowan J.M.** (2005)
The Biomarker Guide. Press Cambridge University (Eds.), New York.
- Philp R.P.** (1985)
Fossil fuel biomarkers. Applications and spectra. Co. Elsevier Science Pub. (Eds.), United States.
- Pichette A., Liu H., Roy C., Tanguay S., Simard F. and Lavoie S.** (2004)
Selective oxidation of betulin for the preparation of betulinic acid, an antitumoral compound. *Synthetic communications* **34**, p. 3925-3937.
- Popp B.N., Takigiku R., Hayes J.M., Louda J.W. and Baker E.W.** (1989)
The post-Paleozoic chronology and mechanism of ¹³C depletion in primary marine organic matter. *American Journal of Science* **289**, p. 436-454.
- Regert M. and Rolando C.** (1996)
Archéologie des résidus organiques. De la chimie analytique à l'archéologie: un état de la question. *Techné* **3**, p. 118-128.
- Regert M.** (2000)
Nouvelles méthodes combinant approche moléculaire et isotopique appliquées à l'archéologie. *Les nouvelles de l'archéologie* **80**, p. 39-45.
- Ries M.** (1986)
Etude des lipides dans divers types de sols - Aspects moléculaires. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

- Rohmer M., Knani M., Simonin P., Sutter B. and Sahn H.** (1993)
Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate. *Biochemical Journal* **295**, p. 121-129.
- Rullkötter J., Peakman T.M. and Lo Ten Haven H.** (1994)
Early diagenesis of terrigenous triterpenoids and its implications for petroleum geochemistry. *Organic Geochemistry* **21**, p. 215-233.
- Saptorahardjo A.** (1985)
Diagenèse précoce de la matière organique dans la série sédimentaire du delta de la Mahakam, Indonésie: aspects moléculaires. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Schaeffle J.** (1979)
Marqueurs biologiques hydroaromatiques de sédiments et pétroles Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Schiffer M.B.** (1990)
The influence of surface treatment on heating effectiveness of ceramic vessels. *Journal of Archaeological Science* **17**, p. 373-381.
- Schmitter J.M., Arpino P.J. and Guiochon G.** (1981)
Isolation of degraded pentacyclic triterpenoid acids in a Nigerian crude oil and their identification as tetracyclic carboxylic acids resulting from ring A cleavage. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **45**, p. 1951-1955.
- Schoell M.** (1984a)
Recent advances in petroleum isotope geochemistry. *Organic Geochemistry* **6**, p. 645-663.
- Schoell M.** (1984b)
Stables isotopes in petroleum research, in *Advances in petroleum geochemistry*, Brooks J., Welte D.H. (Eds.), p. 215-245.
- Schwarz M.K.** (1994)
Terpen-Biosynthese in Ginkgo biloba: eine überraschende Geschichte. PhD Thesis, ETH.
- Seeman J.R. and Critchely C.** (1985)
Effects of salt stress on growth, ion content, stomatal behaviour and photosynthetic capacity of a salt-sensitive species, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta* **164**, p. 151-162.
- Sheu D.D., Kou P., Chiu C.-H. and Chen M.-J.** (1996)
Variability of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ in Taiwan fir: Growth effect and response to May-October temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**, p. 171-177.
- Skibo J.M.** (1992)
Pottery Function: A Use-Alteration Perspective. Springer (Eds.), New York.
- Spyckerelle C.** (1975)
Constituants aromatiques de sédiments. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

- Spyckerelle C., Greiner A.C., Albrecht P. and Ourisson G. (1977a)**
 Aromatic hydrocarbons from geological sources. Part IV. An octahydrochrysene derived from triterpenes in oil shale: 3,3,7,12a-tetramethyl-1,2,3,4,4a,11,12,12a-octahydrochrysene. *Journal of Chemical Research*, p. 332-333.
- Spyckerelle C., Greiner A.C., Albrecht P. and Ourisson G. (1977b)**
 Aromatic hydrocarbons from geological sources. Part III. A tetrahydrochrysene derived from triterpenes in recent and old sediments: 3,3,7-trimethyl-1,2,3,4-tetrahydrochrysene. *Journal of Chemical Research*, p. 330-331.
- Stern B., Lampert Moore C.D., Heron C. and Pollard A.M. (2008)**
 Bulk stable light isotopic ratios in recent and archaeological resins: towards detecting the transport of resins in Antiquity? *Archaeometry* **50**, p. 351-370.
- Stout S.A. (1992)**
 Aliphatic and aromatic triterpenoid hydrocarbons in a Tertiary angiospermous lignite. *Organic Geochemistry* **18**, p. 51-66.
- Stout S.A. (1995)**
 Resin-derived hydrocarbons in fresh and fossil dammar resin and Miocene rocks and oils in the Mahakam Delta, Indonesia, in Amber, resinite and fossil resins, Anderson K. B., Crelling J.-C. (Eds.).
- Streibl M. and Herout V. (1969)**
 Terpenoids - especially oxygenated mono-, sesqui-, di-, and triterpenes, in *Organic Geochemistry. Methods and Results.*, Eglinton G. , Murphy M. T. J. (Eds.), p. 402-424.
- Stuiver M. and Braziunas T.F. (1987)**
 Tree cellulose $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios and climatic change. *Nature* **328**, p. 58-60.
- Ten Haven H.L., Peakman T.M. and Rullkotter J. (1992)**
 [Delta]2-Triterpenes: Early intermediates in the diagenesis of terrigenous triterpenoids. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **56**, p. 1993-2000.
- Thompson A.M. (1994)**
 Aspects of modeling the tropospheric hydroxyl radical concentration. *Israel Journal of Chemistry* **34**, p. 277-288.
- Thomson G. (1963)**
 New picture varnishes, in Recent advances in conservation, Thomson G. (Eds.), p. 176.
- Tissier J.M. and Dastillung M. (1978)**
 Hydrocarbures polyaromatiques des sédiments, de l'eau de mer et de l'eau interstitielle, in *Géochimie organique des sédiments marins profonds Mission Orgon II, Atlantique - N.E. Brésil*, Editions du C.N.R.S., Combaz A., Pelet R. (Eds.), p. 275-283.
- Torquebiau E.F. (1984)**
 Man-made dipterocarp forest in Sumatra [including *Shorea javanica* tapped for resin]. *Agroforestry Systems* **2**, p. 103-127.

- Torssell K.B.G.** (1997)
The mevalonic acid pathway. The terpenes, in *Natural Product Chemistry. A mechanistic, biosynthetic and ecological approach*, Press Swedish Pharmaceutical (Eds.).
- Trendel J.** (1985)
Dégradation de triterpènes dans les sédiments - Aspects photochimiques et microbiologiques. Ph.D. Thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Trendel J.M., Lohmann F., Kintzinger J.P., Albrecht P., Chiarone A., Riche C., Cesario M., Guilhem J. and Pascard C.** (1989)
Identification of des-A-triterpenoid hydrocarbons occurring in surface sediments. *Tetrahedron* **45**, p. 4457-4470.
- Tripp J.A. and Hedges R.E.M.** (2004)
Single-compound isotopic analysis of organic materials in archaeology. *LC-GC Europe* **17**, p. 358-364.
- Tulloch A.P.** (1976)
Chemistry of waxes of higher plants, in *Chemistry and biochemistry of natural waxes*, Kolattukudy P.E. (Eds.), p. 236-289.
- Van Aarssen B.G.K., Cox H.C., Hoogendoorn P. and De Leeuw J.W.** (1990)
A cadinene biopolymer in fossil and extant dammar resins as a source for cadinanes and bicadinanes in crude oils from South East Asia. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **54**, p. 3021-3031.
- van der Doelen G.A., van den Berg K.J., Boon J.J., Shibayama N., de la Rie E.R. and Genuit W.J.L.** (1998a)
Analysis of fresh triterpenoid resins and aged triterpenoid varnishes by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation (tandem) mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **809**, p. 21-37.
- van der Doelen G.A., van der Berg K.J. and Boon J.J.** (1998b)
Comparative chromatographic and mass-spectrometric studies of triterpenoid varnishes: fresh material and aged samples from paintings. *Studies in Conservation* **43**, p. 249-264.
- van der Doelen G.A.** (1999)
Molecular studies of fresh and aged triterpenoid varnishes Ph.D. Thesis, University of Amsterdam.
- van der Doelen G.A. and Boon J.J.** (2000)
Artificial ageing of varnish triterpenoids in solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **134**, p. 45-57.
- van der Doelen G.A., van den Berg K.J. and Boon J.J.** (2003)
A comparison of weatherometer aged dammar varnishes and aged varnishes from paintings. Goupy J., Mohen J.-P. (Eds.), *Art et Chimie - La couleur*, p. 146-149.

- Vincent B.** (1996)
 Khok Phanom di pottery processing scheme. Klokke M.J., De Bruijn T. (Eds.), Southeast Asian Archeology 1996, Proceedings of the 6th International Conference of the European Association of Southeast Asian Archaeologists, p. 1-12.
- Vogel J.-C.** (1993)
 Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis, in Stable isotopes and plant carbon-water relations, Ehleringer J.R., Hall A.E., Farquhar G.D. (Eds.), p. 29-46.
- Vorononkov V.V., Vinogradov A.N. and Belyaev V.A.** (1970)
 Structural and steric factors determining the rate of autoxidation of α -methylene groups in alkylarenes and alkenes. *Russian Chemical Reviews* **39**, p. 944-952.
- Wakeham S.G., Schaffner C. and Giger W.** (1980)
 Polycyclic aromatic hydrocarbons in Recent lake sediments--II. Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **44**, p. 415-429.
- Whistler R.L.** (1993)
 Exudate gums, in Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives, Whistler R.L., Bemiller J.N. (Eds.), p. 309-339.
- Whitmore T.C.** (1988)
Tropical rain forest of the Far East. Clarendon Pr. (Eds.), Oxford.
- Witte L.** (1986)
 GC-MS methods for terpenoids, in Modern methods of plant analysis, Linskens H.F., Jackson J.F. (Eds.), p. 134-145.
- Wolff G.A., Trendel J.M. and Albrecht P.** (1989)
 Novel monoaromatic triterpenoid hydrocarbons occurring in sediments. *Tetrahedron* **45**, p. 6721-6728.
- Woolhouse A.D., Oung J.N., Philp R.P. and Weston R.J.** (1992)
 Triterpanes and ring-A degraded triterpanes as biomarkers characteristic of Tertiary oils derived from predominantly higher plant sources. *Organic Geochemistry* **18**, p. 23-31.
- Yoshikawa K., Arihara S. and Matsuura K.** (1991)
 A new type of antisweet principles occurring in *Gymnema sylvestre*. *Tetrahedron Letters* **32**, p. 789-792.
- Zumbühl S., Knochenmuss R., Wülfert S., Dubois F., Dale M.J. and Zenobi R.** (1998)
 A graphite-assisted laser desorption/ionization study of light-induced aging in triterpene Dammar and Mastic varnishes. *Analytical Chemistry* **70**, p. 707-715.

Annexes

Annexe 1 : Quantification

Résine 1880

1	Echantillon	63,7 mg	
2	Extrait organique	59,6 mg	93,7% de l'échantillon
3	Fraction F1	1 mg	1,6% de l'échantillon 1,7% de l'extrait organique
	Saturés	< 1 mg	
	Aromatiques	< 1 mg	
4	Fraction F2	25,2 mg	39,7% de l'échantillon 42,3% de l'extrait organique
	Cétones	2 mg	
	Alcools	6,3 mg	
	Acides	15,4 mg	
5	Fraction F3	24,4 mg	38,3% de l'échantillon 40,9% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	50,6 mg	79,4% de l'échantillon 84,9% de l'extrait organique

Résine 1882

1	Echantillon	95,3 mg	
2	Extrait organique	94,4 mg	99,1% de l'échantillon
3	Fraction F1	4 mg	4,2% de l'échantillon 4,2% de l'extrait organique
	Saturés	< 1 mg	
	Aromatiques	< 1 mg	
4	Fraction F2	69,6 mg	73% de l'échantillon 73,7% de l'extrait organique
	Cétones	5,6 mg	
	Alcools	9 mg	
	Acides	48 mg	
5	Fraction F3	20,8 mg	21,8% de l'échantillon 22% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	94,4 mg	99,1% de l'échantillon 100% de l'extrait organique

Résine 1884

1	Echantillon	66,4 mg	
2	Extrait organique	60,8 mg	92% de l'échantillon
3	Fraction F1	2,3 mg	3% de l'échantillon 4% de l'extrait organique
	Saturés	< 1mg	
	Aromatiques	< 1mg	
4	Fraction F2	42,1 mg	63% de l'échantillon 69% de l'extrait organique
	Cétones	< 1 mg	
	Alcools	3,6 mg	
	Acides	2,3 mg	
5	Fraction F3	12,8 mg	19% de l'échantillon 21% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	57,2 mg	86% de l'échantillon 94% de l'extrait organique

Résine 1888

1	Echantillon	101,1 mg	
2	Extrait organique	100,2 mg	99,1% de l'échantillon
3	Fraction F1	34,9 mg	34,5% de l'échantillon 34,8% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	46,8 mg	46,3% de l'échantillon 46,8% de l'extrait organique
	Cétones	1 mg	
	Alcools	4,9 mg	
	Acides	3,3 mg	
5	Fraction F3	5,8 mg	5,7% de l'échantillon 5,8% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	87,5 mg	86,5% de l'échantillon 87,3% de l'extrait organique

Résine 1885

1	Echantillon	82 mg	
2	Extrait organique	69,4 mg	84,6% de l'échantillon
3	Fraction F1	0,8 mg	1% de l'échantillon 1,2% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	51,1 mg	62,3% de l'échantillon 73,6% de l'extrait organique
	Cétones	< 1 mg	
	Alcools	7,9 mg	
	Acides	5 mg	
5	Fraction F3	17,3 mg	21,1% de l'échantillon 24,9% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	69,2 mg	84,4% de l'échantillon 99,7% de l'extrait organique

Résine 1886

1	Echantillon	98,4 mg	
2	Extrait organique	95 mg	96,5% de l'échantillon
3	Fraction F1	8,2 mg	8,3% de l'échantillon 8,6% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	63,5 mg	64,5% de l'échantillon 66,8% de l'extrait organique
	Cétones	0,3 mg	
	Alcools	3,6 mg	
	Acides	3,1 mg	
5	Fraction F3	18 mg	18,3% de l'échantillon 19% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	89,7 mg	91,2% de l'échantillon 94,4% de l'extrait organique

Résine 1894

1	Echantillon	96,8 mg	
2	Extrait organique	91,8 mg	94,8% de l'échantillon
3	Fraction F1	11 mg	11,4% de l'échantillon 12% de l'extrait organique
	Saturés	1,7 mg	
	Aromatiques	1,3 mg	
4	Fraction F2	55,8 mg	57,6% de l'échantillon 60,8% de l'extrait organique
	Cétones	1,7 mg	
	Alcools	3,2 mg	
	Acides	3,8 mg	
5	Fraction F3	23,9 mg	24,7% de l'échantillon 26% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	90,7 mg	93,7% de l'échantillon 98,8% de l'extrait organique

Résine 2039

1	Echantillon	100,6 mg	
2	Extrait organique	96,2 mg	95,6% de l'échantillon
3	Fraction F1	11,7 mg	11,6% de l'échantillon 12,2% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	48,2 mg	47,9% de l'échantillon 50,1% de l'extrait organique
	Cétones	1,2 mg	
	Alcools	2,1 mg	
	Acides	4,1 mg	
5	Fraction F3	33 mg	32,8% de l'échantillon 34,3% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	92,9 mg	92,3% de l'échantillon 96,6% de l'extrait organique

Résine 1873

1	Echantillon	60,2 mg	
2	Extrait organique	49,3 mg	82% de l'échantillon
3	Fraction F1	2,1 mg	3% de l'échantillon 4% de l'extrait organique
	Saturés	1,1 mg	
	Aromatiques	0,3 mg	
4	Fraction F2	22,7 mg	38% de l'échantillon 46% de l'extrait organique
	Cétones	1,1 mg	
	Alcools	2 mg	
	Acides	3,5 mg	
5	Fraction F3	16,5 mg	27% de l'échantillon 33% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	41,3 mg	68% de l'échantillon 83% de l'extrait organique

Résine 1874

1	Echantillon	84,2 mg	
2	Extrait organique	84,2 mg	100% de l'échantillon
3	Fraction F1	2,6 mg	3,1% de l'échantillon 3,1% de l'extrait organique
	Saturés	< 1 mg	
	Aromatiques	1 mg	
4	Fraction F2	44,3 mg	52,6% de l'échantillon 52,6% de l'extrait organique
	Cétones	1,8 mg	
	Alcools	2,1 mg	
	Acides	4,7 mg	
5	Fraction F3	26 mg	30,9% de l'échantillon 30,9% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	72,9 mg	86,6% de l'échantillon 86,6% de l'extrait organique

Résine 2307

1	Echantillon	89,9 mg	
2	Extrait organique	88,2 mg	98,1% de l'échantillon
3	Fraction F1	1,7 mg	1,9% de l'échantillon 1,9% de l'extrait organique
	Saturés	< 1 mg	
	Aromatiques	< 1 mg	
4	Fraction F2	37,9 mg	42,2% de l'échantillon 43% de l'extrait organique
	Cétones	< 1 mg	
	Alcools	1,2 mg	
	Acides	5,2 mg	
5	Fraction F3	48,5 mg	54% de l'échantillon 55% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	88,1 mg	98% de l'échantillon 99,9% de l'extrait organique

Résine 2308

1	Echantillon	89,6 mg	
2	Extrait organique	89,1 mg	99,4% de l'échantillon
3	Fraction F1	2,2 mg	2,4% de l'échantillon 2,4% de l'extrait organique
	Saturés	< 1 mg	
	Aromatiques	< 1 mg	
4	Fraction F2	42,1 mg	47% de l'échantillon 47,2% de l'extrait organique
	Cétones	< 1 mg	
	Alcools	1,2 mg	
	Acides	4,6 mg	
5	Fraction F3	42,6 mg	47,5% de l'échantillon 47,8% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	86,9 mg	97% de l'échantillon 97,5% de l'extrait organique

Résine 2036 C

1	Echantillon	88,8 mg	
2	Extrait organique	86 mg	96,8% de l'échantillon
3	Fraction F1	5 mg	5,6% de l'échantillon 5,8% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	58,1 mg	65,4% de l'échantillon 67,6% de l'extrait organique
	Cétones	1,2 mg	
	Alcools	9,1 mg	
	Acides	5,2 mg	
5	Fraction F3	15,8 mg	17,8% de l'échantillon 18,4% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	78,9 mg	88,8% de l'échantillon 91,7% de l'extrait organique

Résine 2036 S

1	Echantillon	73,6 mg	
2	Extrait organique	70,7 mg	96,1% de l'échantillon
3	Fraction F1	3,5 mg	4,7% de l'échantillon 5% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	42,6 mg	57,9% de l'échantillon 60,2% de l'extrait organique
	Cétones	1 mg	
	Alcools	3,1 mg	
	Acides	9,3 mg	
5	Fraction F3	13,9 mg	18,9% de l'échantillon 19,7% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	60 mg	81,5% de l'échantillon 84,9% de l'extrait organique

Résine 2037

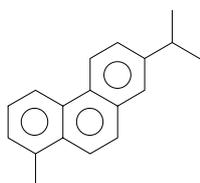
1	Echantillon	94,1 mg	
2	Extrait organique	62,8 mg	66,7% de l'échantillon
3	Fraction F1	3,5 mg	3,7% de l'échantillon 5,6% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	26 mg	27,6% de l'échantillon 41,4% de l'extrait organique
	Cétones	1,7 mg	
	Alcools	2,5 mg	
	Acides	3,2 mg	
5	Fraction F3	16,4 mg	17,4% de l'échantillon 26,1% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	45,9 mg	48,8% de l'échantillon 73,1% de l'extrait organique

Résine 2038

1	Echantillon	102,9 mg	
2	Extrait organique	74 mg	71,9% de l'échantillon
3	Fraction F1	6,5 mg	6,3% de l'échantillon 8,8% de l'extrait organique
	Saturés	/	
	Aromatiques	/	
4	Fraction F2	29 mg	28,2% de l'échantillon 39,2% de l'extrait organique
	Cétones	1,7 mg	
	Alcools	1,5 mg	
	Acides	3,1 mg	
5	Fraction F3	16,2 mg	15,7% de l'échantillon 21,9% de l'extrait organique
6	Total récupéré F1+F2+F3	51,7 mg	50,2% de l'échantillon 69,9% de l'extrait organique

Annexe 2 : Structures diterpéniques

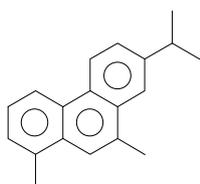
D1



rétène

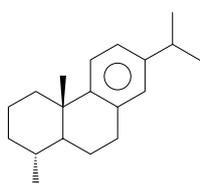
1-méthyl-7-isopropylphénanthrène

D2



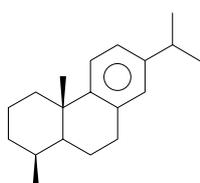
9-méthylrétène

D3



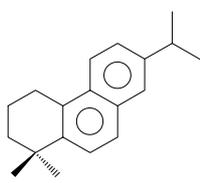
18-norabiéta-8,11,13-triène

D4



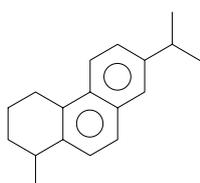
19-norabiéta-8,11,13-triène

D5



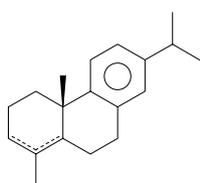
simonellite

D6



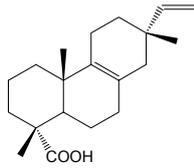
1,2,3,4-tétrahydorrétène

D7

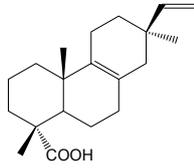


19-norabiéta-3/4,8,11,13-tétraène

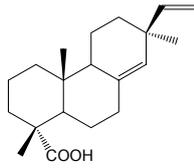
D8



D9

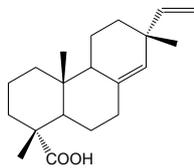


D10



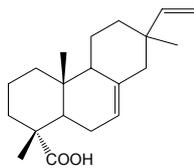
acide pimarique

D11



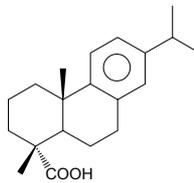
acide sandaracopimarique

D12



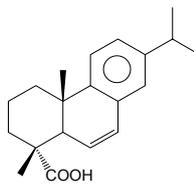
acide isopimarique

D13



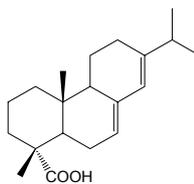
acide déhydroabiétique
acide abiéta-8,11,13-trièn-18-oïque
déhydroabiétate
DHA

D14



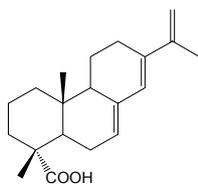
acide déhydrodéhydroabiétique

D15



acide abiétique

D16



acide abiétatriénique

Annexe 4 : Structures des produits pyrolytiques

A1



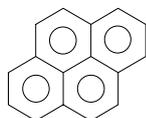
anthracène
paranaphtalène
p-anthracène

A2



fluoranthrène

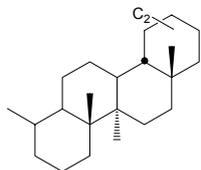
A3



pyrène

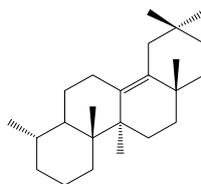
Annexe 3 : Structures des triterpènes

T1



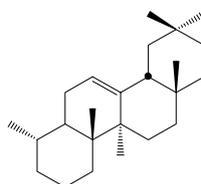
des-A-oléanane/des-A-ursane

T2



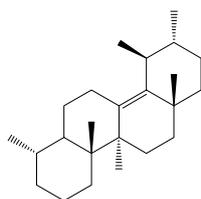
des-A-oléan-13(18)-ène

T3



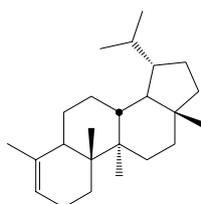
des-A-oléan-12-ène

T4



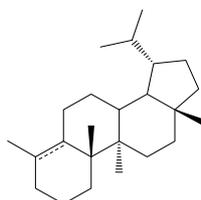
des-A-urs-13(18)-ène

T5



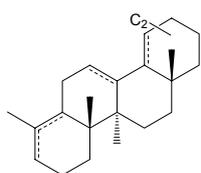
des-A-lup-5(10)-ène

T6



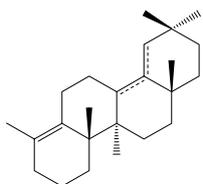
des-A-lup-9-ène

T7



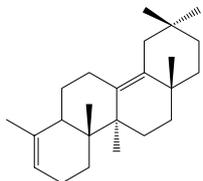
des-A-oléan/ursan-monoène

T8



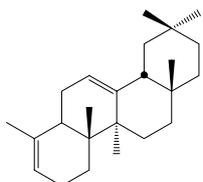
des-A-oléana-9,13(18)/18-diène

T9



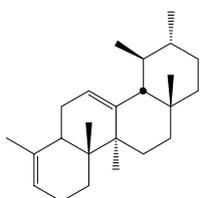
des-A-oléana-5(10),13(18)-diène

T10



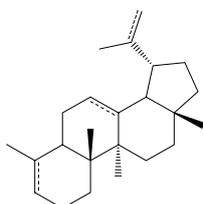
des-A-oléana-5(10),12-diène

T11



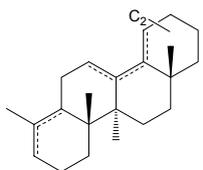
des-A-ursa-5(10),12-diène

T12



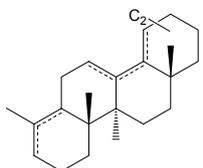
des-A-lupa-diène

T13



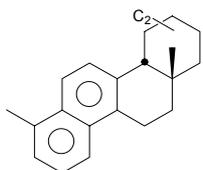
des-A-oléana/ursa-diène

T14

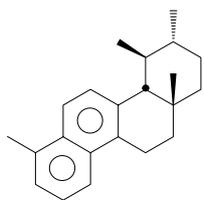


des-A-oléana/ursa-triène

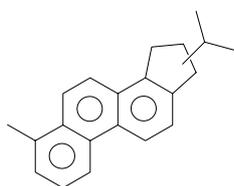
T15



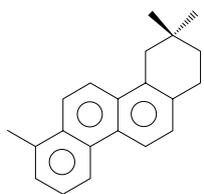
T16



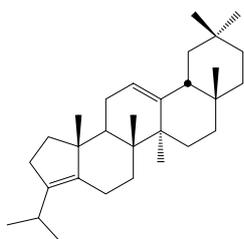
T17



T18

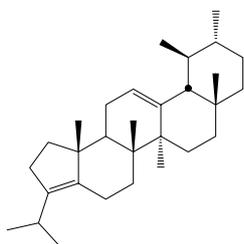


T19



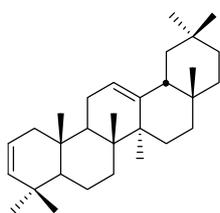
A-neo-oléana-3(5),12-diène

T20



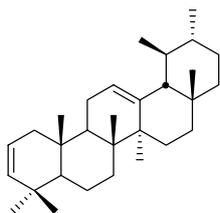
A-neo-ursa-3(5),12-diène

T21



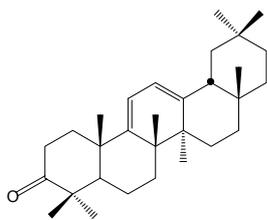
oléana-2,12-diène

T22



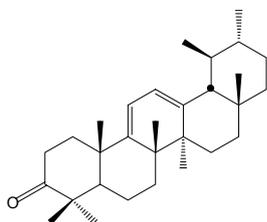
ursa-2,12-diène

T23



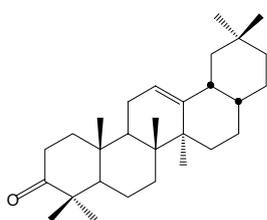
oléana-9(11),12-diène-3-one

T24



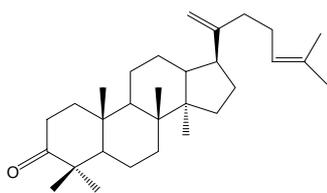
ursa-9(11),12-diène-3-one

T25



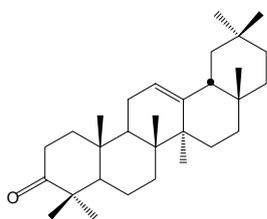
28-nor-β-amyrén-3-one
28-nor-β-amyrénone
28-nor-β-amyrone
3-oxo-28-nor-oléan-12-ène

T26



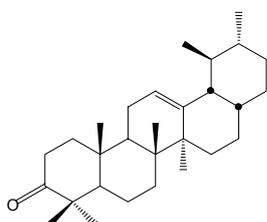
dammaradiène-3-one
3-oxo-dammara-20(21),24-diène
dammadiénone

T27



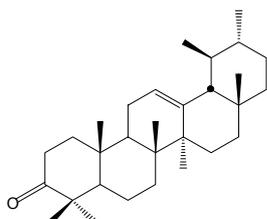
β-amyrén-3-one
β-amyrone
3-oxo-oléan-12-ène

T28



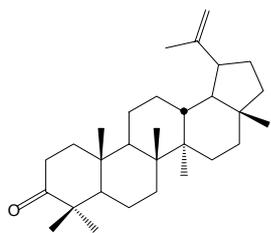
28-nor-α-amyrén-3-one
28-nor-α-amyrénone
28-nor-α-amyrone
3-oxo-28-nor-urs-12-ène

T29



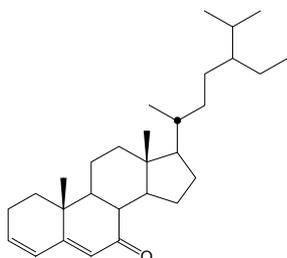
α-amyrén-3-one
α-amyrone
3-oxo-urs-12-ène
urs-12-èn-3-one

T30



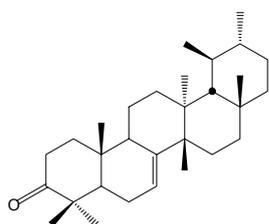
lup-20(29)-èn-3-one
lup-20(30)-èn-3-one

T31



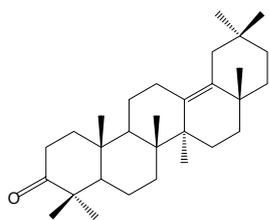
stigmastadiènone
3,5-stigmastadièn-7-one
 β -saccharostérone
trémulone

T32



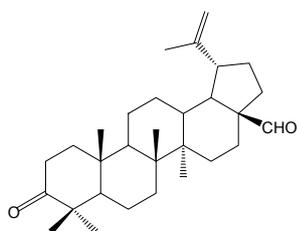
C-friedours-7-èn-3-one
 α -bauer-7-èn-3-one

T33



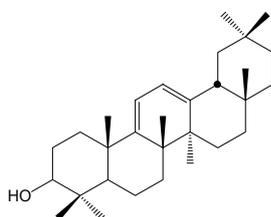
oléan-13(18)-èn-3-one

T34



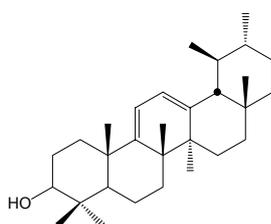
bétulonal

T35



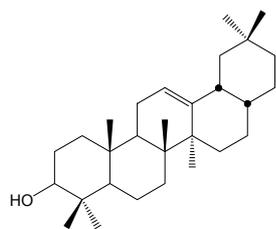
oléana-9(11),12-dièn-3-ol

T36



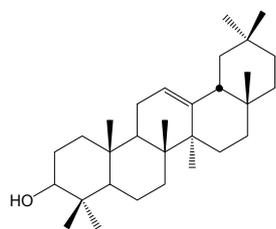
ursa-9(11),12-dièn-3-ol

T37



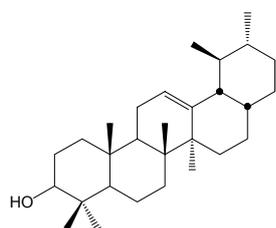
28-nor- β -amyrine

T38



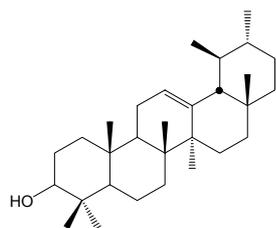
β -amyrine
oléan-12-èn-3 β -ol

T39



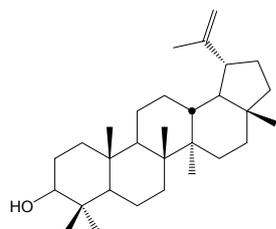
28-nor- α -amyrine

T40



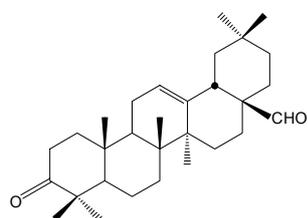
α -amyrine
 α -amyrényl
3 β -urs-12-èn-3-ol
urs-12-èn-3 β -ol

T41



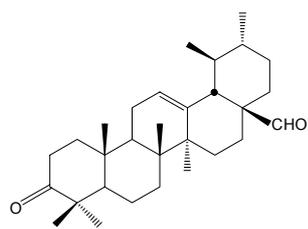
lupéol
lup-20(29)-èn-3 β -ol
lupényl
lupéyl

T42



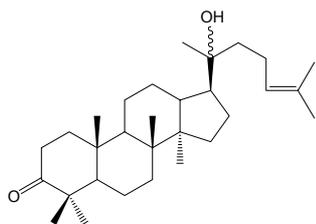
aldéhyde oléanonique
3-oxo-oléan-12-èn-28-al

T43



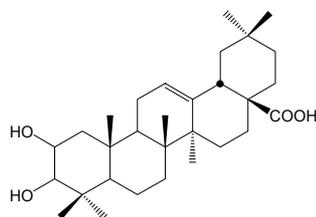
aldéhyde ursonique
aldéhyde ursanique
3-oxo-urs-12-èn-28-al

T44



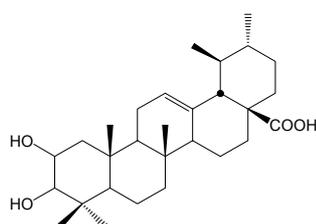
hydroxydammarénone
20-hydroxy-24-dammarén-3-one
3-oxo-20-hydroxy-dammar-24-ène
diptérocarpol
20 β -hydroxy-3-oxo-dammar-23-ène

T45



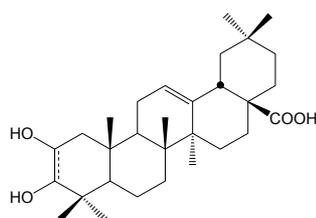
acide 2,3-dihydroxyoléan-12-èn-28-oïque
acide 2-hydroxyoléanolique
acide maslanique

T46



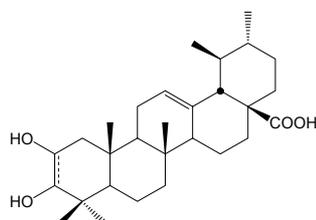
acide 2,3-dihydroxyurs-12-èn-28-oïque
acide 2-hydroxyursolique

T47



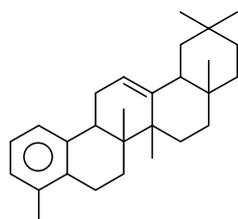
acide 2,3-dihydroxyoléana-*n*,12-dièn-28-oïque

T48



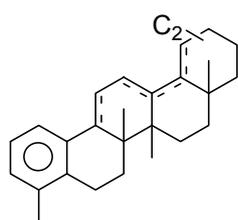
acide 2,3-dihydroxyursa-*n*,12-dièn-28-oïque

T49



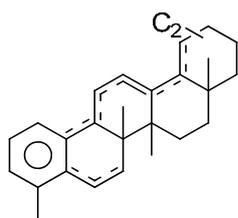
24,25-disnoroléana-1,3,5(10),12-tétraène

T50



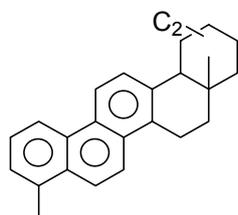
24,25-disnor-oléana/ursa-1,3,5(10),*x*-tétraène

T51



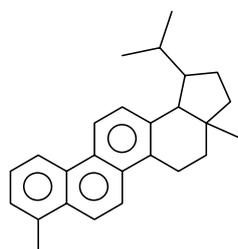
24,25-disnor-oléana/ursa-1,3,5(10),x,y-pentaène

T52



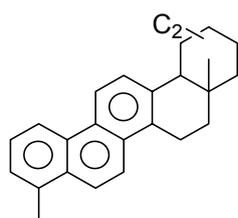
tétranor-oléana/ursa-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène

T53



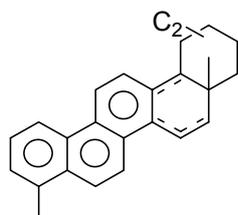
tétranor-lupa-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène

T54



tétranor-oléana/ursa-1,3,5(10),6,8,11,13-heptaène

T55



Caractérisation moléculaire de résines végétales archéologiques et actuelles : étude de résines de Dipterocarpaceae

Ces travaux concernent la caractérisation moléculaire de quatre séries d'échantillons organiques archéologiques supposés contenir de la résine de Dipterocarpaceae (dammar). Ces échantillons proviennent du site terrestre de Khao Sam Kaeo en Thaïlande (4^{ème}-2^{ème} siècles av. J.-C.), des épaves de Belitung (9^{ème} siècle apr. J.-C.) en Indonésie, de Malacca (16^{ème} siècle apr. J.-C.) en Malaisie et du Brunei (15^{ème}-16^{ème} siècles apr. J.-C.). Cette étude structurale, menée au moyen de techniques chromatographiques et de spectrométrie de masse, a été complétée par l'analyse de dammars fraîches de genres et d'espèces différents en provenance du Vietnam.

L'étude moléculaire de ces échantillons, en particulier de leur composition triterpénique, nous a permis d'y établir la présence de dammar seule ou en mélange avec d'autres substances organiques (bitume, poix) et d'en déterminer la taxonomie. Des corrélations entre divers échantillons nous ont également permis d'établir de nouveaux paramètres d'identification de ces résines, utilisables même dans le cas d'échantillons altérés ou en mélange.

Nous avons par ailleurs pu déterminer, notamment grâce à des expériences de simulation au laboratoire, certains des processus d'altération d'origine naturelle (oxydation, biodégradation) ou anthropique auxquels ont été soumis les échantillons archéologiques analysés.

Mots-clés : résine végétale, dammar, Dipterocarpaceae, marqueurs moléculaires, triterpènes, CG-SM, biodégradation, autooxydation.

Molecular characterization of archaeological and fresh plant resins : analysis of Dipterocarpaceae resins

In the present study, the molecular composition of four series of archaeological organic samples presumed to contain Dipterocarpaceae resin (dammar) were investigated by chromatographic and mass spectrometric techniques. Samples have been collected during terrestrial excavations at Khao Sam Kaeo (Thailand, 4th-2nd centuries BC) or were collected within or close to the Belitung wreck (Indonesia, 9th century AD) and the Malacca wreck (Malaysia, 16th century AD) or in the cargo of the Brunei wreck (15th-16th centuries AD). This structural study was completed by the analysis of fresh dammar resins from different genus and species, originating from Vietnam.

The molecular study of these samples, in particular of their triterpenic composition, allowed us to establish the presence of pure dammar or of dammar in association with other organic substances (bitumen, pitch) and to determine their taxonomy. Correlations between samples enabled also the establishment of new identification parameters allowing to identify dammar even in very altered samples or in mixtures.

Some of the natural (oxidation, biodegradation) and anthropogenic alteration processes undergone by the archaeological samples analysed here were elucidated and further corroborated by laboratory experiments of simulation.

Keywords: plant resin, dammar, Dipterocarpaceae, biomarkers, triterpenes, GC-MS, biodegradation, autoxidation.