# THESE

Présentée pour obtenir le grade de

### DOCTEUR

## **DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG**

par

**CLAIRE BASTIEN** 

# ETUDE CHIMIQUE DES SUBSTANCES CONTENUES DANS UNE COLLECTION EXCEPTIONNELLE DE POTERIES PROVENANT DE DEIR-EL-MEDINEH (EGYPTE) : UNE POPULATION ET SES PRODUITS

soutenue publiquement le 22 novembre 2011 devant la commission d'examen composée de :

Armelle CHARRIE

Jean-Louis SEBEDIO

Catherine VIEILLESCAZES

Laurence SABATIER

Geneviève PIERRAT-BONNEFOIS

Jacques CONNAN

Directeur de thèse Rapporteur Externe Rapporteur Externe Examinateur Examinateur Examinateur Ces travaux ont été réalisés au sein du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire, dirigé par Monsieur Pierre Adam, Directeur de recherche du CNRS. Je tiens à le remercier pour m'avoir accueillie dans son laboratoire. Ma reconnaissance s'adresse également à Madame Armelle Charrié pour avoir dirigé ces travaux.

Je tiens à remercier Mesdames Armelle Charrié, Catherine Vieillescazes, Laurence Sabatier, Geneviève Pierrat-Bonnefois, Messieurs Jean-Louis Sébédio et Jacques Connan, de me faire l'honneur de juger ce travail.

Je tiens aussi à remercier l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) pour avoir financé ces travaux à travers le programme « Archéomolécule ».

Je souhaite par ailleurs remercier le Musée du Louvre, et tout particulièrement Madame Geneviève Pierrat-Bonnefois, conservateur en chef au Département des Antiquités Egyptiennes, qui nous a permis de prélever les précieux échantillons archéologiques analysés lors de cette étude, ainsi que pour les nombreux documents et informations relatifs à l'Egypte ancienne. Je tiens aussi à remercier la société Robertet pour avoir mis à notre disposition des échantillons d'absolues issus de l'enfleurage. Je souhaite également remercier Patrick Wehrung et Claude Le Milbeau pour la réalisation des nombreuses analyses en LC-MS et GC-C-IRMS.

Je remercie Madame Armelle Charrié pour sa confiance et son encadrement durant ces trois années de thèse, me permettant ainsi d'acquérir la formation de chercheur.

Ma reconnaissance s'adresse également à Monsieur Jacques Connan pour avoir suivi mon travail ainsi que pour ses encouragements et le temps qu'il m'a accordé.

Mes remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire de Biogéochimie Moléculaire pour leur accueil chaleureux, leur bonne humeur, leurs encouragements et leur aide durant ces trois années : Pierre Adam, Philippe Schaeffer, Jean-Michel Trendel, et tout particulièrement Gaby Schmitt et Estelle Motsch pour leur amitié.

Mes remerciements vont aussi à tous les thésards, post-doctorants et stagiaires rencontrés au cours de ces trois années : Pauline Burger pour son aide durant la rédaction, Mohammed Kajjout pour ses nombreux conseils de post-doctorant, Raoul Osowiecki et Céline Munsch pour la bonne humeur du bureau, ainsi que Gilles Schnell, Céline Liaud et Lucile Bailly.

Pour finir, je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à ma famille et tout particulièrement à mes parents et à mes grands-parents à qui je dédie cette thèse, pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études.

## **TABLE DES MATIERES**

LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES TABLEAUX	17
ABREVIATIONS	19
Introduction Générale	21
CHAPITRE 1 : Les lipides : diversité, structure, biosynthèse et voies de dégradation	27
I) Les huiles et les graisses : définition et dégradation	30
I.1) Définition, structure, composition & biosynthèse	31
I.1.1) Les triglycérides	31
I.1.2) Les acides gras	31
I.1.3) Les stérols	35
I.2) Les voies de dégradation en contexte archéologique	36
I.2.1) Dégradation des triglycérides	37
I.2.1.i) Hydrolyse	37
I.2.1.ii) Formation des lactones	38
I.2.1.iii) Dégradation thermique	39
I.2.2) Dégradation des acides gras	42
I.2.2.i) Autoxydation des acides gras insaturés	42
I.2.2.ii) Formation des hydroxy- et dihydroxyacides	45
I.2.2.iii) Dégradation microbienne et formation d'adipocères	47
Figure 1.21 : Mécanisme de formation des acides gras présents dans les adipocères	49
I.2.2.iv) La β-oxydation	49
I.2.3) Dégradation des stérols	51
I.2.3.i) Dégradation par autoxydation	51
I.2.3.ii) Dégradation par activité microbienne	53
I.3) Les paramètres qui permettent de faire la distinction entre une graisse et une huile	53
I.3.1) Les huiles et les graisses fraîches	53
I.3.2) Les huiles et les graisses dégradées, retrouvées en contexte archéologique	54
II) Les cires : définition, biosynthèse et dégradation	56
II.1) Définition, fonction et biosynthèse	56
II.1.1) Définition générale	56

	II.1.2	) Les cires végétales : cires épicuticulaires	57
	II.1.3	) Les cires animales & la cire d'abeille	60
	II.2) [	Dégradation des cires, en contexte archéologique	62
	II.2.1	) Dégradations dues au vieillissement naturel et à l'environnement	62
	11.2.2	) Dégradation thermique par un chauffage exercé par l'homme	62
CHA	PITRE 2 : I	Une nécropole particulière de Deir el-Médineh et sa collection exceptionnelle de	
poteries	: descript	tion et résultats	65
1)	Une né	écropole particulière et le village de Deir el-Médineh (Pierrat-Bonnefois, 2002)	67
	l.1) L	Localisation et description du village et de la nécropole de Deir el-Médineh	67
	1.2) [	Description et particularités de la nécropole de l'Est	68
	1.3) (	Cimetière Est du village ou Cimetière à l'Est de Deir el-Médineh ?	70
H)	) La c	collection exceptionnelle de poteries : caractéristiques et études préexistantes	71
	II.1) [	Description des poteries pleines et typologie d'après Bernard Bruyère	71
	II.2) <i>A</i>	Analyses préexistantes	73
	II.3) S	Stockage, échantillonnage et organisation des résultats	75
	II.3.1	) Conditions de stockage, échantillonnage et observations des échantillons	75
	11.3.2	<ul> <li>Classification des échantillons et organisation des résultats</li> </ul>	75
III	l) Cara	actérisation des échantillons a base de corps gras : les huiles végétales et les graisses	
anima	les		78
	III.1) L	Les corps gras archéologiques identifiés par GC-MS et décrits dans la littérature	80
	.1.1	1) Introduction	80
	III.1.2	<ol> <li>Triglycérides et produits d'hydrolyse : diglycérides, monoglycérides et acides gras</li> </ol>	s82
	III.1.3	3) Biomarqueurs des huiles végétales : diacides, hydroxyacides et dihydroxyacides	84
	111.1.4	4) Les stérols	85
	III.2) I	Identification des échantillons contenant une huile végétale	86
	III.2.1	1) Description des échantillons archéologiques	86
	111.2.2	2) Les biomarqueurs moléculaires	88
	III.2.3	3) Conclusion	101
	III.3) I	Identification des échantillons contenant une graisse animale ou un mélange	102
	III.3.1	1) Description des échantillons archéologiques	102
	III.3.2	2) Identification des différents biomarqueurs	104
	111.	.3.2.i) Diacides et dihydroxyacides	104
	111.	.3.2.ii) Triglycérides et introduction directe	105
	111.	.3.2.iii) TAG, DAG, MAG et FA	107
	III.3.3	3) Discussion & conclusion	114
	III.4) <i>A</i>	Analyses d'huiles fraîches de référence et simulations de dégradation	114
	111.4.1	1) Analyses d'huiles fraîches de référence	114

<ul> <li>III.4.1.ii) Les <i>n</i>-alcanes</li> <li>III.4.1.iii) Les stérols</li> <li>III.4.2) Simulation de dégradation</li> <li>III.4.3) Discussion et conclusion</li> <li>IV) Identification d'autres substances présentes dans les échantillons à base lipidique</li> <li>IV.1) Les cires</li> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li> <li>IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence</li> <li>IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-</li> <li>Médineh</li></ul>	119 122 122 124 125 125 125 127 130 147
<ul> <li>III.4.1.iii) Les stérols</li> <li>III.4.2) Simulation de dégradation</li> <li>III.4.3) Discussion et conclusion</li> <li>IV) Identification d'autres substances présentes dans les échantillons à base lipidique</li> <li>IV.1) Les cires</li> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li> <li>IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence</li> <li>IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-</li> <li>Médineh</li> <li>IV.2) Absence des résines</li> <li>IV.2.1) Résines diterpéniques</li> <li>IV.2.2) Résines triterpéniques</li> <li>IV.2.3) Résines aromatiques/balcamiques de type Storay et Benjoin</li> </ul>	122 122 124 125 125 125 127 127 130 147
<ul> <li>III.4.2) Simulation de dégradation</li> <li>III.4.3) Discussion et conclusion</li> <li>IV) Identification d'autres substances présentes dans les échantillons à base lipidique</li> <li>IV.1) Les cires</li> <li>IV.1) Les cires en contexte archéologique</li> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li> <li>IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence</li> <li>IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-</li> <li>Médineh</li> <li>IV.2) Absence des résines</li> <li>IV.2.1) Résines diterpéniques</li> <li>IV.2.2) Résines triterpéniques</li> <li>IV.2.3) Bésines aromatiques /balcamigues de type Storay et Benjoin</li> </ul>	122 124 125 125 125 127 130 130
<ul> <li>III.4.3) Discussion et conclusion</li> <li>IV) Identification d'autres substances présentes dans les échantillons à base lipidique</li> <li>IV.1) Les cires</li> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li> <li>IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence</li> <li>IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-</li> <li>Médineh</li></ul>	124 125 125 125 127 127 130 147
<ul> <li>IV) Identification d'autres substances présentes dans les échantillons à base lipidique</li></ul>	125 125 125 127 127 130 147
<ul> <li>IV.1) Les cires</li> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li></ul>	125 125 127 130 147
<ul> <li>IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique</li></ul>	125 127 130 147 147
<ul> <li>IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence</li></ul>	127 130 .147 147
<ul> <li>IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-</li> <li>Médineh</li> <li>IV.2) Absence des résines</li> <li>IV.2.1) Résines diterpéniques</li> <li>IV.2.2) Résines triterpéniques</li> <li>IV.2.3) Résines aromatiques /balsamiques de type Storay et Benjoin</li> </ul>	130 147 147
Médineh IV.2) Absence des résines IV.2.1) Résines diterpéniques IV.2.2) Résines triterpéniques IV.2.3) Résines aromatiques /balsamiques de type Storay et Benjoin	130 147 147
<ul> <li>IV.2) Absence des résines</li> <li>IV.2.1) Résines diterpéniques</li> <li>IV.2.2) Résines triterpéniques</li> <li>IV.2.3) Résines aromatiques /balsamiques de type Storay et Benjoin</li> </ul>	147 147
<ul> <li>IV.2.1) Résines diterpéniques</li> <li>IV.2.2) Résines triterpéniques /balsamigues de type Storay et Benjoin</li> </ul>	147
IV.2.2) Résines triterpéniques /balsamiques de type Storay et Benjoin	
IV 2 3) Résines aromatiques /halsamiques de type Storay et Benjoin	
17.2.57 Resines aromatiques, basamques de type Storax et Denjoin	150
IV.3) Onguents archéologiques	.151
IV.3.1) Description des onguents	.151
IV.3.2) Charge minérale et température de fusion des échantillons archéologiques de Deir e	-
Médineh	154
IV.3.3) Analyses de deux onguents archéologiques utilisés comme référence	155
IV.3.3.i) Descriptions des échantillons	155
IV.3.3.ii) Caractérisation moléculaire de l'onguent 1938 & comparaison avec les	
échantillons archéologiques de Deir el-Médineh	157
IV.3.3.iii) Caractérisation moléculaire de l'onguent 1940 & comparaison avec les	
échantillons archéologiques de Deir el-Médineh	162
IV.4) Analyse de l'absolue de jasmin	164
IV.4.1) La technique de l'enfleurage	164
IV.4.2) Caractérisation moléculaire de l'absolue de jasmin	166
IV.5) Conclusion	.168
V) Caractérisation des échantillons particuliers, à base de sucres, par GC-MS	169
V.1) La chimie des sucres	.170
V 1 1) Généralités sur les sucres	170
V.I.I) Generalites suries succes	172
V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides	
V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides V.1.2.i) La cellulose	.173
<ul> <li>V.1.1) Generalites sur les succes</li> <li>V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides</li> <li>V.1.2.i) La cellulose</li> <li>V.1.2.ii) L'amidon</li> </ul>	
<ul> <li>V.1.1) Generances sur les sucres</li> <li>V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides</li> <li>V.1.2.i) La cellulose</li> <li>V.1.2.ii) L'amidon</li> <li>V.1.3) Difficultés d'analyse des sucres</li> </ul>	173 173 173 174
<ul> <li>V.1.1) Generalites sur les sucres</li> <li>V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides</li> <li>V.1.2.i) La cellulose</li> <li>V.1.2.ii) L'amidon</li> <li>V.1.3) Difficultés d'analyse des sucres</li> <li>V.2) Le miel</li> </ul>	173 173 173 174 175

V.2.2) Caractérisation moléculaire de l'échantillon archéologique E16459	176						
V.3) Les moûts & filtrats de boisson : E14593 et E16489	179						
V.3.1) Description des boissons archéologiques							
V.3.2) Typologies, aspects, et stratégie expérimentale	181						
V.3.3) Caractérisation moléculaire de l'échantillon E14593	182						
V.3.4) Caractérisation moléculaire de l'échantillon E16489	184						
V.4) Analyses des sucres présents dans des fruits et des jus de fruits de références	190						
V.5) Conclusion	193						
CHAPITRE 3 : Analyse des lipides par LC-MS et GC-C-IRMS							
I) La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse, appliquée à l'é	tude						
des triglycérides : La LC-MS							
I.1) Principe et intérêts de la LC-MS							
I.1.1) Introduction							
I.1.2) Principe de la LC-APCI-MS, appliquée à l'analyse des TAG	198						
I.1.3) Fragmentation et quantification des triglycérides	199						
I.2) Principaux résultats obtenus lors de l'analyse de triglycérides provenant de référenc	es						
modernes et de résidus archéologiques	203						
I.2.1) Cas des graisses animales, des produits laitiers et des huiles végétales modernes	203						
I.2.1.i) Les huiles végétales modernes décrites dans la littérature	203						
I.2.1.ii) Les huiles végétales modernes analysées au laboratoire	206						
I.2.1.iii) Les graisses animales modernes décrites dans la littérature	208						
I.2.1.iv) Les produits laitiers modernes décrits dans la littérature	211						
I.2.2) Résultats obtenus à partir d'échantillons archéologiques et décrits dans la littéra	ture212						
I.2.2.i) Identification d'huile végétale	212						
I.2.2.ii) Identification de graisse animale	213						
I.2.2.iii) Conclusion	216						
I.3) Analyse des triglycérides des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh	216						
I.3.1) Instrumentation & Quantification	216						
I.3.2) Principaux résultats et discussion	217						
I.3.2.i) Profils de distribution des TAG	217						
I.3.2.ii) Quantification des TAG	219						
I.3.3) Conclusion	221						
II) La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec mesur	re du						
rapport isotopique <sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C : La GC-C-IRMS	222						
II.1) Introduction	222						
II.2) Principe de la GC-C-IRMS	223						
II.2.1) Instrumentation	223						

11.2.2)	La mesure isotopique du rapport <sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C	225
II.2.3)	Préparation des échantillons et dérivation	225
II.2.4)	Corrections après dérivation au BF <sub>3</sub> /MeOH	226
II.3) Pa	aramètres influant sur les valeurs isotopiques du carbone des molécules naturelles	227
II.3.1)	Chez les autotrophes : la photosynthèse	228
II.3.2)	Fractionnement isotopique durant les voies de biosynthèse	233
II.3.3)	Chez les hétérotrophes : importance de l'alimentation	234
II.4) Re	ésultats isotopiques pour les échantillons de Deir el-Médineh	235
II.4.1)	Analyses sur les fractions F3 globales & les échantillons bruts	235
11.4.2)	Les <i>n</i> -alcanes	237
II.4.3)	Les acides gras	239
11.4	3.i) Les différents modèles décrits dans la littérature	239
11.4	3.ii) Comparaison avec les résultats obtenus pour les échantillons de Deir el-Médinel	n.244
11.4	3.iii) Conclusion	247
11.4.4)	Les diacides	248
II.4.5)	Les lactones	251
II.4.6)	Conclusion	252
		252
	iscussion autour de la fonctionnalite des poteries	253
	a familie à base lipidique	257
1.1) IU	Cas des poterios contenant uno builo végétale	257
1.1.1)	Cas des échantillens plus complexes provenant de pots	257
1.1.2)	Casclusion	200
1.1.3)	conclusion	202
1.2) LO	Les cosmétiques et les parfums	204
1.2.1)	Techniques de préparation	266
1.2.2)	Les cônes d'onguents (Chernion, 1994)	267
3)  e	s remèdes et les onguents médicaux	269
1.3.1)	Les connaissances médicales	
1.3.2)	Ouelques exemples de recettes	270
1.3.3)	Cas particulier de l'opium	271
I.4) Co	onclusion	273
, Cas c	les poteries avec une typologie et un contenu particuliers	274
, II.1) Id	entification des substances naturelles présentes dans les échantillons à base de sucres	274
.1.1)	Cas de l'échantillon E16459	274
, II.1.2)	Cas de l'échantillon E14593	274
ll.1.3)	Cas de l'échantillon E16489	275

11.2)	Le miel dans l'Egypte ancienne	275
II.3)	Les boissons dans l'Egypte ancienne	276
11.3	3.1) La bière (Lucas and Harris, 1962a)	276
11.3	B.2) Le vin et les autres boissons fermentées à base de fruits (Lucas and Harris, 19	962a)277
11.4)	Conclusion	279
Conclusion	Générale et Perspectives	281
Partie Expé	rimentale	287
I) Obs	ervation des échantillons	289
II) A	nalyses géochimiques	289
II.1)	Précautions particulières	289
II.2)	Solubilisation des échantillons et préparation des extraits organiques	289
II.3)	Fractionnement des échantillons et des extraits organiques	290
III) T	echniques chromatographiques	291
III.1)	Chromatographie sur couche mince (CCM)	291
III.2)	Chromatographie en phase gazeuse (GC-FID)	292
III.3)	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	293
111.	3.1) GC-MS équipé d'un analyseur triple quadripole	293
111.	3.2) GC-MS équipé d'un analyseur temps de vol (TOF)	294
III.4)	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)	295
III.5)	Analyses isotopiques	295
111.	5.1) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse av	ec mesure
du rap	port isotopique (GC-C-IRMS)	295
111.	5.2) Mesures isotopiques sur les fractions F3	296
III.6)	Spectrométrie par fluorescence X	297
III.7)	Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	297
IV) D	Dérivations	298
IV.1)	Acétylation	299
IV.2)	Méthylation	
IV.	2.1) Avec le diazométhane	
IV.	2.2) Avec le BF3/MeOH	
IV.3)	Triméthylsilylation	
V) N	Néthanolyse acide	
VI) D	Dégradation avec l'hydrure de lithium aluminium (LiAlH $_4$ ou LAH)	301
VII) D	Détection de l'amidon avec la solution de LUGOL	302
VIII) E	xpériences de simulations	
VIII.1	) Simulation d'altération photochimique	303
VI	I.1.1) Protocole	

	VIII.1.2)	Analyses	303			
V	III.2) S	imulation d'altération thermique	304			
	VIII.2.1)	Protocole	304			
	VIII.2.2)	Analyses	304			
Références Bibliographiques						
Annexe	l : Identif	ication des acides 9,10-dihydroxyoctadécanoiques	331			
Lexique			343			

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Classification des lipides (Frénot, 2002)
Figure 1.2 : Structure du glycérol et des triglycérides (R1, R2, et R3 correspondent aux chaînes alkyles des acides gras)
Figure 1.3 : Structure d'un acide gras31
Figure 1.4 : Configuration cis-trans des acides gras insaturés
Figure 1.5 : Exemple d'un acide gras insaturé : l'acide arachidonique32
Figure 1.6 : Structures moléculaires des principaux acides gras présents dans les triglycérides
Figure 1.7 : Numérotation générique des stérols35
Figure 1.8 : Structures moléculaires des trois principaux stérols : le sitostérol, le campestérol et le cholestérol.36
Figure 1.9 : Structures moléculaires d'une unité isoprène, et de l'époxysqualène (assemblage d'unités d'isoprènes)
Figure 1.10 : Structures des DAG, MAG, et FA après hydrolyse partielle ou complète des TAG
Figure 1.11 : Structures moléculaires des $\gamma$ - et $\delta$ - lactones
Figure 1.12 : Produits d'oxydation des TAG, comportant une chaîne courte et des fonctions alcool et cétone40
Figure 1.13 : Structures moléculaire des acides gras cycliques formés à partir de l'acide oléique
Figure 1.14 : Formation des cétones caractéristiques de la dégradation thermique d'acides gras41
Figure 1.15 : Mécanisme de formation d'un hydroperoxyde à partir d'un alcène cis (Smith and March, 2001)42
Figure 1.16 : Mécanisme d'oxydation radicalaire des acides gras insaturés43
Figure 1.17 : Voie de dégradation par clivage hétérolytique de l'hydroperoxyde formé à partir de l'acide oléique44
Figure 1.18 : Schéma de formation des diols vicinaux (formes thréo et erythro), à partir des alcènes cis, via l'intermédiaire d'un époxyde (Romanus <i>et al.</i> , 2008)46
Figure 1.19 : Détermination de la position de la double liaison à partir de la structure des diols vicinaux46
Figure 1.20 : Chemin de dégradation possible pour la formation des hydroxyacides (Regert et al., 1998)47
Figure 1.21 : Mécanisme de formation des acides gras présents dans les adipocères
Figure 1.22 : Mécanisme de la β-oxydation des acides gras (Lehninger, 1975) ; FAD : flavine adénosine dinucléotide, NAD : nicotinamide adénine dinucléotide
Figure 1.23 : Etapes supplémentaires pour la β-oxydation de l'acide oléique
Figure 1.24 : Principaux produits d'oxydation des $\Delta^5$ stérols (Rontani and Volkman, 2005)52
Figure 1.25 : Produits d'oxydation obtenus par autoxydation des principaux stérols52
Figure 1.26 : Transformation des stérols en stanols sous l'action de micro-organismes

Figure	1.27	: (a)	coupe	transversale	d'une	feuille	;	(b)	représentation	schématique	de	la	structure
correspondant à la cuticule de la feuille (Kolattukudy, 1969).									58				

Figure 2.1 : Localisation de Deir el-Médineh, Egypte67
Figure 2.2 : Vue générale de Deir el-Médineh en direction de l'Est (source IFAO)68
Figure 2.3 : Vases de céramique pour fards et onguents; (A) photographie des poteries de Deir el-Médineh par Geneviève Pierrat-Bonnefois; (B) Représentation de ces types de vases par Bernard Bruyère72
Figure 2.4 : Graphique représentant le pourcentage massique de la fraction des acides + F3 (par rapport à la masse de l'échantillon engagée pour le fractionnement), en fonction de la proportion massique de la fraction des triglycérides (ou des cétones)
Figure 2.5 : Photographies de poteries contenant une huile végétale, ainsi que de la substance présente dans les poteries E16432 et E16415 (© G. Pierrat-Bonnefois, Louvre)
Figure 2.6 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques contenant une huile végétale dégradée
Figure 2.7 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant les distributions de lactones dans les fractions alcools des échantillons archéologiques contenant une huile
Figure 2.8 : Photographie de la poterie E16487. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre
Figure 2.9 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des alcools acétylés de l'échantillon archéologique E1648796
Figure 2.10 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E1648797
Figure 2.11 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des acides méthylés de l'échantillon archéologique E1648797
Figure 2.12 : Photographie de la poterie E16427. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre
Figure 2.13 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des cétones de l'échantillon archéologique E16427 présentant la distribution des γ-lactones (× : contaminations)
Figure 2.14 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E1642799
Figure 2.15 : Photographie de la poterie E16443. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre
Figure 2.16 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E16443101
Figure 2.17 : Photographies des poteries contenant un corps gras dont l'origine n'a pas pu être spécifiquement déterminée. © G. Pierrat-Bonnefois, Louvre
Figure 2.18 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques bruts
Figure 2.19 : Spectre de masse obtenu en mode introduction directe (El 70 eV) sur l'échantillon archéologique brut SN1

Figure 2.20 : Fragmentation des triglycérides composés d'acides gras en C <sub>16</sub> et C <sub>18</sub> , majoritaires dans les échantillons archéologiques
Figure 2.21 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des acides "liés" (obtenus après réaction à l'hydrure de lithium sur les TAG et acétylation) et "libres" (sous forme méthylée)
Figure 2.22 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des diglycérides (forme acétylée) dans les fractions alcools des échantillons archéologiques
Figure 2.23 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions contenant les acides gras obtenus après la dégradation des TAG des différentes huiles modernes de référence
Figure 2.24 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des <i>n</i> -alcanes dans les fractions F1 des huiles modernes de référence121
Figure 2.25 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés de l'huile d'olive dégradée par chauffage et de l'huile d'olive fraîche
Figure 2.26 : Chromatogramme en phase gazeuse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence dans cette étude128
Figure 2.27 : Spectre de masse de l'ester de l'acide palmitique en C <sub>42</sub> (ou palmitate d'hexacosanoyle)129
Figure 2.28 : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh
Figure 2.29 : Spectres de masse des principaux esters lourds présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh (esters en C <sub>42</sub> , C <sub>44</sub> & C <sub>46</sub> )138
Figure 2.30 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques144
Figure 2.31 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions cétones et/ou alcools acétylés, présentant les triterpènes et les stérols présents dans les échantillons archéologiques146
Figure 2.32 : Structures des acides caractéristiques des résines diterpéniques148
Figure 2.33 : Structures des acides majoritaires caractéristiques des résines appartenant au genre Pistacia149
Figure 2.34 : Structures des triterpènes pentacycliques, utilisés comme marqueurs moléculaires des encens modernes et archéologiques
Figure 2.35 : Structures des principaux composants des résines aromatiques
Figure 2.36 : Spectres de fluorescence X des onguents 1938 et 1940157
Figure 2.37 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés (fraction F3) dans l'onguent 1938158
Figure 2.38 : Fragmentogramme de masse <i>m/z</i> 257 de la fraction contenant les hydrocarbures et les esters de l'onguent 1938
Figure 2.39 : Spectres de masse de l'acide déhydroabietique et de l'acide 7-oxo-déhydroabiétique, présents sous forme d'esters méthyliques dans les fractions des acides et des composés polyfonctionnalisés de l'onguent 1938160
Figure 2.40 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les hydrocarbures saturés et aromatiques présents dans l'onguent 1938161
Figure 2.41 : Fragmentogramme de masse <i>m</i> /z 74 montrant la distribution des <i>n</i> -acides dans l'onguent 1940 163
Figure 2.42 : Photographies d'enfleurages à froid de la rose et du jasmin165
Figure 2.43 : Techniques d'extraction des substances parfumées (Fortineau, 2004)165

Figure 2.44 : Structure des principaux composés présents dans l'absolue de jasmin	167
Figure 2.45 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les alcools, les acides et la composés polyfonctionnalisés après acétylation et méthylation, obtenue suite au fractionnement d'absolue de jasmin.	es de 168
Figure 2.46 : Formation des acétals et hémiacétals linéaires et cycliques (du glucose)	171
Figure 2.47 : Structures des formes : α- et β-glucose	171
Figure 2.48 : Structures des deux énantiomères du glycéraldéhyde.	172
Figure 2.49 : Représentations de Haworth des deux énantiomères du glucose	172
Figure 2.50 : Structure de la cellulose	173
Figure 2.51 : Structure de l'amylose, constituée de 1000 à 4000 (n) unités de glucose	174
Figure 2.52 : Photographies de la poterie portant le numéro d'inventaire E16459 © G. Pierrat-Bonnefoi Louvre.	is, 175
Figure 2.53 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 acétylées et méthylées de l'échantille archéologique et du miel de référence	on 177
Figure 2.54 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation de l'échantille archéologique et du miel de référence	on 178
Figure 2.55 : Structure des diholosides présents dans le miel (représentation de Haworth)	179
Figure 2.56 : Structures des deux biomarqueurs du vin : l'acide tartrique et l'acide syringique	180
Figure 2.57 : Poteries de typologie particulière contenant les moûts © G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.	181
Figure 2.58 : Histogrammes représentant le pourcentage d'extrait organique par rapport à l'échantillon bru (A) et les proportions massiques des différentes fractions par rapport à la masse de l'extrait organiqu (B), pour les échantillons archéologiques contenant un moût	ut ue 182
Figure 2.59 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les alcools, les acides et le composés polyfonctionnalisés dérivés de l'échantillon E14593.	es 183
Figure 2.60 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après la méthanolyse de l'échantillon brut E14593.	.184
Figure 2.61 : Chromatogramme en phase gazeuse montrant la distribution des <i>n</i> -alcanes présents dans fraction des hydrocarbures de l'échantillon archéologique E16489.	la 185
Figure 2.62 : Fragmentogrammes de masse à <i>m/z</i> 257 (A), <i>m/z</i> 285 (B) et <i>m/z</i> 313 (C), montrant les célutions d'esters dans l'échantillon E16489	o- 186
Figure 2.63 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions dérivées cétones et alcools de l'échantille archéologique E16489.	on 187
Figure 2.64 : Chromatogramme en phase gazeuse, montrant la distribution des <i>n</i> -acides présents dans fraction des acides dérivée de l'échantillon archéologique E16489	la 187
Figure 2.65 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction dérivée des alcools de l'échantille archéologique E16489.	on 188
Figure 2.66 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les composés polyfonctionnalise de l'échantillon E16489	és 189
Figure 2.67 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyses et acétylations des extrai organiques de figues, de dattes, et de jus de grenade	its 193

Figure 3.1 : Structure & fragmentation des triglycérides; <i>n</i> indique la longueur de la chaîne carbonée de la partie acyle
Figure 3.2 : Spectres de masse de quatre triglycérides obtenus en mode APCI : SOS et MyOP (Mottram and Evershed 1996) ; SSP et SPS (Mottram <i>et al.</i> , 2001)
Figure 3.3 : Chromatogrammes des triglycérides présents dans les huiles végétales modernes et décrites dans la littérature, obtenus par LC-APCI-MS
Figure 3.4 : Chromatogrammes des triglycérides présents dans les huiles végétales de référence, analysées au laboratoire par LC-APCI-MS
Figure 3.5 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de bœuf modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot <i>et al.</i> , 2004) ; (B) (Mottram <i>et al.</i> , 2001)208
Figure 3.6 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour la graisse d'agneau moderne, par LC-APCI-MS (Mottram et al. 2001)
Figure 3.7 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de porc modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot et al. 2004) ; (B) (Mottram et al. 2001)
Figure 3.8 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de poulet modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot et al. 2004) ; (B) (Mottram et al. 2001)210
Figure 3.9 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de lait par HPLC-APCI-MS, les numéros indiquent les différents TAG (Mottram and Evershed, 2001)211
Figure 3.10 : Intensités relatives (%), des triglycérides identifiés par LC-APCI-MS dans une huile d'olive de référence et deux échantillons archéologiques de Sagalassos (Kimpe <i>et al.</i> , 2001)214
Figure 3.11 : Intensités relatives (%) des triglycérides identifiés par LC-APCI-MS dans des graisses animales de référence et dans deux échantillons archéologiques (Kimpe <i>et al.</i> , 2002)215
Figure 3.12: Profils des TAG présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, obtenus par LC-APCI-MS
Figure 3.13 : Intensités relatives (%) des différents TAG identifiés par LC-APCI-MS, dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh220
Figure 3.14 : Intensités relatives (%) des TAG identifiés par LC-APCI-MS, dans des graisses animales de référence (Kimpe <i>et al.</i> , 2002)221
Figure 3.15 : Schéma de l'appareillage du spectromètre de masse avec mesure du rapport isotopique couplé à un chromatographe en phase gazeuse via une interface de combustion permettant la mesure des rapports <sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C et <sup>15</sup> N/ <sup>14</sup> N (Meier-Augenstein, 2002)
Figure 3.16 : Formule permettant de déterminer le $\delta^{13}$ C225
Figure 3.17 : Distribution des valeurs de δ <sup>13</sup> C dans la nature; la différence entre la population européenne et américaine résulte de l'utilisation massive du maïs (plante en C <sub>4</sub> ) dans l'alimentation de cette dernière (Brand, 1996)
Figure 3.18 : Structures du ribulose-1,5-bisphosphate et de l'acide phosphoglycérique intervenant lors de la photosynthèse des plantes en C <sub>3</sub> 230
Figure 3.19 : Structures du phosphoénolpyruvate et de l'acide malique intervenant lors de la photosynthèse des plantes en C4 et CAM

Figure 3.20 : Voie photosynthétique utilisée par les plantes terrestres en C3 (Grice, 2005)231
Figure 3.21 : Structures des feuilles de plantes en C <sub>3</sub> et en C <sub>4</sub> (http://biologie.univ- mrs.fr/upload/p210/APE_PS.pdf)231
Figure 3.22 : Voie photosynthétique utilisée par les plantes terrestres en C₄ et CAM (Grice, 2005)232
Figure 3.23 : Schéma simplifié de la biosynthèse des lipides (DeNiro and Epstein, 1977)233
Figure 3.24 : Différences entre les voies de biosynthèse des acides gras des tissus adipeux et des produits laitiers chez les ruminants (Evershed, 2009)
Figure 3.25 : Distribution des valeurs de δ <sup>13</sup> C obtenues pour les fractions F3 selon les différents états de dégradation des échantillons236
Figure 3.26 : Comparaison des différents modèles décrits dans la littérature pour des graisses de référence (modèle d'Evershed en bleu), en fonction de la zone géographique (Gregg and Slater, 2010)242
Figure 3.27 : Valeurs isotopiques des acides provenant d'huiles de références modernes décrites dans la littérature, en vert (Steele <i>et al.</i> , 2010), en orange (Romanus <i>et al.</i> , 2008)244
Figure 3.28 : Valeurs isotopiques des acides gras majoritaires obtenues pour des graisses modernes du Moyen Orient (Gregg and Slater, 2010), des huiles végétales modernes (Steele <i>et al.</i> , 2010) et des échantillons provenant de Deir el-Médineh246
Figure 3.29 : Projection de $\Delta^{13}$ C ( $\delta^{13}$ C <sub>18:0</sub> - $\delta^{13}$ C <sub>16:0</sub> ) en fonction du $^{13}$ C <sub>18:0</sub> pour des références modernes (Gregg and Slater, 2010; Steele <i>et al.</i> , 2010) et les échantillons de Deir el-Médineh247

Figure 4.1 : Bilan des résultats obtenus par les différentes techniques analytiques utilisées sur les échantillons de Deir el-Médineh caractérisés par une base lipidique256
Figure 4.2 : Tableau représentant la nature des mélanges présents dans les différentes poteries de Deir el- Médineh, en fonction des typologies263
Figure 4.3 : Représentation montrant la préparation des substances parfumées - Tombe thébaine d'Amenmès (TT89), datée de la XVIII <sup>ème</sup> dynastie (http://egyptomusee.over-blog.com)
Figure 4.4 : Photographie d'une peinture murale représentant un portrait d'une dame - Tombeau de Menna (XVIII <sup>ème</sup> dynastie) (Cherpion, 1994)268
Figure 4.5 : Représentation de l'onction, présente dans la tombe de Nebenmaât (TT 219), datée du Nouvel Empire (XIX <sup>ème</sup> dynastie), située à Deir el-Médineh ; cliché IFAO 73-2360, (Cherpion, 1994)268
Figure 4.6 : Photographies de papyrus médicaux; (a) une page du papyrus Ebers; (b) planche vi et vii du papyrus Edwin Smith (www.egypte-ancienne.fr)
Figure 4.7 : Photographie d'un bas-relief provenant de la tombe de Basa, située près de Louxor, daté de la XXVI <sup>ème</sup> dynastie, et représentant le transport des sept huiles saintes (www.cnrs.fr/cw/dossiers/doschim/decouv/parfums/Parfums.pdf)272
Figure 4.8 : Photographie de la collection de 7 vases retrouvés dans la tombe intacte de Kha (architecte royal en chef), datée de la XVIII <sup>ème</sup> dynastie (d'après Schiaparelli, 1927:155, Fig. 138) (Bisset <i>et al.</i> , 1994)273
Figure 4.9 : Peintures murales de la tombe de Rekhmirê (n°100), située sur le rive ouest de Louxor, datée de la XVIII <sup>ème</sup> dynastie et montrant la récupération du miel (Davies, 1944)276

Figure 4.10 : Représentation des vendanges, provenant de la tombe de Nakht (TT 52), située sur la rive ouest
du Nil, datée de la XVIII <sup>ème</sup> dynastie 1400 av. JC, sous le règne de Thoutmosis IV (http://planet-terre.ens-
lyon.fr)

## Partie expérimentale

Figure E.1 : Schéma du protocole analytique	.291
Figure E.2 : Schéma du fractionnement des fractions F1 (élution au cyclohexane) et F2 (élution dichlorométhane) par CCM	au .292
Figure E.3 : Thermogrammes obtenus pour deux échantillons archéologiques de Deir el-Médineh	.298
Figure E.4 : Réaction d'acétylation des fonctions hydroxyles et carboxyles.	.299
Figure E.5 : Synthèse du diazométhane à partir du diazald.	.300
Figure E.6 : Réaction de méthylation des fonctions carboxyles	.300
Figure E.7 : Réaction de méthylation des fonctions carboxyles par le BF <sub>3</sub> /MeOH	.301
Figure E.8 : Réaction de triméthylsilylation des fonctions hydroxyles (et carboxyles).	.301
Figure E.9 : Coupure des triglycérides par le LiAlH <sub>4</sub>	.302
Figure E.10 : Photos de la solution de Lugol et du changement de coloration sur une biscotte montrant présence d'amidon	la .302
Figure E.11 : Schéma de fractionnement des huiles par CCM (élution au dichlorométhane)	.304

#### Annexe I

Figure A.1 : Formes thréo et erythro de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque	333
Figure A.2 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction F3 acétylée et méthylée	334
Figure A.3 : Structures et caractéristiques de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque et de ses dérivés	335
Figure A.4 : Spectres de masse obtenus en impact électronique (70eV) sur l'acide 9 dihydroxyoctadecanoïque, sous forme acétylée & méthylée et sous forme triméthylsilylée	,10- 336
Figure A.5 : Spectre de masse obtenu en ionisation chimique avec l'ammoniac sur les composés présents minutes.	à 40 337
Figure A.6 : Résultats obtenus en GC-MS haute résolution pour les deux composés sous forme acétylé méthylée sortant à 40 minutes dans les fractions F3 et étant identifiés comme les acides 9 dihydroxyoctadécanoïques.	e et 1,10- 339
Figure A.7 : Réarrangement de Mac Lafferty d'un ester méthylique (Budzikiewicz et al., 1967).	340
Figure A.8 : Mode de fragmentation proposé pour les acides 9,10-dihydroxyoctadénoïques sous fo acétylée et méthylée	rme 341

## LISTE DES TABLEAUX

## Chapitre 1

Tableau 1.1 : Noms et propriétés olfactives de certaines lactones naturelles	.38
Tableau 1.2 : Composition chimique et diversité des cires épicuticulaires (Kolattukudy, 1970)	.59
Tableau 1.3 : Composition chimique des principales cires animales.	.61

#### Chapitre 2

Tableau 2.1 : Principales observations relatives à l'aspect des échantillons analysés7	77
Tableau 2.2 : Rapports C <sub>16:0</sub> /C <sub>18:0</sub> et C <sub>16:0</sub> /C <sub>14:0</sub> , caractéristiques des corps gras frais d'origine animale et végétale (Tchapla <i>et al.,</i> 1999)	31
Tableau 2.3 : Températures de fusion des échantillons archéologiques E16458 et E16449, ainsi que de graisses	i
et d'huiles modernes (Karleskind, 1996)15	55

Tableau 3.1 : Liste des abréviations des principales parties acyles, composant les triglycérides199
Tableau 3.2 : Ions [M+H] <sup>+</sup> observés dans les spectres des TAG obtenus par LC-APCI-MS permettant de déterminer la masse du TAG (Holcapek <i>et al.</i> , 2003)200
Tableau 3.3 : Ions [M-RCO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> observés dans les spectres de masse des TAG obtenus par LC-APCI-MS, permettant de déterminer la nature et la position des acides gras sur le glycérol (Holcapek <i>et al.</i> , 2003). 201
Tableau 3.4 : Abondances relatives des isotopes stables de l'hydrogène, du carbone, de l'azote, de l'oxygène         et du soufre
Tableau 3.5 : Valeurs en δ <sup>13</sup> C pour l'échantillon archéologique E16459 et les miels de références (Padovan <i>et al.</i> , 2003) ; <sup>1</sup> : résultats obtenus au laboratoire
Tableau 3.6 : Valeurs en $\delta^{13}$ C (en ‰) obtenues pour les plantes en C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> et CAM (Bi <i>et al.</i> , 2005; Collister <i>et al.</i> , 1994)
Tableau 3.7 : Valeurs δ <sup>13</sup> C obtenues pour les <i>n</i> -alcanes présents dans les échantillons archéologiques, de cires d'abeille (Evershed <i>et al.</i> , 2003) et de cires épicuticulaires (Evershed <i>et al.</i> , 1999) de référence239
Tableau 3.8 : Valeurs isotopiques obtenues pour les diacides et les acides des échantillons provenant de Deir         el-Médineh
Tableau 3.9 : Valeurs isotopiques obtenues pour les diacides et les acides d'échantillons archéologiques         provenant d'Egypte (Copley et al., 2005d)
Tableau 3.10 : Valeurs isotopiques obtenues pour les lactones provenant des échantillons de Deir el-Médineh.252

#### **ABREVIATIONS**

AcOEt : Acétate d'éthyle

APCI : Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique

BSTFA : Bis-(N,O-triméthylsilyl)-trifluoroacétamide

CC : Chromatographie liquide sur Colonne de silice

CCM : Chromatographie liquide sur Couche Mince de silice

CI : Ionisation Chimique (MS)

DAG : Diacylglycérol ou diglycéride

DCM : Dichlorométhane

ECN : Nombre de carbone équivalent

EI : Impact Electronique (MS)

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

GC : Chromatographie en phase Gazeuse

GC-C-IRMS : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec mesure du rapport isotopique

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

MAG : Monoacylglycérol ou monoglycéride

MeOH : Méthanol

MS : Spectrométrie de Masse

MS/MS : Spectrométrie de Masse portant sur les ions sélectionnés

m/z: Rapport masse sur charge (MS)

TAG : Triacylglycérol ou triglycéride

TIC : Courant d'ions total

# INTRODUCTION GENERALE

L'archéologie est une discipline scientifique qui consiste à étudier les civilisations anciennes par l'intermédiaire de l'ensemble des vestiges matériels découverts. Ces derniers, véritables témoins du passé sont de nature très diverses : il peut s'agir de poteries, d'outils, de pièces de monnaie, mais aussi d'ossements, de peintures ou encore d'infrastructures. Les études du patrimoine culturel sont très importantes car elles apportent *in fine* aux archéologues, restaurateurs et conservateurs les informations nécessaires sur la culture et le savoir-faire des civilisations passées. Allier la chimie et l'archéologie, s'est rapidement révélé être un pari gagnant.

Depuis plusieurs décennies, des analyses chimiques de matériaux inorganiques anciens comme les pigments, les céramiques, les verres ou encore les métaux, ont été mises en place. Cependant, celles effectuées sur des matériaux organiques (adhésifs, colorants, résidus alimentaires, etc.) sont beaucoup plus récentes. Les résidus organiques archéologiques peuvent être retrouvés sous différentes formes. Il peut s'agir de résidus amorphes qui adhèrent à des objets, ou qui sont présents dans des récipients. Ils peuvent également avoir été absorbés dans les parois poreuses de certaines poteries.

Les analyses élémentaires de ces résidus organiques apportent peu d'informations, car ils sont essentiellement composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Leur nature très complexe, en raison de leur état de dégradation qui peut être très avancé, ainsi que de la diversité des substances naturelles qui ont pu être utilisées (bitume, cire d'abeille, graisse animale, huile végétale, produit laitier, résine végétale etc.), rend leur analyse très délicate. D'autres contraintes liées à ces archéomatériaux existent, car il s'agit le plus souvent de matériaux hétérogènes, uniques, présents en faible quantité, qui ont été transformés par l'homme (dégradations anthropiques) via un traitement thermique, un broyage, un mélange, et qui ont subi par la suite des dégradations naturelles liées à leur abandon et à leur enfouissement. L'étude chimique de ces matériaux très complexes mais riches en informations relève donc d'un véritable défi analytique, qui a donné naissance à l'archéologie moléculaire.

Les premiers essais d'identification de résidus organiques ont été réalisés au cours des années 1880 par Heintzel. Pour cela, il se basait sur la dissolution des résidus dans différents solvants organiques et sur l'odeur dégagée après passage à la flamme (Regert and Rolando, 1996). Suite aux progrès technologiques et au développement de la chimie analytique, des techniques plus adaptées à l'étude des archéomatériaux ont vu le jour. Ainsi, durant les années 1960, les méthodes spectroscopiques telles que la spectroscopie infrarouge (IR), la résonance

magnétique nucléaire (RMN), et la spectrométrie d'absorption de l'ultraviolet (UV), ont été utilisées. Cependant, ces techniques donnent une empreinte globale du résidu, dont l'interprétation est délicate et ne permettent généralement pas de déterminer la nature de tous les constituants présents dans un mélange. De plus, elles ne sont pas toujours suffisamment sensibles pour l'analyse de très petites quantités de matériel. Grâce à la chromatographie en phase gazeuse (GC), dès les années 1970, il a été possible de séparer les différents constituants des mélanges archéologiques mais également de travailler sur de très petites quantités de matériel. Les chromatogrammes obtenus étaient comparés à des chromatogrammes de référence, permettant d'identifier en partie les constituants du matériau étudié. Cependant, dans de nombreux cas, quand l'état de dégradation était très avancé, ou quand l'échantillon était trop complexe, l'identification n'était plus possible. C'est la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS) qui a résolu ces problèmes. Des marqueurs moléculaires ont ainsi pu être identifiés, et être classés en trois catégories distinctes (Regert and Rolando, 1996) :

- *les biomarqueurs* : il s'agit de composés organiques qui conservent un squelette carboné spécifique, toujours apparenté à son précurseur lipidique présent dans l'organisme vivant. Ils sont retrouvés dans des dépôts sédimentaires anciens et récents, mais également dans des résidus archéologiques.

- *les marqueurs de dégradation naturelle ou anthropique* : ils sont formés par transformation des biomarqueurs. L'origine de ces transformations peut être l'activité humaine (mélange de plusieurs produits ou traitement thermique), mais aussi résulter de l'action de micro-organismes suite à l'enfouissement, ou encore être liée à l'oxydation abiotique et la photochimie.

- *les marqueurs de contamination* : ils ne proviennent pas du matériau archéologique mais de pollutions qui ont pu se produire pendant, ou après l'enfouissement. C'est le cas des contaminations par les micro-organismes (détection des lipides constitutifs de leur membrane cellulaire), des phtalates (qui peuvent provenir du contact avec les gants ou sachets en plastique, lors de la manipulation ou le stockage des échantillons), ou encore du squalène et du cholestérol (qui peuvent provenir de la manipulation de l'échantillon à main nue).

L'approche chimique que nous avons employée dérive largement de la méthodologie utilisée en géochimie organique, mais a dû être adaptée au contexte archéologique. Elle permet d'appréhender les échantillons dans leur globalité en étudiant les marqueurs moléculaires dans toute la gamme de polarité. Ce protocole analytique est particulièrement bien adapté à nos échantillons dans la mesure où il permet d'étudier les mélanges complexes de plusieurs composants, dont nous ignorons tout au moment de l'analyse.

Grâce à une collaboration avec le Musée du Louvre et tout particulièrement avec le conservateur en chef au Département des Antiquités Egyptiennes, Mme Pierrat-Bonnefois, nous avons eu accès à une collection exceptionnelle de poteries, provenant d'une nécropole de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie (durant le règne du pharaon Thoutmosis III, vers 1479-1425 av. J.-C.), située à proximité du village de Deir el-Médineh. Cette nécropole présente de multiples particularités telles que l'absence d'objets funéraires et la présence inhabituelle de nombreuses poteries et instruments de musique. Traditionnellement, ce cimetière est interprété comme étant celui des artisans et ouvriers travaillant à la construction des temples et tombeaux de la Vallée des Rois. Cependant, cela s'accorde mal avec le caractère modeste et illettré des sépultures. D'où le mystère persistant sur la nature de la population qui l'occupait. En effet, ces pots sont-ils en relation avec une profession particulière, avec leur quotidien, ou s'agit-il d'offrandes pour leur vie dans l'au-delà? L'hypothèse retenue par Geneviève Pierrat-Bonnefois serait qu'il s'agisse d'une population étrangère de condition modeste, qui travaillait en contact étroit avec l'administration pharaonique (accès à des produits de luxe), en assurant confort et loisir grâce à des connaissances spécialisées dans les domaines des soins et du spectacle (Pierrat-Bonnefois, 2002). L'analyse moléculaire et isotopique du contenu de ces poteries nous apportera les informations sur la nature des substances présentes, l'utilisation de ces pots, ainsi que sur cette population particulière.

Dans un premier chapitre, une étude bibliographique sur les matières lipidiques et tout particulièrement sur les corps gras comme les huiles, les graisses et les produits laitiers, ainsi que sur les cires animales et végétales a été réalisée. Nous détaillerons tout particulièrement leur composition chimique complexe mais aussi les voies de dégradation qu'ils subissent dans un contexte archéologique (Chapitre 1). Par la suite, ce travail sera centré sur l'analyse des échantillons organiques provenant de la nécropole de Deir el-Médineh. Dans un premier temps, nous avons déterminé la nature des mélanges entrant dans la composition des échantillons présents dans les poteries grâce à la GC-MS (Chapitre 2). Des mélanges complexes plus ou moins dégradés entre des huiles, des graisses et des cires épicuticulaires, ainsi que l'absence de résine ont ainsi été mis en évidence dans une vingtaine d'échantillons. La présence de sucres a été constatée dans trois échantillons (moûts, miel) de typologie particulière, ce qui semble cohérent avec des contenus de nature alimentaire. Deux onguents égyptiens datés de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie mais provenant d'un autre contexte archéologique ont été étudiés, dans le but de les comparer aux échantillons de Deir el-Médineh. Les analyses de références actuelles telles que des fruits ou des jus de fruits (grenades, figues et dattes), des huiles végétales (olive, sésame, ricin, lin, colza et palme), et de la cire d'abeille, ont permis de préciser la nature des mélanges. Des expériences de simulation sur des huiles végétales (vieillissement et dégradation thermique) ont également été réalisées. L'état de dégradation très avancé de la quasi-totalité des échantillons analysés a rendu l'interprétation des résultats obtenus par GC-MS extrêmement délicate. Des analyses complémentaires par LC-MS (chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse) sur les triglycérides, et GC-C-IRMS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec mesure du rapport isotopique) sur les acides gras, ont également été réalisées dans le but de préciser l'origine biologique des corps gras utilisés (Chapitre 3). L'homogénéité des résultats semble indiquer que ces poteries ont eu une fonctionnalité particulière, et qu'elles appartiennent à une seule et même famille, qui est celle des onguents. Leur utilisation en tant que remède et/ou cosmétique sera également discutée (Chapitre 4). Nous mentionnerons également les boissons égyptiennes dans ce chapitre.

# **CHAPITRE 1 : LES LIPIDES : DIVERSITE, STRUCTURE, BIOSYNTHESE ET VOIES DE DEGRADATION**

#### INTRODUCTION

Les lipides forment un groupe de molécules très hétérogène, à la fois au niveau structurel et fonctionnel. On distingue les lipides à base d'acides gras et ceux à base d'isoprènes comme les terpènes ou terpénoïdes (Figure 1.1). Dans ce chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux lipides à base d'acides gras. Les lipides simples, constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, se présentent sous la forme d'esters entre un alcool et un acide gras. Si l'alcool est le glycérol, on parle de glycérides, si c'est un alcool aliphatique primaire avec une longue chaîne carbonée (ou alcool gras), alors il s'agit de cérides. Dans le cas d'esters de stérols, on parle de stérides. Les lipides complexes sont quant à eux composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'un ou plusieurs hétéroatomes (azote, phosphore ou soufre).

Ces composés sont caractérisés par une propriété physique commune : ils sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques. Cette famille de composés contient un grand groupe de constituants qui diffèrent par leurs structures moléculaires (linéaires, ramifiés, cycliques), et par leurs propriétés chimiques. Grâce à leur caractère hydrophobe, ces molécules se conservent très bien au cours du temps. Elles subissent tout de même des phénomènes d'altération tels que l'hydrogénation et l'oxydation de doubles liaisons, l'aromatisation de cycles, la perte de groupements fonctionnels, etc. Cependant, leur squelette carboné est bien conservé et peut encore être apparenté à son précurseur. Les lipides sont donc d'excellents biomarqueurs (Regert *et al.*, 2006).

Les lipides assurent diverses fonctions biologiques. Ainsi, les huiles et les graisses sont des mélanges de lipides servant à stocker l'énergie, alors que les cires sont des mélanges de lipides servant à limiter les pertes hydriques au niveau des différents organes des végétaux (Guilloton and Quintard, 2002). Les sources de lipides sont variées, mais ils proviennent principalement des plantes et des animaux.



Figure 1.1 : Classification des lipides (Frénot, 2002)

#### I) LES HUILES ET LES GRAISSES : DEFINITION ET DEGRADATION

Les composants des huiles végétales et des graisses animales sont aujourd'hui bien connus en raison de leur importance dans l'alimentation. Leur composition chimique présente de nombreuses similitudes malgré leur état physique différent. En effet, une huile est généralement liquide à température ambiante (à l'exception de quelques unes comme par exemple, l'huile de palme ou encore le beurre de cacao), ce qui n'est pas le cas d'une graisse animale, qui est plutôt solide à température ambiante. Les lipides provenant de ces corps gras sont majoritairement constitués de mélange de glycérides, tels que les triglycérides et de nombreux composés minoritaires comme les stérols, les acides gras libres, les phosphoglycérides ou les cérides.

#### I.1) Définition, structure, composition & biosynthèse

#### I.1.1) Les triglycérides

*Définition & structure*. Les triglycérides (triacylglycérols, ou TAG), sont constitués d'une molécule de glycérol estérifiée à trois acides gras, le plus souvent différents les uns des autres (Figure 1.2).



Figure 1.2 : Structure du glycérol et des triglycérides (R1, R2, et R3 correspondent aux chaînes alkyles des acides gras).

*Biosynthèse*. La biosynthèse des triglycérides se déroule en trois étapes au niveau du réticulum endoplasmique (organite présent au sein des cellules eucaryotes), et nécessite deux précurseurs qui sont le L-glycérol (formé au cours de la glycolyse) et l'acétyl-coenzyme A. Les triglycérides ainsi formés sont ensuite libérés sous forme de gouttelettes à l'intérieur des cellules (Lehninger, 1975). Chez les animaux, ils sont essentiellement fabriqués dans le foie, et dans les cellules adipeuses (adipocytes) et intestinales.

#### I.1.2) Les acides gras

*Définition & structure.* Les acides gras (ou FA pour « fatty acids ») sont des acides carboxyliques aliphatiques présentant une chaîne carbonée plus ou moins longue (Figure 1.3).



Figure 1.3 : Structure d'un acide gras.

On distingue les acides gras saturés (absence de doubles liaisons carbone-carbone), des acides gras insaturés (présence d'une double liaison) et polyinsaturés (présence de plusieurs doubles liaisons). La présence d'insaturation(s) entraîne une isomérie *cis-trans* (Figure 1.4).



Figure 1.4 : Configuration *cis-trans* des acides gras insaturés.

Les acides gras sont notés Cx:y  $\omega z$ , où <u>x</u> indique le nombre de carbone, <u>y</u> celui de doubles liaisons, et <u>z</u> la position de la première insaturation en partant du côté opposé au groupe acide (Figure 1.5).



Figure 1.5 : Exemple d'un acide gras insaturé : l'acide arachidonique.

Les acides gras sont présents dans les graisses et les huiles, majoritairement estérifiés au glycérol, mais ils existent également naturellement sous forme libre. Quand ils sont libres, ils proviennent de l'hydrolyse des triglycérides. Cette séparation s'effectue dans la plante sous l'effet de plusieurs facteurs : les catalyseurs biologiques (enzymes), l'action de la lumière, l'eau ou encore la chaleur.

Les acides gras sont généralement de configuration *cis*. Ceux présentant une configuration *trans* sont présents en faible quantité dans certains aliments comme les produits laitiers et les graisses animales de ruminants. Ils se forment dans le rumen (premier estomac des ruminants) par transformation bactérienne des acides gras insaturés.

Les huiles végétales sont caractérisées par la présence d'acides gras (estérifiés au glycérol ou libres) insaturés (acide oléique,  $C_{18:1}$ ) et polyinsaturés (acide linoléique,  $C_{18:2}$  et linolénique,  $C_{18:3}$ ). Les graisses animales sont quant à elles principalement constituées d'acides gras saturés, principalement les acides palmitique ( $C_{16:0}$ ) et stéarique ( $C_{18:0}$ ) (Figure 1.6). La présence d'insaturation diminue la température de fusion, ce qui explique que la majorité des huiles végétales soient liquides à température ambiante. Il est possible de classer les huiles en fonction du nombre d'insaturation :

- Les huiles siccatives : elles sont composées d'acides gras estérifiés et libres présentant de nombreuses insaturations. Elles rancissent facilement et polymérisent. C'est le cas de l'huile de lin, qui est notamment utilisée comme vernis, dans le domaine de la peinture.

- Les huiles semi-siccatives : elles présentent des propriétés intermédiaires. On peut citer par exemple les huiles de sésame, de balanos et d'amande, qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire.

- Les huiles non-siccatives : composées d'acides gras présentant peu d'insaturations (essentiellement de l'acide oléique), elles rancissent difficilement. C'est le cas des huiles d'olive, de moringa et de ricin. A l'exception de l'huile de ricin (ne pouvant pas être consommée par l'homme mais qui est utilisée pour les massages), les autres ont essentiellement un usage alimentaire.

Il est également possible de classer les huiles végétales en fonction de leur profil en acides gras. On distingue :

- Les huiles riches en acides gras saturés : on peut citer par exemple les huiles lauriques, riches en  $C_{12}$ , telle que l'huile de palmiste, extraite des graines du palmier à huile (*Elaeis guineensis*). Parmi ces huiles, on retrouve également l'huile de palme, extraite de la pulpe des fruits du palmier à huile, riche en  $C_{16}$ , et le beurre de cacao riche en  $C_{16}$  et  $C_{18}$ .

- Les huiles oléiques : elles sont caractérisées par une teneur élevée en  $C_{18:1}$ . C'est le cas des huiles de carthame, d'olive, de colza et de sésame.

- Les huiles linoléiques : il s'agit des huiles riches en  $C_{18:2}$ , telles que les huiles de coton, de soja, de pépins de raisin et de sésame.

- Les huiles linoléniques : il s'agit des huiles riches en  $C_{18:3}$ , telles que l'huile de lin.



Figure 1.6 : Structures moléculaires des principaux acides gras présents dans les triglycérides.

Les acides gras biosynthétisés par la plupart des organismes vivants sont linéaires et à nombre pair d'atomes de carbone. Les acides gras linéaires, ramifiés de type *iso* et *anteiso*, et à nombre impair de carbone ( $C_{15}$  et  $C_{17}$ ) sont relativement rares sauf dans le cas des microorganismes tels que les bactéries (Kaneda, 1967; Rezanka and Sigler, 2009).

*Biosynthèse*. Chez les animaux, la biosynthèse a lieu dans le cytoplasme cellulaire, alors que chez les végétaux, elle se déroule dans le chloroplaste (organite présent à l'intérieur du cytoplasme des cellules eucaryotes photosynthétiques). Le maillon central de la biosynthèse est l'acide palmitique ( $C_{16:0}$ ). C'est à partir de celui-ci que les différentes enzymes mèneront à la synthèse des autres acides gras. La synthèse de l'acide palmitique se fait quant à elle par
l'intermédiaire du malonyl-coenzyme A (formé à partir de l'acétyl-coenzyme A), qui après plusieurs passages dans le cycle enzymatique de la lipogénèse donnera le palmitate (Guilloton and Quintard, 2002).

#### I.1.3) Les stérols

*Définition & structure*. Les stérols, qui dérivent des triterpènes, sont des composés minoritaires des huiles et des graisses (moins de 1%) (Figure 1.7). Ces composés sont spécifiques soit du règne végétal (on parle alors de phytostérols) soit du règne animal (Mills and White, 1994a). Ainsi, le stérol majoritairement biosynthétisé par les animaux est le cholestérol, alors que chez les végétaux c'est le sitostérol et le campestérol qui sont majoritaires (Figure 1.8). Le cholestérol peut également être présent à l'état de trace dans les huiles végétales (Stott *et al.*, 1999).

Les stérols animaux comportent généralement 27 atomes de carbone, alors que les stérols végétaux en comportent 29. Ils constituent donc des biomarqueurs à la fois utilisés en géochimie et en archéologie moléculaire.



Cholestane

Figure 1.7 : Numérotation générique des stérols.



Figure 1.8 : Structures moléculaires des trois principaux stérols : le sitostérol, le campestérol et le cholestérol.

*Biosynthèse*. Le cholestérol est synthétisé essentiellement dans le foie et l'intestin chez les animaux. Tous les stérols sont synthétisés à l'intérieur des cellules, à partir de l'époxysqualène (Figure 1.9), qui consiste en un assemblage d'unités isoprènes (Lehninger, 1975).



Figure 1.9 : Structures moléculaires d'une unité isoprène, et de l'époxysqualène (assemblage d'unités d'isoprènes).

#### I.2) Les voies de dégradation en contexte archéologique

Les résidus archéologiques ont une histoire particulièrement complexe. Les dégradations naturelles et anthropiques qu'ils subissent ont lieu à différents moments : lors de la collecte des substances naturelles, de leur préparation et de leur enfouissement. Il est important de connaître les effets de ces différents phénomènes pour pouvoir interpréter correctement les informations obtenues lors de l'analyse des archéomatériaux.

Les mécanismes de dégradation décrits dans ce paragraphe concernent uniquement les huiles végétales et les graisses animales provenant des mammifères. Les graisses provenant de mammifères marins ne seront pas décrites.

#### I.2.1) Dégradation des triglycérides

Dans un contexte sédimentaire, les triglycérides subissent les mêmes réactions que les acides gras. Il s'agit essentiellement de l'*autoxydation* (réaction détaillée dans le paragraphe suivant). Cependant, cette réaction est souvent précédée d'une étape de dégradation plus rapide, l'*hydrolyse*. Les triglycérides peuvent également subir des modifications anthropiques telles qu'une dégradation thermique, lors d'un chauffage.

#### I.2.1.i) Hydrolyse

L'hydrolyse des triglycérides peut être enzymatique (par des micro-organismes) et/ou non biologique (par action de l'eau) (Evershed *et al.*, 1992). Les triglycérides s'hydrolysent partiellement en diglycérides (diacylglycérols ou DAG), en monoglycérides (monoacylglycérols ou MAG), ou totalement en acides gras dits « libres » (FA ou « fatty acids ») (Figure 1.10). Ces phénomènes sont plus rapides pour les triglycérides possédant des acides gras avec des chaînes courtes tels que ceux présents dans le lait et les autres produits laitiers, et ceux possédant des acides gras insaturés comme ceux présents dans les huiles végétales.



Figure 1.10 : Structures des DAG, MAG, et FA après hydrolyse partielle ou complète des TAG.

#### I.2.1.ii) Formation des lactones

Les lactones sous les formes  $\gamma$  et  $\delta$  existent à l'état naturel, avec des chaînes carbonées courtes (inférieures à 12 atomes de carbone, Figure 1.11). Elles sont responsables des arômes de nombreux aliments (Tableau 1.1), et tout particulièrement de ceux de nombreux fruits (Nitz *et al.*, 1991).



Figure 1.11 : Structures moléculaires des  $\gamma$ - et  $\delta$ - lactones.

Nom de la lactone	Odeur
$\gamma$ -dodécalactone (C <sub>12</sub> )	pêche
$\gamma$ -décalactone (C <sub>10</sub> )	pêche
$\gamma$ -nonalactone (C <sub>9</sub> )	noix de coco
$\delta$ -décalactone (C <sub>10</sub> )	pêche

Tableau 1.1 : Noms et propriétés olfactives de certaines lactones naturelles.

Les lactones sont également détectées dans les corps gras vieillis et/ou chauffés, mais elles ne sont pas présentes dans les corps gras frais. En effet, elles ont été retrouvées dans des dépôts de graisse animale (Watanabe and Sato, 1968), des produits laitiers, comme le lait (Nawar, 1969), le fromage (Alewijn *et al.*, 2007), le beurre (Jurriens and Oele, 1965), des huiles végétales hautement oxydées (Pai *et al.*, 1979), et dans des corps gras qui ont subi un chauffage.

Leur présence peut se traduire par une légère odeur de noix de coco (Nawar, 1969). Il s'agit majoritairement de lactones dont la distribution s'étend du terme en  $C_5$  au terme en  $C_{18}$ 

(Dimick *et al.*, 1966; Muck *et al.*, 1963). Les lactones obtenues par dégradation des corps gras sont donc caractérisées par des chaînes plus longues que celles décrites dans la nature. Il a également été constaté que les  $\gamma$ -lactones sont formées en quantité plus importante que les  $\delta$ -lactones.

De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer le mode de formation de ces lactones. Certains travaux ont permis de constater que les lactones formées majoritairement possèdent le même nombre de carbone que les acides gras majoritaires, qui seraient alors les précurseurs de ces molécules (Crnjar *et al.*, 1981; Fioriti *et al.*, 1967; Pai *et al.*, 1979). D'autres auteurs proposent les hydroxyacides estérifiés au glycérol comme précurseurs des lactones. Une fois hydrolysés, ceux-ci sont cyclisés sous l'action du chauffage (Dimick *et al.*, 1966; Nawar, 1969). La présence d'eau favorise la formation des lactones car elle permet d'hydrolyser les triglycérides et donc de libérer les hydroxyacides (Pai *et al.*, 1979).

#### I.2.1.iii) Dégradation thermique

De nombreuses études ont été effectuées dans le domaine de l'agro-alimentaire afin de déterminer les conséquences d'un chauffage à haute température en présence d'air, de graisses animales et d'huiles végétales, et de connaître les impacts sur la santé. Ces recherches ont permis de mieux connaitre les nombreux produits d'oxydation qui se forment à partir des TAG et des acides gras (libres et estérifiés au glycérol). Au moment d'un chauffage, en plus des produits issus de l'hydrolyse, de nombreux autres composés sont formés comme des triacylglycérols monomériques oxydés (Velasco *et al.*, 2004), des alcanes, des méthyl-cétones, des aldéhydes et des  $\delta$ - et  $\gamma$ -lactones (Crnjar *et al.*, 1981; Pai *et al.*, 1979). Les mélanges obtenus sont très complexes.

Les triacylglycérols monomériques oxydés sont caractérisés par la présence d'un atome d'oxygène (en plus de ceux présents dans la structure du TAG), sous forme d'une fonction alcool, cétone ou époxyde, sur au moins un des acides gras (Figure 1.12). Ils sont formés selon des réactions similaires au phénomène d'autoxydation (Velasco *et al.*, 2004). Il s'agit de mécanismes radicalaires qui consistent à former dans un premier temps un hydroperoxyde, qui va rapidement se décomposer (ces mécanismes seront décrits plus en détails dans le paragraphe suivant).

De nombreux autres composés peuvent être formés lorsqu'une huile végétale est chauffée. On peut citer par exemple les acides gras avec des cycles à 5 et 6 atomes de carbone (Figure 1.13), formés durant le chauffage d'une huile végétale à des températures de 200 et 275°C (Dobson *et al.*, 1996). Le précurseur de ces molécules est l'acide oléique.



Figure 1.12 : Produits d'oxydation des TAG, comportant une chaîne courte et des fonctions alcool et cétone.



Figure 1.13 : Structures moléculaire des acides gras cycliques formés à partir de l'acide oléique.

#### <u>Remarques</u> :

- Le chauffage du beurre (avec ou sans eau), conduit à la formation de méthyl-cétones, dont la distribution s'étend du terme à 5 au terme à 15 atomes de carbone. Les précurseurs de ces molécules seraient les acides gras (estérifiés au glycérol), portant une fonction cétone (Van Der Ven *et al.*, 1963).

- En cas de chauffage important (température supérieure à 300°C) d'une graisse, l'équipe d'Evershed a constaté la formation de cétones linéaires avec des chaînes longues de 29 à 35 atomes de carbone (Figure 1.14). Leur formation s'expliquerait par la condensation de deux acides gras (Evershed *et al.*, 1995; Evershed, 2008). Ces cétones sont également présentes dans certaines cires provenant de végétaux supérieurs.



Cétone en C<sub>35</sub>

Figure 1.14 : Formation des cétones caractéristiques de la dégradation thermique d'acides gras.

#### I.2.2) Dégradation des acides gras

#### I.2.2.i) Autoxydation des acides gras insaturés

*Observations*. Les acides gras insaturés sont très sensibles aux phénomènes de dégradation et s'oxydent facilement. Dans la vie courante, c'est ce qu'on appelle le rancissement, phénomène qui correspond au vieillissement naturel des corps gras. Il peut être lié aux conditions de stockage (environnement sec, humide, exposition à la lumière, etc.). Cette oxydation est communément appelée *autoxydation* (Fritsch and Deatherage, 1956).

*Définition*. L'autoxydation consiste à oxyder les acides gras insaturés par l'oxygène atmosphérique. Il s'agit d'une peroxydation (suivant des processus radicalaires complexes) d'une position allylique (Garnier, 2003). L'autoxydation des corps gras au contact de l'oxygène constitue un ensemble complexe de réactions qui n'ont pas encore été totalement élucidées. L'oxygène triplet étant le plus abondant dans le milieu naturel, c'est donc lui qui est le plus susceptible de réagir avec la matière organique exposée aux conditions atmosphériques.

La première étape appelée initiation, consiste à convertir l'acide gras insaturé (R-H) en radical libre (R<sup>•</sup>), par l'abstraction d'un atome d'hydrogène. Durant la seconde étape, le radical alkyle formé précédemment, va réagir avec l'oxygène triplet pour former le radical peroxyde (ROO<sup>•</sup>). Ce radical réagira ensuite avec un autre acide gras afin de régénérer un radical (R<sup>•</sup>) et de former un hydroperoxyde (ROOH) (Figure 1.15, Figure 1.16) (Karleskind, 1996). Les peroxydes et les radicaux peroxydes intermédiaires peuvent être transformés en de nombreuses espèces oxygénées comme les acides, les alcools, les cétones, ou peuvent induire des ruptures de liaisons, conduisant à la formation de molécules oxygénées (Perkel' *et al.*, 1994).



Figure 1.15 : Mécanisme de formation d'un hydroperoxyde à partir d'un alcène cis (Smith and March, 2001).

Cependant, comme l'oxygène triplet n'est pas assez réactif pour abstraire un atome d'hydrogène, des radicaux libres sont nécessaires pour initier ces réactions. Ces radicaux libres sont présents dans le milieu naturel, mais peuvent également être formés photochimiquement en présence d'initiateur de radicaux, tels que les cétones benzyliques (Kopecký, 1992).

Initiation	R-H	initiateur →	R•
Propagation	R• + O <sub>2</sub>	>	ROO•
	ROO <sup>•</sup> + R-H	>	ROOH + R•
Ramification	ROOH		RO• + •OH
Terminaison	2 radicaux	>	produits non-radicalaires

Figure 1.16 : Mécanisme d'oxydation radicalaire des acides gras insaturés.

En contexte archéologique, les hydroperoxydes formés ont tendance à engendrer par clivage hétérolytique des acides mono- et dicarboxyliques (Figure 1.17). Par coupure homolytique, ils forment préférentiellement des acides gras courts et des cétoacides (Marchand and Rontani, 2001).



Figure 1.17 : Voie de dégradation par clivage hétérolytique de l'hydroperoxyde formé à partir de l'acide oléique.

Le cas particulier des diacides (ou acides dicarboxyliques). Ils sont formés suite à l'oxydation (par autoxydation ou par chauffage) des acides gras insaturés. Ils sont caractérisés par une chaîne carbonée courte dont la distribution s'étend généralement du terme en  $C_4$  au terme en  $C_{13}$ , le terme en  $C_9$  (acide azélaïque) étant majoritaire. Les diacides formés dépendent des positions des insaturations au sein des acides gras initialement présents dans le corps gras.

Après cinq jours d'autoxydation (exposition à la lumière, à température ambiante) d'acides gras polysinsaturés comme les acides linoléique et linolénique (respectivement  $C_{18:2}$  et  $C_{18:3}$ ), et l'acide arachidonique ( $C_{20:4}$ ), la formation des diacides en  $C_9$  et  $C_7$  pour les acides en  $C_{18}$  et celle du diacide en  $C_5$  pour l'acide en  $C_{20}$  a été constatée (Passi *et al.*, 1993). Ainsi, le diacide en  $C_9$  proviendrait d'un acide gras insaturé avec la double liaison en position 9, c'est-à-dire l'acide oléique.

De manière générale, la présence d'une grande quantité de diacides indique la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative, alors qu'une faible quantité indique plutôt celle d'une huile végétale non-siccative ou d'une graisse animale (Newman, 1998).

#### I.2.2.ii) Formation des hydroxy- et dihydroxyacides

Les hydroxy- et dihydroxyacides ne sont pas décrits dans les huiles et les graisses analysées dans le domaine de l'agro-alimentaire. Cependant, ils sont fréquemment rencontrés dans les échantillons archéologiques. Il nous semble donc important de les inclure dans ce chapitre. De plus, aucune publication ne fournit d'explications précises sur leur mode de formation.

Les dihydroxyacides seraient formés par dihydroxylation de la double liaison carbonecarbone des acides gras insaturés (Gülaçar *et al.*, 1989; Regert, 2011). Les intermédiaires de formation des diols sont très probablement les époxydes (Figure 1.18). Comme la configuration *trans* est plus stable que la configuration *cis*, la forme *erythro* serait majoritairement formée par rapport à la forme *thréo* (Romanus *et al.*, 2008).

La position des groupements hydroxyles traduit précisément la position de la double liaison sur l'acide gras insaturé précurseur (Copley *et al.*, 2005d). Il est donc possible de déterminer la structure des acides gras présents initialement dans l'échantillon, voire même d'en préciser une origine biologique animale ou végétale. Ainsi, l'acide 13,14dihydroxydocosanoïque est formé à partir de l'acide érucique également appelé acide 13dococénoïque (Figure 1.19). Il s'agit d'un marqueur de résidu de végétaux provenant de la famille des *Brassicacées*, constituée notamment du colza, de la moutarde et du chou (Evershed, 2008). Le dihydroxyacide que l'on retrouve le plus souvent dans les échantillons archéologiques est l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque résultant de la dihydroxylation de l'acide oléique.



Figure 1.18 : Schéma de formation des diols vicinaux (formes thréo et erythro), à partir des alcènes cis, via l'intermédiaire d'un époxyde ; le radical ROO<sup>•</sup> peut être du type acylperoxy ou alkylperoxy (Romanus *et al.*, 2008).



acide 13,14-dihydroxydocosanoïque

Figure 1.19 : Détermination de la position de la double liaison à partir de la structure des diols vicinaux.

Les hydroxyacides peuvent être formés par déshydratation des dihydroxyacides (Figure 1.20).



Figure 1.20 : Chemin de dégradation possible pour la formation des hydroxyacides (Regert et al., 1998).

#### I.2.2.iii) Dégradation microbienne et formation d'adipocères

Ce terme a été instauré par Fourcroy en 1789, lorsqu'il a décrit le matériel exhumé d'un cimetière parisien (Fourcroy, 1790). Les adipocères (ou adipocires) et leur formation ont été beaucoup étudiés et sont assez bien connus par les études sur la décomposition des corps dans le domaine médico-légal.

*Définition*. Un adipocère (terme provenant du latin : *adeps* pour graisse et *cera* pour cire), a été défini comme étant le produit formé pendant la décomposition des restes d'origine humaine ou animale. Mais cette définition peut être également élargie aux corps gras d'origine végétale. L'adipocère est une substance homogène de couleur grisâtre ou blanchâtre, friable et d'aspect cireux. Cette substance est essentiellement composée d'acides gras parmi lesquels les acides palmitique et stéarique sont majoritaires. Les triglycérides y sont totalement hydrolysés. Les adipocères semblent se former via un processus prenant place dans des conditions anaérobies, par un grand nombre de bactéries diverses intervenant à l'intérieur et à la surface des corps en décomposition. Durant ce processus, la graisse subissant un

changement chimique, est transformée en un mélange complexe d'acides gras saturés (Den Dooren De Jong, 1961).

Généralisation. Il a depuis été généralisé que chaque corps gras d'origine animale ou végétale quand il est enterré dans un sol, dans une tourbière ou immergé dans l'eau, subit des modifications chimiques et se transforme en adipocère (Morgan et al., 1984). La formation d'adipocère a ainsi été observée à partir de graisses animales et de produits laitiers enfouis dans des tourbières (Evershed et al., 1992; Morgan et al., 1973), ainsi qu'à l'intérieur de fragments de poteries contenant des huiles végétales (Kimpe et al., 2001). Une simulation consistant à réaliser une incubation à 25°C pendant deux mois, sur un milieu anaérobie contenant de l'huile d'olive et de l'eau (qui est indispensable pour l'activité bactérienne sur l'huile d'olive), a conduit à la formation d'une croûte essentiellement constituée d'acide palmitique (Den Dooren De Jong, 1961). Cette expérimentation a confirmé la formation d'adipocères à partir d'huiles végétales. La dégradation microbienne a également été constatée lors de simulations de dégradations de corps gras tels que le lait (composé de TAG de 26 à 54 atomes de carbone, contenant des acides gras de 4 à 20 atomes de carbone), et l'huile d'olive (composée de TAG de 50, 52 et 54 atomes de carbone, contenant essentiellement l'acide oléique), absorbés dans des céramiques. Il a été constaté d'une part que l'activité bactérienne est plus lente que l'hydrolyse des triglycérides, et d'autre part que des acides gras linéaires (majoritairement le terme C<sub>14</sub>) et ramifiés du type iso et anteiso en C<sub>15</sub> et C<sub>17</sub> sont formés. Ces acides gras peuvent donc indiquer une activité microbienne. Cependant, ils sont également présents dans les graisses animales de ruminants, ce qui rend l'interprétation de leur présence délicate.

*Formation & Stabilisation.* Les acides gras caractéristiques des adipocères sont les acides palmitique et stéarique avec une fonction alcool en position 10 et ceux avec une fonction cétone en position 10 (Figure 1.21). Ces acides, stabilisateurs de l'adipocère formé, résultent de la biosynthèse d'enzymes d'origine microbienne (Takatori, 1996; 2001). La formation d'adipocère s'accompagne d'une réaction connue sous le nom de  $\beta$ -oxydation.



Formation d'un adipocère

Figure 1.21 : Mécanisme de formation des acides gras présents dans les adipocères.

#### I.2.2.iv) La $\beta$ -oxydation

*Définition.* Il s'agit d'un processus d'oxydation qui concerne tous les acides gras. Ce processus a été décrit lors de l'autoxydation d'huiles (Passi *et al.*, 1993) et lors de la formation d'adipocères (Den Dooren De Jong, 1961). Il consiste à transformer des acides gras insaturés en acides gras saturés avec deux atomes de carbone de moins. On peut citer comme exemple la transformation de l'acide oléique en acide palmitique.

Il s'agit du processus le mieux connu dans le métabolisme des acides gras. Il peut avoir lieu dans des conditions aérobies mais également dans un milieu anaérobie via une activité microbienne (Evershed, 1992).

*Mécanisme*. Ce processus biochimique se déroule lors d'un cycle en quatre étapes, qui nécessite l'activation de l'acide gras sous la forme d'acétyl-coenzyme A. La coenzyme A favorise l'activité enzymatique, permettant le transfert de groupements acyles. Elle intervient dans de très nombreuses voies du métabolisme. Ainsi, la forme acétyl-coenzyme A, est la forme activée de l'acide acétique, via la formation d'un thioester entre l'acide acétique et la coenzyme A. Les acides sont dégradés et perdent deux atomes de carbone, ce qui engendre

une molécule d'acétyl-coenzyme A (Figure 1.22). En raison de la configuration et de la position de la double liaison dans le cas des acides gras insaturés, des étapes supplémentaires faisant intervenir des enzymes comme l'isomérase sont nécessaires (Figure 1.23) (Lehninger, 1975).



Figure 1.22 : Mécanisme de la β-oxydation des acides gras (Lehninger, 1975) ; FAD : flavine adénosine dinucléotide, NAD : nicotinamide adénine dinucléotide.



Figure 1.23 : Etapes supplémentaires pour la β-oxydation de l'acide oléique.

#### I.2.3) Dégradation des stérols

Comme les autres lipides insaturés, les phytostérols et le cholestérol sont soumis aux phénomènes d'oxydation lors de leur exposition à l'air. Ils sont également sensibles à l'activité microbienne.

#### I.2.3.i) Dégradation par autoxydation

Les réactions d'oxydation peuvent avoir lieu au niveau de la fonction alcool, ou plus couramment au niveau de leur insaturation. La position allylique en C-7 est très réactive vis-àvis des espèces radicalaires. Comme pour l'oxydation des lipides insaturés, il s'agit de phénomènes radicalaires complexes débutant par la formation d'hydroperoxydes qui se décomposent ensuite en divers composés portant essentiellement des groupements fonctionnels hydroxy et oxo (Figure 1.24). Ainsi, pour le cholestérol, on obtient la cholesta-3,5-dièn-7-one et pour le sitostérol, la stigmasta-3,5-dièn-7-one (Figure 1.25). La complexité de ces réactions d'oxydation a conduit dans le cas du cholestérol, à l'identification de plus de 80 produits d'oxydation (Lampi *et al.*, 2002). De nombreux paramètres accélèrent le processus d'oxydation comme le chauffage, la lumière ou la présence de catalyseurs chimiques.



Figure 1.24 : Principaux produits d'oxydation des  $\Delta^5$  stérols (Rontani and Volkman, 2005).



Figure 1.25 : Produits d'oxydation obtenus par autoxydation des principaux stérols.

#### I.2.3.ii) Dégradation par activité microbienne

Ce type de dégradation a surtout été décrit lors de l'étude de sédiments (Rontani and Volkman, 2005), et lors des transformations post-mortem du cholestérol sur des corps (Evershed and Connolly, 1994). Il s'agit essentiellement d'une réduction microbienne des stérols en  $5\alpha$ -stanols, qui peut aussi bien avoir lieu en milieu aérobie qu'en milieu anaérobie (Figure 1.26).



Figure 1.26 : Transformation des stérols en stanols sous l'action de micro-organismes.

# I.3) Les paramètres qui permettent de faire la distinction entre une graisse et une huile

Lors de l'analyse de corps gras frais, il est relativement facile de faire la distinction entre une origine animale et végétale. Cependant, lorsqu'il s'agit de résidus organiques retrouvés dans un contexte archéologique, cette distinction est plus délicate.

#### I.3.1) Les huiles et les graisses fraîches

De nombreux paramètres permettent de différencier les graisses, les huiles et les produits laitiers (liste non exhaustive) :

- *L'aspect*. Dans une huile, les acides gras sont essentiellement insaturés et polyinsaturés, ce qui n'est pas le cas dans les graisses et les produits laitiers. Ceci se traduit par un aspect différent : une huile est généralement liquide tandis qu'une graisse est solide.

- *Les rapports*. Le rapport acide palmitique/acide stéarique est souvent utilisé. En effet, pour une huile fraîche ce rapport est de 2/1, alors que pour une graisse animale, il est proche de 1/1, à l'exception de l'huile de pavot, où il est de 4/1 (Serpico and White, 2000).

- *Les stérols*. La présence de stérols spécifiques, tels que des phytostérols, spécifiques du règne végétal, ou celle du cholestérol spécifique du règne animal, peuvent jouer un rôle déterminant.

- Les produits laitiers sont caractérisés par des acides saturés à chaînes courtes (de 4 à 10 atomes de carbone) (Serpico and White, 2000).

- Certaines huiles sont caractérisées par des biomarqueurs spécifiques, permettant ainsi de les différencier. On peut citer par exemple l'acide ricinoléique dans l'huile de ricin.

#### I.3.2) Les huiles et les graisses dégradées, retrouvées en contexte archéologique

Les corps gras présents à l'intérieur de poteries retrouvées dans un contexte archéologique ont été soumis à différents types de dégradation, à la fois induites par l'homme lors de la préparation du produit (chauffage, mélange avec d'autres substances, etc.), et faisant suite à l'enfouissement, dont les conditions (milieu humide ou sec, présence d'air ou non) jouent un rôle important (hydrolyse, oxydation). Toutes ces données ne sont pas connues de l'expérimentateur au moment de l'analyse, ce qui rend l'identification de ces corps gras délicate. De plus, les paramètres permettant une distinction aisée entre les graisses et les huiles fraîches ne sont plus valables en contexte archéologique.

- *L'aspect*. Les huiles végétales étant riches en acides gras insaturés, elles s'oxydent rapidement et facilement. La disparition de composés insaturés au profit de composés saturés entraîne une modification de l'aspect de ces matériaux. Ainsi, les huiles végétales siccatives ou très oxydées peuvent devenir plus visqueuses, voire élastiques (Serpico and White, 2000). De manière générale, quelle que soit l'origine des corps gras retrouvés en contexte archéologique, ceux-ci sont solides, cireux et de couleur jaune/orange.

- *Les rapports*. Les analyses de corps gras archéologiques (*cf.* Chapitre 2) ont montré que les acides gras majoritaires qui les composent sont les acides palmitique et stéarique. Au début de l'archéologie moléculaire, le rapport acide palmitique/acide stéarique était utilisé pour déterminer l'origine biologique de ces corps gras. A l'heure actuelle, ce rapport n'est plus utilisé, car il a été constaté qu'au cours de la dégradation des substances grasses, ce rapport varie. L'une des raisons de cette variation est la  $\beta$ -oxydation, au cours de laquelle, l'acide oléique est transformé en acide palmitique. De plus, en présence de mélanges de corps gras, ces acides peuvent alors avoir plusieurs origines, dont ce rapport ne tient pas compte.

- *Les stérols*. Ces composés présents en très faibles quantités dans les graisses et huiles fraîches ne sont que rarement détectés dans les corps gras archéologiques car ils sont le plus souvent présents à l'état de trace et très dégradés. Par ailleurs, la présence du cholestérol est à interpréter avec précaution car elle peut indiquer une origine animale, mais également provenir d'une contamination au cours de la manipulation de l'échantillon par l'homme. De la même manière, les phytostérols peuvent provenir d'une contamination par du matériel plus récent.

- Les produits laitiers se distinguent des graisses animales par la présence d'acides gras à chaînes courtes. Cependant, comme nous l'avons précédemment mentionné, ces composés sont extrêmement sensibles au phénomène d'hydrolyse et ne sont jamais (ou très rarement) retrouvés en contexte archéologique. La perte de ces acides gras ne permet donc plus de faire la distinction entre un produit laitier et une graisse animale.

Malgré toutes ces difficultés, l'amélioration des outils analytiques, ainsi qu'une meilleure connaissance des corps gras ont permis de déterminer de nouveaux biomarqueurs permettant de préciser une origine biologique. En effet, lorsque les conditions le permettent, les triglycérides (TAG) sont conservés, accompagnés ou non de produits d'hydrolyse comme les diglycérides (DAG) et/ou les monoglycérides (MAG). Ces composés témoignent de la présence initiale d'une graisse ou d'une huile. L'analyse des TAG par HPLC-APCI-MS permet d'en déterminer la structure moléculaire et d'éventuellement en préciser l'origine biologique. Cependant, les TAG ne subsistent pas toujours. Dans ce cas, l'analyse de la distribution des acides gras libres, des stérols et des produits d'oxydation des acides gras insaturés (diacides, hydroxy- et dihydroxyacides) par GC-MS (*cf.* Chapitre 2), ainsi que l'étude des données isotopiques du  $\delta^{13}$ C sur les acides gras par GC-C-IRMS permettent d'obtenir plus d'informations sur l'origine biologique du corps gras en question. Ces différentes techniques seront détaillées dans le chapitre 3.

#### Exemple d'un corps gras vieilli (Tchapla, 1998)

L'analyse d'une coulure d'huile de lin qui a été exposée durant une vingtaine d'années à la lumière et à l'oxygène a été réalisée. De nombreuses modifications chimiques ont été constatées :

- La diminution de l'intensité des pics correspondant aux acides gras insaturés par rapport à ceux correspondant aux acides gras saturés.

- Les acides gras insaturés tels que les acides linolénique et linoléique ont tendance à disparaître pour former des diacides dont la distribution s'étend du terme en  $C_7$  au terme en  $C_{10}$ , l'acide azélaïque (terme en  $C_9$ ) étant majoritaire.

- La formation sous les formes *thréo* et *erythro* de l'acide 9,10dihydroxyoctadécanoïque à partir de l'acide oléique.

- L'augmentation significative du rapport acide palmitique/acide stéarique par rapport aux corps gras frais.

De manière générale, la dégradation des corps gras a essentiellement été étudiée dans l'intérêt du domaine de l'agro-alimentaire. Ainsi, au moment de l'analyse, on connait la nature du corps gras et les transformations qu'il a pu subir. Il est important de noter que la nature des corps gras archéologiques ainsi que leur mode de préparation sont inconnus. De plus, les conditions d'enfouissement ainsi que la durée (parfois plusieurs milliers d'années) sont autant de facteurs responsables du peu de recul dont disposent les scientifiques sur ces archéomatériaux, rendant ainsi leur analyse extrêmement complexe. La bibliographie sur les corps gras archéologiques sera spécifiquement détaillée dans les chapitres suivants (*cf.* Chapitres 2 & 3), selon les différentes méthodes analytiques utilisées.

#### **II)** Les cires : definition, biosynthese et degradation

#### II.1) Définition, fonction et biosynthèse

#### II.1.1) Définition générale

Les cires sont constituées d'un mélange moléculaire complexe et sont insolubles dans l'eau. Elles sont solides à température ambiante et sont caractérisées par un point de fusion qui peut varier de 40 à 100°C. Elles sont essentiellement composées de cérides ou esters lourds (on parle en anglais de *wax esters*). Les cérides désignent les esters formés entre des acides gras à longue chaîne carbonée ( $C_{14:0}$  à  $C_{36:0}$ ) et des alcools aliphatiques portant également une longue chaîne carbonée ( $C_{16}$  à  $C_{30}$ ). Les autres composants des cires sont des *n*-alcanes, des acides gras, des *n*-alcools et des stérols. Grâce à leur hydrophobicité, les cires assurent une fonction de protection pour certains organismes contre l'environnement extérieur, via la formation d'un revêtement au niveau de cette interface.

#### II.1.2) Les cires végétales : cires épicuticulaires

Définition & composition. Les cires végétales appelées cires épicuticulaires ou cuticulaires sont présentes à la surface des organes aériens des végétaux supérieurs (fleurs, feuilles, tiges, fruits, etc.). On les retrouve également dans les huiles végétales issues des graines telles que les huiles de tournesol, de soja, ainsi que les huiles obtenues à partir de fruits comme l'huile de pépin de raisin ou d'olive (Hénon *et al.*, 2001). La présence de ces cires dans l'huile est liée au mode d'extraction de cette dernière. Il est également important de noter que l'huile de jojoba correspond en fait à la cire contenue à l'intérieur de la graine de jojoba et qu'elle est principalement constituée d'esters lourds (El-Mallah and El-Shami, 2009).

Les cires sont donc présentes en faible quantité. En effet, pour 50 grammes de feuilles (*Festuca arundinacea*) extraits avec du chloroforme pendant 1 minute, seuls 183 mg de cire ont été récupérés soit 0,4% (Tava *et al.*, 1996).

La fonction principale des cires est d'assurer une protection pour l'organisme contre les pertes hydriques. Pour assurer cette fonction, elles sont constituées d'un mélange moléculaire complexe contenant majoritairement des esters lourds, des alcanes linéaires, des acides gras libres à chaîne longue et des alcools aliphatiques à chaîne longue (Tableau 1.2). Cependant, de nombreuses autres molécules peuvent être présentes : des aldéhydes, des cétones, des alcanes ramifiés ou encore des terpènes et notamment des triterpènes tels que les amyrines (Kolattukudy, 1969).

Il a également été constaté que la composition chimique des cires épicuticulaires dépend de nombreux facteurs comme les espèces végétales, les organes de la plante, l'âge, la saison et l'environnement local (Langenheim, 2003).

Les esters lourds présents dans les huiles végétales ont particulièrement été décrits, toujours dans le domaine de l'agro-alimentaire. Ainsi, pour l'huile obtenue à partir des pépins de raisin, la distribution des esters s'étend du terme en  $C_{36}$  au terme en  $C_{42}$ . Il s'agit essentiellement d'esters de l'acide palmitique, à l'exception des termes en  $C_{46}$  et  $C_{48}$  dont la

partie acide est généralement constituée d'un acide en  $C_{20}$  (acide eicosanoique). En revanche, dans l'huile d'olive, la distribution s'étend du terme en  $C_{38}$  au terme en  $C_{42}$ , avec pour les termes en  $C_{38}$  et  $C_{40}$ , une partie acide en  $C_{16}$  et pour les termes en  $C_{42}$ , une partie acide en  $C_{18}$ . Dans l'huile de tournesol, la distribution des esters s'étend du terme en  $C_{38}$  à celui en  $C_{54}$ , avec pour les termes en  $C_{44}$ ,  $C_{46}$  et  $C_{48}$ , une partie acide en  $C_{20}$  et  $C_{22}$  (Hénon *et al.*, 2001).

*Biosynthèse*. Les cires épicuticulaires sont biosynthétisées par les cellules épidermiques, présentes à la surface des feuilles (Figure 1.27). Elles quittent ces cellules au niveau des pores sous la forme de gouttelettes pour rejoindre la cuticule (Langenheim, 2003). Elles traversent ensuite la fine et fragile couche de cutine (biopolymère essentiellement composé d'hydroxyacides à 16 et 18 atomes de carbone), peut-être sous la forme d'une pâte (Kolattukudy, 1970), pour enfin atteindre la surface extérieure des feuilles, leur donnant parfois un aspect blanchâtre.



Figure 1.27 : (a) coupe transversale d'une feuille ; (b) représentation schématique de la structure correspondant à la cuticule de la feuille (Kolattukudy, 1969).

*Diversité des cires épicuticulaires & composition chimique.* Concernant les composants majoritaires des cires épicuticulaires, on constate des distributions relativement similaires d'une espèce à l'autre. La diversité se situe essentiellement au niveau des molécules minoritairement présentes (Tableau 1.2).

Type de composé	Structure générale	Distribution & parité	Termes majoritaires	Sources végétales	
Les composés					
majoritaires					
<i>n</i> -alcanes	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub> /impair	C <sub>29</sub> et C <sub>31</sub>	Présents dans la majorité des	
esters lourds	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> COO(CH <sub>2</sub> ) <sub>m</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>30</sub> -C <sub>60</sub> /pair	$C_{44}, C_{46}, C_{48} et C_{50}$	végétaux supérieurs	
<i>n</i> -acides	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> COOH	C <sub>12</sub> -C <sub>36</sub> /pair	$C_{24}, C_{26} et C_{28}$		
<i>n</i> -alcools	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CH <sub>2</sub> OH	C <sub>12</sub> -C <sub>36</sub> /pair	C <sub>26</sub> et C <sub>28</sub>		
Les composés					
minoritaires					
<i>iso</i> -alcanes	CH <sub>3</sub> CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	C <sub>27</sub> , C <sub>29</sub> , C <sub>31</sub> et C <sub>33</sub>	fleurs de lavande & feuilles de peuplier	
anteiso-alcanes	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CH <sub>3</sub>	$C_{24}$ - $C_{36}$	$C_{28}, C_{30} et C_{32}$	feuilles de tabac	
alcanes avec une ramification interne	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CH(CH <sub>3</sub> )(CH <sub>2</sub> ) <sub>m</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>14</sub> -C <sub>34</sub>		pétales de rose & canne à sucre	
cétones	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CO(CH <sub>2</sub> ) <sub>m</sub> CH <sub>3</sub>	C <sub>24</sub> -C <sub>33</sub>	C <sub>29</sub> et C <sub>31</sub>	chou, rose	
aldéhydes	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> CHO	C <sub>14</sub> -C <sub>34</sub>	$C_{26}, C_{28} et C_{30}$	raisin, pomme, pois & canne à sucre	
$\omega$ -hydroxyacides	CH <sub>2</sub> (OH)CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> COOH	C <sub>10</sub> -C <sub>34</sub>	C <sub>24</sub> , C <sub>26</sub> et C <sub>28</sub>	carnauba & pomme	

Tableau 1.2 : Composition chimique et diversité des cires épicuticulaires (Kolattukudy, 1970).

#### II.1.3) Les cires animales & la cire d'abeille

*Définition.* Il existe de nombreuses cires d'origine animale. Dans le règne animal, elles sont présentes au niveau de la peau, de la fourrure, des plumes et sur l'exosquelette de nombreux insectes. La plupart de ces derniers sont protégés des pertes hydriques grâce à la présence d'un léger film de cire au niveau de leur cuticule. Cependant, certains d'entre eux sécrètent des quantités importantes de cires, tels que ceux appartenant aux ordres des Hyménoptères (abeilles) et des Hémiptères (pucerons, cochenilles). Les cires sont sécrétées par des glandes spécifiques qui consistent en une ou plusieurs cellules spécialisées, situées à la surface de l'abdomen. Les fonctions de ces cires sont différentes et dépendent de l'adaptation des insectes à leur environnement. Ainsi, la cire d'abeille a une fonction structurale, elle intervient dans la construction des rayons de la ruche (cellules hexagonales), alors que chez d'autres insectes, la cire a une fonction de protection contre les prédateurs et les conditions climatiques. En effet, les femelles appartenant à l'ordre des Hémiptères ont adopté un style de vie sédimentaire, qui consiste à rester fixées sur les plantes hôtes et se nourrir de leur sève. Elles sont donc recouvertes d'une épaisse couche de cire protectrice relativement dure. De manière générale, la manière dont la cire exsude est très mal connue (Tulloch, 1969).

Des cires provenant d'autres animaux ont également été décrites. On peut citer notamment le spermaceti également appelé blanc de baleine, qui correspond à la substance blanche présente dans les cavités de la tête de certains cétacés comme le cachalot. Il jouerait un rôle dans la flottabilité de l'animal, via un changement de densité lors de sa solidification, facilitant ainsi sa plongée. La lanoline quant à elle est obtenue à partir de la laine de mouton.

Il semblerait que dans l'Egypte Ancienne, la seule cire animale connue et utilisée soit la cire d'abeille (Mills and White, 1994c).

*Composition chimique et diversité*. Les cires animales sont de nature très diverse, mais il s'agit toujours de mélanges moléculaires complexes. Les principaux composés les constituant sont les *n*-alcanes (à chaînes longues et présentant une prédominance impaire), les esters lourds (caractérisés par une prédominance paire), les *n*-acides et *n*-alcools (à chaînes longues et marqués par une prédominance paire) (Tableau 1.3).

	Origino de le eire		Composés	Point de	Dífínan ang			
		<i>n</i> -alcanes	esters lourds	<i>n</i> -acides	<i>n</i> -alcools	minoritaires	fusion	Kelerences
Cires provenant des insectes	Cire d'abeille	<ul> <li>- 23 à 25% de la cire</li> <li>- C<sub>25</sub> à C<sub>35</sub>, avec C<sub>27</sub></li> <li>majoritaire et une forte prédominance impaire</li> <li>- C<sub>31:1</sub> et C<sub>33:1</sub></li> </ul>	- 49 à 53% de la cire - Esters de l'acide palmitique de $C_{40}$ à $C_{52}$ , avec $C_{46}$ majoritaire	<ul> <li>- 2 à 6% de la cire</li> <li>- C<sub>22</sub> à C<sub>34</sub>, avec C<sub>24</sub></li> <li>majoritaire et une prédominance paire</li> </ul>	$C_{24}$ à $C_{34}$ , et une prédominance paire	- Hydroxyesters - Diesters - Hydroxydiesters	62-64°C	(Regert <i>et al.</i> , 2001) (Mills and White, 1994c) (Colombini and Modugno, 2009)
	Sauterelles	- $C_{21}$ à $C_{33}$ avec $C_{29}$ et $C_{27}$ majoritaires et une forte prédominance impaire - Alcanes ramifiés : <u>méthyl-alcanes avec</u> <u>ramification interne</u> ( $C_{28}$ à $C_{38}$ avec une prédominance paire, $C_{32}$ , et $C_{34}$ étant majoritaires) <u>3-méthylalcanes</u> : $C_{28}$ , $C_{30}$ et $C_{32}$ <u>Diméthylalcanes</u> : $C_{35}$ majoritaire	- Mélange complexe et non caractérisé	- C <sub>12</sub> à C <sub>22</sub> - C <sub>18:3</sub> , C <sub>18:2</sub> et C <sub>18:1</sub> majoritaires	- $C_{22}$ à $C_{32}$ , avec $C_{24}$ et $C_{26}$ majoritaires	- Cholestérol & stigmastérol - TAG avec acides gras en $C_{12}$ , $C_{20}$ , $C_{22}$ et $C_{24}$		(Soliday <i>et al.</i> , 1974)
	Cire de shellac	Faible quantité	- $C_{42}$ à $C_{68}$ avec une distribution bimodale centrée sur $C_{44}$ et $C_{64}$		- Termes en C <sub>28</sub> , C <sub>30</sub> , C <sub>32</sub> et C <sub>34</sub>			(Mills and White, 1994c)
	Chinese insect wax Ceroplastes ceriferus <u>Ericerus pela</u>		- 83% de la cire - $C_{48}$ à $C_{60}$ avec $C_{52}$ majoritaire					(Mills and White, 1994c)
Cire animale	Spermaceti		- Esters pairs de $C_{26}$ à $C_{36}$ , avec une partie acide paire de $C_{10}$ à $C_{18}$ , avec $C_{12}$ majoritaire		<ul> <li>C<sub>18</sub>, C<sub>14</sub> et C<sub>16</sub> majoritaires</li> <li>C<sub>16</sub>, C<sub>15</sub> et 17 sont également présents</li> </ul>		44°C	(Mills and White, 1994c) (Colombini and Modugno, 2009)

Tableau 1.3 : Composition chimique des principales cires animales.

#### II.2) Dégradation des cires, en contexte archéologique

De manière générale, les cérides, composants majoritaires des cires, sont soumis aux mêmes processus de dégradation que les triglycérides présents dans les corps gras. Etant donné que les chaînes alkyles sont saturées, ces composés sont peu sensibles à l'altération. Les dégradations des cires épicuticulaires ont peu été étudiées, contrairement à celles des cires d'abeilles qui sont présentes dans de nombreux résidus archéologiques. Cependant, comme leurs compositions chimiques sont très proches, on peut supposer que les processus de dégradations sont similaires.

#### II.2.1) Dégradations dues au vieillissement naturel et à l'environnement

Dans le contexte de l'archéologie moléculaire, la principale dégradation que les cires sont susceptibles de subir est l'hydrolyse. Il a ainsi été constaté que sous l'action d'une hydrolyse enzymatique ou chimique, les esters lourds de cires d'abeilles sont relativement stables et ne sont que partiellement hydrolysés. L'hydrolyse conduit à la coupure de la liaison ester et à la libération d'acide palmitique et d'alcools linéaires pairs de C<sub>26</sub> à C<sub>34</sub> (Regert *et al.*, 2001).

Dans un climat chaud et sec tel que celui rencontré en Egypte où les températures sont comprises entre 30 et 40°C, il a été constaté que le profil des *n*-alcanes pouvait être légèrement modifié, par une perte partielle du matériel (Regert *et al.*, 2001). Cependant, les processus physico-chimiques responsables de cette dégradation ne sont pas connus avec précision : l'hypothèse de la dégradation bactérienne a été proposée (Colinart *et al.*, 1999) sans avoir jamais été confirmée ou réfutée.

#### II.2.2) Dégradation thermique par un chauffage exercé par l'homme

Les cires peuvent également subir des modifications anthropiques comme un chauffage. Afin de constater ces modifications moléculaires, des expériences de simulation sur des cires d'abeille ont été réalisées dans des conditions similaires à celles d'un chauffage qui aurait pu être exercé par l'homme durant l'Antiquité, soit à une température d'environ 100°C. Après quelques heures, il a été mis en évidence que les *n*-alcanes ont totalement disparu, à l'exception du n-C<sub>31</sub> et du n-C<sub>33</sub>, présents initialement en quantités importantes, et qui sont moins volatils car ils ont une masse molaire plus importante (Regert *et al.*, 2001).

Les esters lourds sont quant à eux relativement stables et sont utilisés comme biomarqueurs des cires.

## CHAPITRE 2 : UNE NECROPOLE PARTICULIERE DE DEIR EL-MEDINEH ET SA COLLECTION EXCEPTIONNELLE DE POTERIES : DESCRIPTION ET RESULTATS

### I) UNE NECROPOLE PARTICULIERE ET LE VILLAGE DE DEIR EL-MEDINEH (Pierrat-Bonnefois, 2002)

#### I.1) Localisation et description du village et de la nécropole de Deir el-Médineh

Le village de Deir el-Médineh se situe sur la rive ouest du Nil (Figure 2.1), face à Louxor (anciennement Thèbes). Des fondations de bâtiments officiels remontant au début du XV<sup>ème</sup> siècle av. J.-C. ont été mises à jour dans ce vallon. Cependant, le village de Deir el-Médineh, connu pour avoir été occupé par les artisans et les ouvriers travaillant à la construction et la décoration des tombeaux et temples de la Vallée des Rois, date de l'époque des Ramsès (XIII<sup>ème</sup> et XII<sup>ème</sup> siècles av. J.-C). Il a été abandonné à la fin du Nouvel Empire (1100 av. J.-C.). Ce village est postérieur au cimetière de l'Est d'où proviennent les poteries étudiées.



Figure 2.1 : Localisation de Deir el-Médineh, Egypte.

La nécropole sur laquelle porte cette étude se situe sur le versant Est du vallon de Deir el-Médineh (Figure 2.2). Elle a été fouillée à partir de 1933 par l'égyptologue français Bernard Bruyère qui a consacré une grande partie de sa carrière au site de Deir el-Médineh. D'après les études égyptologiques, ainsi que les analyses du mobilier et des cartouches présents dans les tombes, cette nécropole date essentiellement du règne de Thoutmosis III (vers 1479-1425 av. J.-C.), avec une population s'étendant sur une ou deux générations. Ceci a été confirmé récemment par des datations au <sup>14</sup>C de vanneries retrouvées sur le site (Ramsey *et al.*, 2010). Ces tombes sont considérées comme « intactes » car cette zone a, par la suite, servi de décharge au village (sous le règne d'Horemheb, vers 1340 av. J.-C.), la protégeant ainsi des pilleurs.

Il est également important de noter qu'un autre cimetière a été retrouvé au niveau des étages inférieurs du versant de la montagne thébaine qui flanque le côté Ouest du village. Celui-ci a été occupé par les artisans du village et leurs familles. Cinquante trois tombes décorées (contrairement à celles retrouvées dans le cimetière Est) ont été découvertes, dans lesquelles reposaient les défunts et du mobilier funéraire. Aucune poterie pleine de matière n'a été trouvée dans ce cimetière, contrairement à celui de l'Est.



Figure 2.2 : Vue générale de Deir el-Médineh en direction de l'Est (source IFAO).

#### I.2) Description et particularités de la nécropole de l'Est

Cette nécropole est constituée de vingt-sept tombes. Elle est caractérisée par une superposition des sépultures en fonction de l'âge des occupants. Le niveau inférieur est occupé par des sépultures d'enfants, au niveau moyen se trouvent celles des adolescents, et au niveau supérieur celles des adultes. Un des aspects curieux de cette nécropole est le nombre important de femmes et de vieillards par rapport aux hommes.

Les caveaux ressemblent à des cavernes sommaires qui ont été creusées dans de la marne friable. Il s'agit d'une zone de second choix. Les tombes les plus élaborées sont composées d'un puits vertical qui débouche sur une pièce basse et exiguë d'une hauteur comprise entre 85 et 145 cm, dans laquelle le matériel était entassé.

Ces caveaux étaient principalement remplis d'objets appartenant aux défunts, utilisés pour un usage quotidien et/ou professionnel, et « déménagés » pour leur vie dans l'au-delà. Il s'agit d'une pratique attestée entre la fin de la XVII<sup>ème</sup> et le milieu de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie. En dehors des sarcophages, les objets funéraires habituellement fabriqués pour la sépulture, tels que les papyrus religieux, les vases canopes et les *chaouabtis* sont absents. Par ailleurs, il a été constaté d'une manière générale que dans les nécropoles, la présence d'objets religieux funéraires fabriqués pour la tombe est liée à la catégorie sociale la peuplant. En effet, plus on s'élève dans les catégories sociales et plus il y a d'objets religieux funéraires. Ainsi, l'absence d'objets funéraires dans cette nécropole semble exclure une population appartenant à un niveau élevé de l'échelle sociale.

Les momies présentes à l'intérieur des sarcophages semblent avoir subi des momifications très sommaires (remplissage des corps avec des sacs de sable et mauvaise conservation des corps). Les cercueils sont décorés de peintures, mais sont le plus souvent anonymes et sans titre. Toutefois, on distingue parfois une ancienne inscription qui a été lavée, ce qui pourrait indiquer une réutilisation. L'absence de titre et d'écrit dans ces tombes semble exclure les membres de l'administration pharaonique. Les rares noms mentionnés sont un mélange correspondant à une origine égyptienne et étrangère.

Les objets du « déménagement » sont essentiellement des meubles usuels (chaises, tabourets, coffrets), des linges, des cannes, des jarres ou encore des coupes en faïence et terre cuite remplies de provisions. Ces objets portent des traces d'usage. Des bijoux usuels comme des boucles d'oreilles en or, des colliers de perles de faïence, et des bagues de faïence ornées de cartouches royaux étaient présents sur les momies. Au niveau de la tête des momies, la présence de petits pots (dont des pots à khol), de miroirs et de peignes a été relevée. Il s'agit essentiellement d'objets de valeur modeste à l'exception des pots à khol et des objets en or qui sont des produits de luxe. Cette population semble être de condition moyenne mais en contact avec l'élite égyptienne.

Des instruments de musique ont été retrouvés en nombre (dans 5 des 25 tombes d'adultes), ce qui est relativement inhabituel. La présence de lyres et de luths pourrait indiquer une population d'origine syrienne. Quant à l'unique balance retrouvée, elle aurait pu servir aux transactions commerciales dans cette société sans monnaie, mais également servir à doser des produits en tous genres. Toutefois, c'est le nombre important de pots et de flacons encore pleins qui caractérise cette nécropole. Jusqu'à présent, c'est l'unique cimetière découvert qui présente cette caractéristique, d'où l'intérêt que suscite l'analyse de leurs contenus.

#### I.3) Cimetière Est du village ou Cimetière à l'Est de Deir el-Médineh ?

Traditionnellement, cette nécropole est interprétée comme étant celle des ouvriers et décorateurs des tombeaux royaux du début de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie. Cependant, cela s'accorde mal avec le caractère modeste des sépultures, et le faible nombre d'hommes recensés. L'étude du mobilier découvert par les égyptologues soulève plusieurs questions :

La présence des instruments de musique a généré deux hypothèses :

- S'agit-il d'une société de mélomanes qui en plus de leur travail d'artisans, cultivent leur art ? Cette hypothèse a été rejetée par Bernard Bruyère pour des raisons socioéconomiques (les artisans et les ouvriers n'auraient pas eu le temps de jouer de la musique).

- S'agit-il de musiciens professionnels ?

Les nombreuses poteries contiennent-elles des produits :

- Alimentaires ?
- De toilette ?
- Elaborés dans un cadre artisanal spécialisé ?
- Issus du commerce international ?

L'hypothèse retenue par Geneviève Pierrat-Bonnefois serait qu'il s'agisse d'une population particulière dont les caractéristiques sont les suivantes :

- elle appartiendrait à une classe non lettrée et non titrée.

- elle aurait assuré confort et loisir à la classe supérieure (celle des titrés et des lettrés, appartenant à l'administration officielle royale et religieuse) par ses connaissances
spécialisées dans des domaines recherchés tels que celui des soins et/ou du spectacle (par analogie avec les personnes représentées dans les scènes de banquets, sur les parois des tombes contemporaines).

- elle serait composée d'égyptiens d'ancienne souche ou d'étrangers, peut-être des immigrés du Proche-Orient, nombreux à cette époque à Thèbes.

- elle avait accès à certains produits de luxe : il s'agirait d'une classe bénéficiant d'un contact étroit avec l'élite égyptienne.

### II) LA COLLECTION EXCEPTIONNELLE DE POTERIES : CARACTERISTIQUES ET ETUDES PREEXISTANTES

#### II.1) Description des poteries pleines et typologie d'après Bernard Bruyère

L'ensemble des données suivantes provient d'un rapport de fouilles de Bernard Bruyère (Bruyère and Lucas, 1937).

Plus d'une centaine de poteries et flacons (environ 120) a été comptabilisée dans cette nécropole. Selon Bernard Bruyère, il s'agirait de petits vases d'onguents en céramique, d'une dizaine de centimètres de hauteur (Figure 2.3). A l'heure actuelle, aucune corrélation n'a été faite entre le nombre de poteries, la typologie des pots, et les autres objets trouvés dans ces sépultures.

La plupart des pots sont faits d'une argile fine, et sont le plus souvent de type égyptien. Ils ont une teinte rouge-ocre pour les plus communs, quant aux autres, ils sont plus clairs. Sur certaines poteries, des décors sous forme de traits sont visibles au niveau du col et de la panse. La faible porosité de la terre cuite, ainsi que l'engobe et le lustrage de la paroi externe assurent l'étanchéité de ces vases. Ces poteries sont donc aptes au transport de liquides gras.

Les vases pleins étaient le plus souvent fermés par un bouchon en argile, maintenu par une toile attachée autour du col.

Bernard Bruyère privilégie la piste des onguents (de toilette), sans argument spécifique.



Figure 2.3 : Vases de céramique pour fards et onguents; (A) photographie des poteries de Deir el-Médineh par Geneviève Pierrat-Bonnefois; (B) Représentation de ces types de vases par Bernard Bruyère.

Remarques :

D'autres poteries, présentes en faible quantités, semblent provenir de l'étranger : c'est le cas des « bouteilles cananéennes ». Elles auraient pu être obtenues suite à des échanges commerciaux entre l'Egypte, Chypre et la Syrie. Les archéologues ignorent encore la nature du contenu de ces flacons : s'agit-il de produits couteux que les rives du Nil ne produisent pas, tels que des gommes, des résines, des baumes ou encore des parfums ? Il est également

important de noter que les bouteilles cananéennes pourraient également être des biens personnels d'immigrés syriens, nombreux à cette époque, ou encore avoir été réutilisées.

Toutes les poteries analysées proviennent de cette nécropole, à l'exception de trois. Les poteries de Deir el-Médineh provenant du cimetière Est portent un numéro d'inventaire du type E16XXX. Une soixantaine d'entre elles a été attribuée au Louvre après un partage de fouilles concédé par le gouvernement égyptien en 1939. La poterie nommée SN1 (sans nom 1) portait initialement un numéro du type E16XXX qui n'est plus lisible. La bouteille cananéenne portant le numéro d'inventaire *E10719* ne provient pas du cimetière Est. Son origine est inconnue, mais elle serait contemporaine des échantillons de Deir el-Médineh. Le suintement important de matériel à travers les parois a été échantillonné afin de le comparer aux résultats obtenus pour les pots de Deir el-Médineh. Les échantillons portant le numéro d'inventaire du type E14XXX (deux ont été analysés : *E14602* et *E14593*), proviennent d'un site différent du vallon. Ces poteries, contemporaines à celles du cimetière Est, ont été concédées au Louvre suite à un partage de fouilles en 1935.

#### II.2) Analyses préexistantes

Le rapport de Bernard Bruyère fait mention d'analyses chimiques réalisées par M. Lucas (chimiste pour le compte du département des Antiquités au Caire de 1923 à 1945). Les résultats obtenus auraient révélé cinq sortes de contenus (malheureusement, sans préciser les types de poteries) :

- Matière grasse indéfinie, impure et altérée
- Matière grasse en petite quantité et carbonate de chaux pulvérisé
- Miel ou jus sucré, consistance sirupeuse, couleur brune, senteur nulle, goût sucré
- Cire orangée probablement additionnée de colorant végétal aromatique
- Résine ou gomme transparente et orangée

D'autres analyses avaient également été réalisées, il y a plus de trente ans sur 4 échantillons (prélevés dans les pots conservés au Musée du Louvre et portant les numéros d'inventaire suivants : *E16415*, *E16459*, *E16458* et *E16473*), par le Laboratoire des Musées de France en 1978. Les seuls résultats dont nous disposons proviennent du rapport résultant de ces analyses dont voici le contenu (Laboratoire de Recherche des Musées de France, 1978) :

- *Introduction* : l'étude a été effectuée sur des prélèvements du contenu de chaque vase. Les divers échantillons ont été observés au microscope. Leur comportement visà-vis de la chaleur et de divers solvants a été testé. Diverses analyses par microchimie, spectroscopie d'absorption infra-rouge, chromatographies en couches minces et en phase gazeuse ont également été effectuées.

- *Vase en terre E16415* : le contenu a un aspect ambré, un toucher poisseux et une légère odeur rance. L'analyse indique qu'il s'agit d'une huile végétale qui a séché et qui a été rendue très acide par le rancissement. Sa nature n'a pu être déterminée avec une entière certitude, mais les concentrations relatives des divers acides gras se rapprochent de celles d'une huile de palme.

- *Vase à anses en terre E16459* : le matériau à analyser est très sombre, dur et cassant. Il brûle en laissant une faible quantité de cendres blanches. Il se dissout en totalité dans l'eau chaude. L'analyse indique que le produit est essentiellement constitué par des hydrates de carbone dont les caractéristiques se rapprochent de celles du miel.

- *Vase à anses en terre E16458* : le contenu est une pâte de couleur jaunâtre qui fond aux alentours de 50°C. L'analyse indique qu'il s'agit d'une graisse animale.

- *Bouteille E16473* : le récipient est obturé par un bouchon poisseux dont la nature est probablement différente de celle du contenu du vase. Le matériau du bouchon contient un corps gras mêlé de fibres végétales.

- *Conclusion* : en raison des altérations dues au vieillissement, l'aspect (couleur, consistance) des contenus des vases diffère de celui de produits contemporains de même nature. Les produits identifiés peuvent tous avoir un usage alimentaire mais d'autres utilisations (comme par exemple les onguents dans le cas des produits à base de graisse) sont également possibles.

Ces différents résultats sont succincts et nous ne disposons d'aucun argument de nature chimique pouvant étayer ces conclusions. Les contenus de ces poteries restent donc mal connus. S'agit-il de mélanges ou de substances pures ? Contiennent-elles des cires, des graisses, du miel, des résines ? Servaient-elles de contenant pour des produits alimentaires, des cosmétiques ou des remèdes ?

Leur présence systématique et en nombre dans les sépultures indique leur importance dans la vie de cette population. Mais quel rôle tenaient-elles ?

74

#### II.3) Stockage, échantillonnage et organisation des résultats

#### II.3.1) Conditions de stockage, échantillonnage et observations des échantillons

Les poteries sont majoritairement conservées sans précautions particulières dans les réserves du Musée du Louvre, à l'exception de deux poteries exposées en vitrine dans une galerie. Les pots recouverts ou non par un bouchon n'étaient pas à l'abri de la poussière et des diverses sources de pollution atmosphérique.

Les échantillons (une trentaine) ont été prélevés dans les conditions dites « géochimiques », avec du matériel d'échantillonnage lavé de manière adéquate (*cf.* Partie expérimentale), puis conditionnés dans du papier aluminium ou en pilulier. Ces précautions sont nécessaires pour éviter toute contamination au laboratoire. Les prélèvements ont été effectués avec l'autorisation et sous la surveillance de Geneviève Pierrat-Bonnefois.

D'après Geneviève Pierrat-Bonnefois et les rapports relatifs aux fouilles, notre échantillonnage est représentatif des poteries conservées au Musée du Louvre mais aussi de l'ensemble des céramiques présentes dans le cimetière.

Sur la trentaine d'échantillons prélevés, 23 ont été analysés. Les échantillons présentant des aspects similaires et provenant de poteries de même typologie n'ont pas tous été analysés.

Tous les échantillons ont été observés à l'œil nu et à la loupe binoculaire. Différents aspects et textures sont remarquables et sont mentionnés dans le Tableau 2.1

#### II.3.2) Classification des échantillons et organisation des résultats

La majorité des échantillons était totalement soluble dans le dichlorométhane ou dans un mélange dichlorométhane-méthanol (60:40) (Tableau 2.1). Deux échantillons n'étaient pas solubles dans ces conditions, un extrait organique a alors été effectué (*cf.* Partie expérimentale). Des réactions de méthanolyse ont montré que ces échantillons étaient composés de sucres.

Les résultats obtenus sur l'ensemble des échantillons analysés ont montré qu'il y a deux types d'échantillons. Le premier type correspond à des échantillons de nature lipidique, à base d'un ou plusieurs corps gras (huile végétale et graisse animale). Il s'agit de la quasi-totalité des échantillons (une vingtaine), ce qui semble également indiquer une fonctionnalité particulière. Le second type correspond à trois échantillons contenant des sucres. La typologie particulière des poteries associées à ces échantillons, ainsi que leur faible nombre, semblent indiquer un usage différent de celui des autres échantillons retrouvés dans la nécropole. Nous allons tout d'abord décrire les résultats obtenus pour la famille à base lipidique, puis ceux obtenus pour celle à base de sucres.

Organisation des échantillons	Typologie	Numéro d'inventaire	Observations à l'œil nu & à la loupe binoculaire : aspect et texture	Solubilisation
Echantillons à base de corps gras de type huile végétale et/ou graisse animale (résultats décrits dans la partie III de ce chapitre)	Bouteille cananéenne et flacon	E10719, E14602, E16465	Substance liquide et collante, jaune- orange, aspect globuleux	DCM/MeOH
	Pot (ouvert ou fermé)	E16415, E16419, E16438, E16432	Substance élastique, jaune-orange, aspect globuleux	DCM/MeOH
	Pot fermé	E16427	Substance collante, orange foncé	DCM/MeOH
	Mini-amphore ouverte	E16487	Substance pâteuse, noire	DCM/MeOH
	Pot ouvert	E16443	Substance pâteuse, noire	DCM
	Pot (ouvert ou fermé)	E16439, E16420, E16449, E16421, SN1, E16444, E16446, E16478, E16488, E16458	Substance pâteuse, jaune-orange	DCM
Echantillons particuliers à base de sucres (résultats décrits dans la partie IV de ce chapitre)	Vase cigare	E16489, E14593	Matériel hétérogène, présence de fibres végétales <i>E16489</i> : matériel mou et orange <i>E14593</i> : matériel dur et noir	Extrait organique
	Pot avec anse	E16459	Echantillon dur, cassant et foncé	Soluble dans l'eau et insoluble dans les solvants organiques

Tableau 2.1 : Principales observations relatives à l'aspect des échantillons analysés.

## III) CARACTERISATION DES ECHANTILLONS A BASE DE CORPS GRAS : LES HUILES VEGETALES ET LES GRAISSES ANIMALES

L'analyse par GC-MS de ces échantillons a permis la mise en évidence de corps gras du type huile végétale et graisse animale, présentant différents états de dégradation. Ces corps gras sont détectés grâce à la présence en quantité plus ou moins importante de triglycérides (TAG) et par celle de leurs produits de dégradation (diglycérides, monoglycérides, acides gras « libres », diacides et lactones). En représentant les proportions massiques par rapport au brut (masse d'échantillon engagée), des fractions contenant ces composés de dégradation, en fonction de celle contenant les triglycérides, nous avons pu mettre en évidence les différents états de dégradation qui caractérisent les échantillons (Figure 2.4). On distingue tout d'abord les échantillons très dégradés dans lesquels les triglycérides sont totalement hydrolysés et qui sont essentiellement composés de leurs produits de dégradation (fraction acides + F3 majoritaire). Pour la quasi-totalité de ces échantillons et tout particulièrement E16415, E16419, E16438, E16432, E16487, E16427 et E16443, une perte importante de matériel (de 20 à 30% par rapport à la masse d'échantillon engagée) a été observée au niveau de la colonne chromatographique au moment du fractionnement de l'échantillon, ainsi que sur les parois du ballon contenant la fraction F3. Il peut s'agir de composés très polaires. D'autre part, les échantillons peu dégradés (E16458, E16421, E16449, SN1, E16444, E16446, E16478 et E16488) sont, quant à eux, caractérisés par la présence en quantité importante de triglycérides (plus de 20% par rapport à la masse d'échantillon engagée) qui n'ont pas été totalement hydrolysés. Enfin, dans le cas des échantillons intermédiaires (E16420 et E16439), où la quantité de TAG était plus faible (environ 10%) et celle des produits de dégradation était majoritaire (de l'ordre de 70%), la nature du corps gras a été plus délicate à déterminer.

Il est également important de noter que les autres fractions obtenues après fractionnement, à savoir les fractions des hydrocarbures, des esters (aussi appelée front) et des alcools, représentent moins de 1% de la masse d'échantillon engagée. Les fractions acides, F3 et cétones constituent donc l'essentiel de l'échantillon.

Comme nous le montrerons par la suite, la distinction entre graisse et huile pour des archéomatériaux est très délicate en raison de l'état avancé de dégradation des échantillons et du manque d'informations dans la littérature.



DEGRADATION

Figure 2.4 : Graphique représentant le pourcentage massique de la fraction des acides + F3 (par rapport à la masse de l'échantillon engagée pour le fractionnement), en fonction de la proportion massique de la fraction des triglycérides (ou des cétones).

# III.1) Les corps gras archéologiques identifiés par GC-MS et décrits dans la littérature

#### III.1.1) Introduction

Historiquement, dès 1976, la GC-MS a été utilisée pour identifier la présence de corps gras archéologiques, et tout particulièrement celle d'huile d'olive, à l'intérieur de tessons d'amphores servant à son transport (Condamin *et al.*, 1976). Depuis, de nombreuses études ont été réalisées sur les archéomatériaux, révélant l'utilisation de graisses animales et d'huiles végétales, ainsi que les dégradations qu'elles ont subies. Bien qu'il soit relativement aisé d'identifier la présence d'un corps gras dans un échantillon archéologique, il est beaucoup plus complexe et délicat, voire même impossible, de préciser une origine biologique ou la nature d'un mélange entre plusieurs corps gras (Buckley *et al.*, 1999). Des biomarqueurs ont ainsi été identifiés, permettant de préciser l'origine biologique de ce type de matériaux. Dans ce paragraphe, et afin de compléter le chapitre 1 qui concernait également la dégradation de corps gras mais non en contexte archéologique, nous allons faire un état des lieux concernant l'identification de ces archéomatériaux.

Dans les nombreuses publications concernant les études de corps gras archéologiques, il est important de préciser qu'il s'agit dans la quasi-totalité des cas d'analyse de tessons de poteries (Evershed *et al.*, 1990). Dans ces conditions, la matière organique est moins exposée aux phénomènes de dégradation, ce qui rend l'identification de la nature du corps gras plus aisée. Des corps gras archéologiques visibles à la surface d'objets ou entrant dans la composition de baumes de momies ont également été analysés (Buckley and Evershed, 2001; Colombini *et al.*, 2000). Il est important d'insister sur le fait que dans le cadre des échantillons de Deir el-Médineh, le contexte est entièrement différent, car exceptionnellement, il s'agit de « substances massives », présentes à l'intérieur des poteries.

Les graisses animales sont les plus décrites dans la littérature. Malheureusement, les données concernant les huiles végétales sont bien plus parcimonieuses.

Comme nous l'avons précédemment mentionné, les corps gras frais peuvent facilement être identifiés grâce à des analyses quantitatives et qualitatives de l'ensemble de leurs acides gras. Cependant, en raison des différentes voies de dégradation que les échantillons archéologiques peuvent subir durant leur préparation (chauffage, mélange, etc.), leur vieillissement ou leur enfouissement, leur identification n'est plus aussi aisée. En effet, si les acides gras saturés sont stables, ce n'est pas le cas des acides gras insaturés, très sensibles au chauffage et à l'oxydation. Ainsi, les acides gras insaturés sont rarement retrouvés en contexte archéologique. La stabilité des acides palmitique ( $C_{16:0}$ ) et stéarique ( $C_{18:0}$ ) a conduit les premiers « archéo-chimistes » à utiliser le rapport  $C_{16:0}/C_{18:0}$  et plus rarement le rapport  $C_{16:0}/C_{14:0}$  afin de distinguer une huile d'une graisse. Ces rapports s'avèrent particulièrement efficaces pour certaines graisses et huiles fraîches (Tableau 2.2).

Origine	Valeurs moyennes du rapport	Valeurs limites du	Valeurs moyennes
biologique	$C_{16:0}/C_{18:0}$	rapport C <sub>16:0</sub> /C <sub>18:0</sub>	du rapport C <sub>16:0</sub> /C <sub>14:0</sub>
Homme	2.6	-	6.6
Bœuf	1.2	-	7.8
Cheval	3.3	-	7.4
Mouton	1.1	-	5.6
Porc	1.7	-	16.7
Zébu (Kenya)	0.75	-	7.5
Graisse d'os	1.5	-	11
Canard	2.8	-	29
Oie	2.6	-	31
Poulet	4.3	-	39
Amande	4.2	2.6-6.5	-
Olive :			
Afrique	3.6	3.1-4.3	-
Europe	2.9	1.6-4.5	-
Carthame	2.6	2.5-2.7	-
Coprah	3.3	2.8-3.6	-
Karité	0.07	0.06-0.1	-
Palme	7.7	6.3-11.5	-
Palmiste	3.3	2.1-5.3	-
Sésame	1.7	1.3-2.3	-
Ricin	1.7	1.0-1.9	-
Chanvre	6.0	3-12	-
Lin	2	1.3-2	-
Ben (Moringa)	1.1	1-2.7	-
Balanites :			
B. orbicularis	1.1	-	-
B. aegyptiaca	1.45	-	-

Tableau 2.2 : Rapports C<sub>16:0</sub>/C<sub>18:0</sub> et C<sub>16:0</sub>/C<sub>14:0</sub>, caractéristiques des corps gras frais d'origine animale et végétale (Tchapla *et al.*, 1999).

Une meilleure connaissance des phénomènes de dégradation auxquels les corps gras archéologiques sont soumis a induit la remise en question de la pertinence de ces rapports. Il a notamment été mis en évidence que l'acide oléique ( $C_{18:1}$ ) était transformé en acide palmitique ( $C_{16:0}$ ) suite à des processus biochimiques, ce qui fausse les rapports (Tchapla *et al.*, 1999).

De plus, d'autres paramètres peuvent modifier ce rapport :

- Le mélange de corps gras : plusieurs huiles, une huile avec une graisse, etc.

- Les conditions d'enfouissement : l'acide palmitique est deux fois plus soluble dans l'eau à 20°C que l'acide stéarique, il est alors évident que cet acide sera lessivé plus facilement.

- Les solvants utilisés lors de l'extraction : la solubilité de ces deux acides est différente en fonction des solvants utilisés (dans le chloroforme, l'acide palmitique est 2,5 fois plus soluble que l'acide stéarique, alors que dans le méthanol il est 37 fois plus soluble, à 20°C) (Steele *et al.*, 2010).

Aujourd'hui, ces rapports sont très controversés et ne sont que rarement utilisés pour définir l'origine d'un corps gras retrouvé en contexte archéologique. Nous avons donc choisi de ne pas les utiliser.

Bien qu'il existe des catégories de biomarqueurs présents dans les corps gras frais, tels que des acides gras insaturés dans les huiles végétales, des acides gras à chaînes courtes dans les produits laitiers, ou encore le cholestérol dans les graisses animales et des phytostérols dans les huiles végétales, ceux-ci peuvent disparaitre en contexte archéologique, et ne peuvent plus être utilisés. Ainsi, dans ce contexte bien particulier, les huiles végétales, les graisses animales et les produits laitiers sont caractérisés par des profils d'acides gras identiques et dominés par la présence des acides palmitique et stéarique (Steele *et al.*, 2010). Des biomarqueurs de dégradation ont alors été définis tels que les diacides, les hydroxyacides et les dihydroxyacides, formés suite à la dégradation des acides gras insaturés (Tchapla *et al.*, 1999).

# III.1.2)Triglycérides et produits d'hydrolyse : diglycérides, monoglycérides<br/>et acides gras

Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre 1, les triglycérides retrouvés en contexte archéologique ont subi des hydrolyses (enzymatiques et chimiques). Comme les composés insaturés caractéristiques des huiles végétales sont très sensibles aux phénomènes d'oxydation, ils sont rarement présents dans les matériaux archéologiques. Les graisses et huiles très dégradées ont des profils similaires, où souvent seuls les acides gras libres sont présents (hydrolyse complète des TAG). Ces acides gras sont majoritairement l'acide

palmitique et l'acide stéarique. Ainsi, de manière générale, les TAG, DAG, MAG et acides gras présents dans les résidus archéologiques sont composés des acides palmitique et stéarique.

De nombreuses publications traitant des TAG et des acides gras présents dans les corps gras archéologiques sont parues ces 20 dernières années. Malgré des distributions souvent ressemblantes et l'absence d'acides gras diagnostiques (Evershed, 2008), il est parfois possible, grâce à la distribution des acides gras, de préciser une origine biologique.

*Identification des graisses animales.* Des graisses animales ont été trouvées dans de très nombreux échantillons archéologiques (tessons de poteries, à la surface d'objets, baumes de momies) (Charters *et al.*, 1993). La présence d'acides gras ramifiés (en  $C_{15}$ ,  $C_{17}$  et  $C_{19}$ ) en quantités relativement importantes permet d'exclure une origine végétale (Evershed *et al.*, 1999).

Des différences au niveau de la distribution des acides gras permettent de faire la distinction entre une graisse de ruminant et une graisse de non-ruminant (ou de monogastrique tel que le porc). La graisse de ruminant est constituée d'un mélange complexe d'isomères de position *trans* de l'acide en  $C_{18:1}$  (double liaison en position 9, 11, 13, 14, 15, et 16). Dans la graisse de non-ruminant au contraire, seul l'acide Z-9-octadécénoïque (acide oléique) est détecté (Evershed *et al.*, 1997a). Par ailleurs, la présence des acides gras impairs en  $C_{15}$  et  $C_{17}$  ramifiés (*iso* et *anteiso*) est souvent indicatrice d'une graisse de ruminant car ces composés sont issus des bactéries présentes dans l'intestin des ruminants (Regert, 2011). Cependant, ces composés peuvent également provenir d'une contamination microbienne de l'échantillon et leur présence doit donc être interprétée avec précaution (Mottram *et al.*, 1999).

*Le cas particulier des produits laitiers.* Les acides gras à chaînes courtes caractéristiques des produits laitiers frais ne sont plus présents dans les corps gras archéologiques, même s'ils sont adsorbés dans la matrice des poteries. Sur la base des informations fournies par la GC-MS, il n'est plus possible de faire la différence entre les profils d'acides gras de graisse animale provenant de tissus adipeux et ceux provenant des produits laitiers (Copley *et al.*, 2003; Dudd and Evershed, 1998; Evershed *et al.*, 1999; Evershed *et al.*, 2002). Seules les analyses des TAG (adsorbés dans les tessons) par LC-MS et les données isotopiques sur les acides palmitique et stéarique par GC-C-IRMS permettent de faire cette distinction (Copley *et al.*, 2005a; Copley *et al.*, 2005b; Copley *et al.*, 2005c).

## III.1.3) Biomarqueurs des huiles végétales : diacides, hydroxyacides et dihydroxyacides

Dans certains cas, surtout lors de l'analyse des acides gras provenant de tessons de poteries, les acides gras insaturés caractéristiques des huiles végétales tels que les acides oléique ( $C_{18:1}$ ), linoléique ( $C_{18:2}$ ) et linolénique ( $C_{18:3}$ ), peuvent être détectés à l'état de trace, car ils sont à l'abri de l'activité bactérienne (Kimpe *et al.*, 2004). La présence d'acide palmitique en plus grande quantité par rapport à l'acide stéarique est indicateur d'huile végétale (Copley *et al.*, 2005d).

Les profils des huiles végétales dégradées sont caractérisés par la présence de diacides, de mono- et dihydroxyacides provenant de la dégradation des acides gras insaturés, et surtout de l'acide oléique présent initialement dans l'échantillon (Colombini *et al.*, 2005b; Steele *et al.*, 2010; Tchapla *et al.*, 1999). Concernant les diacides, la distribution est caractérisée par des termes à chaînes courtes (de 5 à 12 atomes de carbone), centrée sur l'acide azélaïque (terme à 9 atomes de carbone). Pour les dihydroxyacides et les hydroxyacides, les termes présents sont composés de 18 atomes de carbone et les groupements fonctionnels hydroxy sont en position 9 et/ou 10 (Ribechini *et al.*, 2008a).

Une quantité importante de diacides indique plutôt une huile siccative et semi-siccative, alors qu'une faible quantité de ceux-ci correspond à une huile non-siccative ou à une graisse animale (Newman, 1998).

Dans plusieurs cas particuliers, les distributions sont assez diagnostiques, permettant une identification précise de l'huile végétale présente :

- L'huile provenant du palmier dattier présente un profil des acides gras caractérisé par une quantité très importante des termes de n-C<sub>12</sub> et n-C<sub>14</sub> (Copley *et al.*, 2001a).

- L'huile de ricin se distingue par la présence de biomarqueurs spécifiques : l'acide ricinoléique et son produit de dégradation, l'acide 9,12-dihydroxyoctadécanoïque (Copley *et al.*, 2005d).

- Les huiles de la famille des *Brassicacées* contiennent les composés caractéristiques suivants : l'acide 11,12-dihydroxyeicosanoïque, l'acide 13,14-dihydroxydocosanoïque, l'acide 15,16-dihydroxytétracosanoïque, l'acide 11-eicosénoïque,

84

l'acide 13-docosénoïque, et l'acide 15-tétracosénoïque (Copley *et al.*, 2005d; Romanus *et al.*, 2008).

#### III.1.4) Les stérols

L'identification des composés minoritaires tels que les stérols pourrait jouer un rôle décisif dans la détermination de l'origine biologique des corps gras archéologiques. En effet, les corps gras d'origine animale sont caractérisés par la présence du cholestérol qui est minoritaire ou inexistant chez les végétaux. Ces derniers sont quant à eux caractérisés par la présence de phytostérols qui peuvent être spécifiques d'un corps gras donné. Mais leur présence à l'état de trace ne permet pas toujours leur détection et leur identification (Tchapla *et al.*, 1999). De plus, ils sont très sensibles aux phénomènes d'oxydation (Serpico and White, 2000) et donc rarement présents dans les échantillons archéologiques. Ceci a été confirmé par une simulation de dégradation (chauffage au four à 120°C pendant 3 semaines) d'une huile végétale de la famille des *Brassicacées*, qui a montré que les phytostérols (brassicastérol, campestérol, et sitostérol) disparaissent, et que l'acide oléique diminue fortement (Colombini *et al.*, 2005b).

Dans le cas des corps gras archéologiques d'origine végétale, c'est le sitostérol et le campestérol (méthyl-cholestérol) qui sont le plus souvent détectés (Kimpe *et al.*, 2001; Kimpe *et al.*, 2004; Regert *et al.*, 2003). Leurs formes autooxydées, à savoir la stigmasta-3,5-dièn-7-one et la méthyl-cholesta-3,5-dièn-7-one peuvent également être rencontrées (Baeten *et al.*, 2010).

Dans les corps gras archéologiques d'origine animale, le cholestérol et ses produits d'oxydation (7- hydroxy-cholestérol, 7-céto-cholestérol, cholesta-3,5-dièn-7-one) peuvent être détectés (Newman, 1998; Ribechini *et al.*, 2009a).

#### III.2) Identification des échantillons contenant une huile végétale

#### III.2.1) Description des échantillons archéologiques

Cette première série est composée d'échantillons prélevés dans les poteries portant les numéros E10719, E14602, E16465, E16415, E16419, E16438, E16432, E16487, E16443 et E16427. Les trois dernières, étant particulières, seront décrites plus longuement à la fin de ce chapitre. Ces poteries présentent des typologies très différentes : il s'agit de bouteilles cananéennes, de flacons à petit col (contenants adaptés au transport de liquide), mais aussi de pots (Figure 2.5).





E14602



E16465



E16419







Figure 2.5 : Photographies de poteries contenant une huile végétale, ainsi que de la substance présente dans les poteries E16432 et E16415 (© G. Pierrat-Bonnefois, Louvre).

Les échantillons sont très élastiques, collants et de coloration jaune-orangée. Ils sont solubles dans un mélange DCM/MeOH (60:40) et sont caractérisés par une fraction F3 très importante (plus de 50% de l'échantillon engagé dans le fractionnement), ainsi que par l'absence des TAG, DAG et MAG. Ils correspondent aux échantillons très dégradés représentés dans la Figure 2.4.

#### III.2.2) Les biomarqueurs moléculaires

L'analyse moléculaire de ces échantillons a révélé la présence de biomarqueurs spécifiques d'huiles végétales et tout particulièrement de celles appartenant aux familles des huiles siccatives et semi-siccatives (cf. Chapitre 1). En effet, les profils obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons bruts sont typiques des huiles végétales très dégradées et ont révélé l'absence de sucres. Cet état de dégradation avancé se traduit par une hydrolyse complète des triglycérides (présence du glycérol et des acides gras libres) et par l'absence d'acides gras insaturés (à l'exception du C<sub>18:1</sub> dans l'échantillon E16415). Les profils moléculaires sont dominés par des distributions de diacides linéaires parmi lesquels l'acide azélaïque ( $C_9$ ) est majoritaire, et par la présence des deux acides 9,10dihydroxyoctadécanoïques (formes thréo et erythro) (Figure 2.6). Ces composés sont des biomarqueurs de dégradation de l'acide oléique. L'identification des dihydroxyacides a été particulièrement complexe en raison de leurs spectres de masse atypiques. Les détails seront présentés dans l'annexe 1. La présence du sitostérol dans certains échantillons (E14602, E16465 et E16432) confirme cette origine végétale. Malheureusement, comme les phytostérols sont présents à l'état de trace dans les huiles fraîches et qu'ils sont extrêmement sensibles aux phénomènes de dégradation que subissent les échantillons archéologiques, ils sont rarement détectés et il n'est pas surprenant qu'ils n'aient pas été rencontrés dans tous les échantillons de Deir el-Médineh.

En plus de ces composés, des ( $\gamma$ - et  $\delta$ -) lactones, indicatrices d'un corps gras dégradé (d'origine animale ou végétale) ont été détectées. Elles présentent des distributions similaires à celles des acides gras, où les termes en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> sont majoritaires (Figure 2.7). Les lactones n'ont jamais été décrites dans les échantillons archéologiques, sans doute en raison des protocoles expérimentaux utilisés. Le fractionnement par classes de polarité, utilisé dans cette étude, permet de détecter la présence de molécules en très faible quantité, ce qui n'est pas le cas lorsqu'on travaille sur la totalité de l'échantillon sans fractionnement préalable. Les profils obtenus ne sont pas les mêmes pour tous les échantillons : les  $\delta$ -lactones ne sont pas toujours présentes, contrairement aux  $\gamma$ -lactones, toujours majoritaires. Malheureusement, les quelques informations présentes dans la littérature ne nous permettent pas d'expliquer les raisons d'une telle distribution. Ces différences sont-elles liées au mode de préparation de l'échantillon (chauffage) ou aux conditions de stockage ?

Nous avons également constaté la présence de carboxylactones dont la distribution ressemble à celle des diacides, ainsi que celle de 4-oxo-diacides. Ces composés n'ont jamais été décrits dans des résidus archéologiques. Comme les lactones, les carboxylactones proviendraient de la dégradation d'hydroxyacides présentant une insaturation (double liaison C-C) qui, par autoxydation, formerait une fonction acide carboxylique (de la même manière que dans le cas de la formation des diacides à partir des acides gras insaturés). L'origine et la formation des oxo-diacides n'ont pas pu être déterminées.

D'autres composés ont été identifiés dans ces échantillons. Il s'agit des *n*-alcanes dont la distribution est caractérisée par une nette prédominance impaire, indicatrice d'une origine végétale. Cependant, celle-ci n'est pas diagnostique et ne permet pas de conclure de manière indubitable quant à la présence d'une huile végétale. La même conclusion peut être faite concernant la détection des esters lourds. L'origine de ces composés sera discutée en détails dans la partie IV de ce chapitre.



Figure 2.6 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques contenant une huile végétale dégradée ; FAC<sub>xx</sub> : *n*-acides, diC<sub>xx</sub> : diacides, ● : carboxylactones.



Figure 2.6 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques contenant une huile végétale dégradée ; FAC<sub>xx</sub> : *n*-acides, diC<sub>xx</sub> : diacides, • : carboxylactones.



Figure 2.6 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques contenant une huile végétale dégradée ;  $FAC_{xx}$  : *n*-acides,  $diC_{xx}$  : diacides, • : carboxylactones.



Figure 2.6 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques contenant une huile végétale dégradée ; FAC<sub>xx</sub> : *n*-acides, diC<sub>xx</sub> : diacides, • : carboxylactones.



Figure 2.7 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant les distributions de lactones dans les fractions alcools des échantillons archéologiques contenant une huile ; γ-Cxx : γ-lactones, δ-Cxx : δ-lactones, Cxx : nombre d'atomes de carbone.

*Cas particulier de l'échantillon E16487.* Cet échantillon provient d'une poterie de typologie particulière puisqu'il s'agit d'une petite amphore ouverte (Figure 2.8). Le matériel présent à l'intérieur était collant et de couleur sombre.



Figure 2.8 : Photographie de la poterie E16487. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

Les triglycérides ont totalement été hydrolysés et seuls les acides gras « libres » sont détectés. Comme pour les échantillons précédents, nous avons détecté les produits de dégradation des corps gras comme les  $\gamma$ - et  $\delta$ -lactones, les carboxylactones et les oxo-diacides (Figure 2.9, Figure 2.10). Les diacides en quantités importantes (dont la distribution est centrée sur l'acide azélaïque) sont également présents, ainsi que les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques, permettant ainsi de privilégier l'hypothèse de la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative (Figure 2.10). Cependant, contrairement aux échantillons précédents, les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques sont présents en faibles quantités, ce qui pourrait indiquer l'utilisation d'une huile différente, mais aussi un vieillissement différent ou encore des modes de préparation distincts.

L'autre particularité de cet échantillon est la distribution des acides gras libres, où comme dans tout corps gras archéologique, les acides palmitique et stéarique sont majoritaires, mais où on détecte également la présence de dérivés caractérisés par une fonction cétone en position 10 (Figure 2.11). Ces composés n'étaient pas présents dans les autres échantillons archéologiques analysés mais ont déjà été décrits pour des adipocères (*cf.* Chapitre 1). Il n'est donc pas impossible que bien que les échantillons aient été stockés au même endroit, ceux-ci n'aient pas subi les mêmes dégradations. Cela est d'autant plus plausible que ce pot non fermé

était en contact direct avec l'air. Malheureusement, la question de savoir pourquoi des adipocères se seraient formés dans cet échantillon et pas dans les autres, reste en suspend.



Figure 2.9 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des alcools acétylés de l'échantillon archéologique E16487 ; γ-Cxx : γ-lactones, δ-Cxx : δ-lactones, Cxx : nombre d'atomes de carbone.



Figure 2.10 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E16487 ; FACxx : *n*-acides, diCxx : diacides, • : carboxylactones.



Figure 2.11 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des acides méthylés de l'échantillon archéologique E16487 ; FAC<sub>xx</sub> : *n*-acides, à x atomes de carbone.

*Cas particulier de l'échantillon E16427*. Cet échantillon provient d'un vase fermé par un film transparent et dont la typologie est identique à ceux décrits précédemment (Figure 2.12). L'échantillon est extrêmement collant et arbore une coloration orange très foncé.



Figure 2.12 : Photographie de la poterie E16427. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

Les TAG ayant été totalement hydrolysés, on ne détecte plus que les acides gras « libres ». Seules les  $\gamma$ -lactones (produits de dégradation des corps gras) sont présentes dans cet échantillon, parmi lesquelles les termes en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> sont majoritaires (Figure 2.13). L'absence de  $\delta$ -lactones n'a pas pu être expliquée pour le moment. Les carboxylactones, ainsi que les oxo-diacides, sont également présents, ce qui confirme bien la présence d'un corps gras dégradé dans cet échantillon. La grande quantité de diacides dont la distribution est centrée sur l'acide azélaïque (Figure 2.14), indique la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative très dégradée.

Comme pour l'échantillon E16487, mais contrairement aux échantillons décrits précédemment, on constate que les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques sont détectés en faibles quantités. Les 10-oxo-acides décrits dans l'échantillon E16487, ne sont pas présents dans celui-ci. Il pourrait s'agir d'une huile d'origine différente, mais cela pourrait également indiquer un mode de préparation différent ou des conditions de dégradation distinctes.



Figure 2.13 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction des cétones de l'échantillon archéologique E16427 présentant la distribution des γ-lactones (× : contaminations).



Figure 2.14 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E16427 ; FACxx : *n*-acides, diCxx : diacides.

*Cas particulier de l'échantillon E16443*. Cet échantillon provient d'un vase ouvert. Le matériel présent à l'intérieur est homogène, mou et de couleur orange très foncé (Figure 2.15).



Figure 2.15 : Photographie de la poterie E16443. ©G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

Comme pour les échantillons précédents, les TAG ont totalement été hydrolysés et seuls les produits de dégradation et d'hydrolyse sont présents. On a constaté la présence de lactones mais uniquement des  $\gamma$ -lactones dont la distribution est identique à celle retrouvée dans l'échantillon E16427. Les carboxylactones, ainsi que les oxo-diacides, n'ont pas été détectés. Par ailleurs, les diacides et les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques sont présents en faibles quantités (Figure 2.16), ce qui indique la présence d'une huile végétale non siccative ou d'une graisse animale. Sur la seule base de ces informations, on ne peut pas préciser la nature du corps gras présent et on ne peut pas exclure un mode de préparation particulier de cet échantillon.



Figure 2.16 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique brut E16443 ; FACxx : *n*-acides, \* : acides gras ramifiés, diCxx : diacides.

#### III.2.3) Conclusion

Les échantillons (E10719, E14602, E16465, E16419, E16432, E16438, E16415, E16487, E16427 et E16443) sont caractérisés par l'absence des TAG, DAG et MAG, par la présence des produits d'oxydation des acides gras insaturés (diacides, dihydroxyacides) et de lactones, ainsi que par la présence d'autres composés de dégradation des acides gras. Ainsi, sur la base des informations fournis par la GC-MS, les échantillons E10719, E14602, E16465, E16419, E16432, E16438 et E16415 semblent être majoritairement constitués d'une huile végétale siccative ou semi-siccative. Dans le cas particulier des échantillons E16487 et E16427, la présence en quantité importante de diacides, et celle en faible quantité des acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques, semblent également indiquer la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative mais d'origine différente. Malheureusement sur cette seule base, il est impossible de déterminer la nature des huiles végétales utilisées. Par ailleurs, l'échantillon E16443, également particulier, est caractérisé par une faible quantité de diacides et des acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques, ce qui indique la présence d'une graisse animale ou d'une huile végétale non siccative. Les phytostérols n'ont pas pu être utilisés pour identifier les huiles dégradées dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Cependant, leurs

produits d'autoxydation ont pu être détectés dans tous les échantillons. Il s'agit de la méthyl cholesta-3,5-dièn-7-one et de la stigmasta-3,5-dièn-7-one. La non spécificité de ces composés complique énormément leur interprétation, puisqu'ils peuvent provenir de toutes substances d'origine végétale, ce qui sera détaillé dans la partie IV de ce chapitre.

# III.3) Identification des échantillons contenant une graisse animale ou un mélange

#### III.3.1) Description des échantillons archéologiques

Contrairement aux échantillons précédents, qui contenaient clairement une huile végétale siccative ou semi-siccative, les échantillons E16458, E16421, E16449, SN1, E16444, E16446, E16478, E16488, E16420 et E16439, posent un problème d'identification.

Ces échantillons proviennent de pots ouverts ou fermés (non hermétiquement) par un bouchon (Figure 2.17). Ils sont de consistance solide et pâteuse, de couleur jaune orange et présentent quelques fois une sorte de croûte en surface. Au moment du fractionnement par classes de polarité, ils ont été entièrement solubilisés dans du dichlorométhane. Ces échantillons contiennent tous des TAG. D'un point de vue quantitatif, à l'exception des échantillons E16420 et E16439 qui contiennent environ 10% de TAG, les autres sont caractérisés par une quantité importante de triglycérides, de 20 à 50% par rapport à la masse de l'échantillon brut engagée dans le fractionnement.



E16458



E16439



E16421



E16421



E16449



E16446



E16478



SN1









E16444 E16420 E16488 Figure 2.17 : Photographies des poteries contenant un corps gras dont l'origine n'a pas pu être spécifiquement déterminée. © G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

#### **III.3.2)** Identification des différents biomarqueurs

#### III.3.2.i) Diacides et dihydroxyacides

A l'exception de l'échantillon E16458, des diacides (distribution centrée sur l'acide azélaïque) ainsi que les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques, sont détectés dans tous ces échantillons (Figure 2.18). Leur présence en faible quantité est indicatrice de la présence d'une graisse animale ou d'une huile végétale non-siccative. En plus de cette observation, d'autres différences ont été constatées avec les échantillons présentés dans la partie III.2. En effet, comme nous l'avons déjà signalé précédemment, la fraction F3 de ces échantillons n'est pas majoritaire d'un point de vue massique. Les 4-oxo-diacides, les carboxylactones ainsi que le 10-oxo-FAC18, n'ont pas été détectés. Ces différences semblent bien confirmer la présence d'un corps gras d'origine différente. Il est néanmoins important de signaler l'existence de points communs avec les échantillons précédents. Des traces de  $\gamma$ -lactones essentiellement (termes en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> majoritaires), indiquant la présence d'un corps gras dégradé, (huile végétale ou graisse animale) y ont été détectés. L'origine de ces composés sera discutée dans la partie IV de ce chapitre.

Ces échantillons ne semblent donc pas contenir une huile végétale siccative ou semisiccative. S'agit-il d'une graisse animale, d'une huile végétale non-siccative, ou plutôt d'un mélange entre une graisse animale et une huile végétale ? Est-ce plutôt une huile siccative ou semi-siccative dans un état de dégradation moins avancé ?



Figure 2.18 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation des échantillons archéologiques bruts; FAC<sub>xx</sub> : *n*-acides, \* : acides gras ramifiés, diC<sub>xx</sub> : diacides.

#### III.3.2.ii) Triglycérides et introduction directe

La spectrométrie de masse en mode introduction directe permet d'obtenir rapidement une empreinte globale de l'échantillon. On peut ainsi aisément vérifier la présence ou non de triglycérides, de cires ou encore de résines (Colombini and Modugno, 2009). Dans le cas particulier des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, cette technique a surtout permis de vérifier la présence ou non des triglycérides, ainsi que celles des acides gras (essentiellement les acides palmitique et stéarique) (Figure 2.19, Figure 2.20). La présence des TAG se traduit par un pic de base formé par la perte d'un groupement acyloxy- (Budzikiewicz *et al.*, 1964).

L'inconvénient de cette technique est que nous ne pouvons pas déterminer les substances minoritaires qui peuvent être présentes dans l'échantillon, car elles sont masquées par les substances majoritaires.



Figure 2.19 : Spectre de masse obtenu en mode introduction directe (EI 70 eV) sur l'échantillon archéologique brut SN1.



Figure 2.20 : Fragmentation des triglycérides composés d'acides gras en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>, majoritaires dans les échantillons archéologiques.

La présence des TAG indique un état de dégradation moins avancé que dans le cas des échantillons décrits dans la partie III.2. Elle peut également être liée à un mode de préparation différent.
#### III.3.2.iii) TAG, DAG, MAG et FA

Après confirmation de la présence de TAG dans les échantillons archéologiques et étant donné qu'il n'est pas possible de les analyser par GC-MS, ils ont été réduits à l'aide d'hydrure de lithium aluminium (cf. Partie expérimentale), puis acétylés. Cette réaction permet de couper les liaisons esters et d'analyser les acides gras constitutifs des TAG. Cependant, l'information liée à la position de l'acide gras au sein du TAG est perdue. On obtient un profil des acides gras dits « liés » que l'on a comparé à celui obtenu pour les acides gras dits « libres » provenant de l'hydrolyse naturelle des TAG (Figure 2.21). Les distributions sont identiques à celles décrites dans la littérature pour les graisses animales dégradées et les huiles végétales non siccatives très dégradées et retrouvées en contexte archéologique. Ces profils sont caractérisés par des acides gras linéaires (essentiellement des termes pairs), dont la distribution s'étend du terme en C<sub>14</sub> au terme en C<sub>20</sub>, et où les acides palmitique et stéarique sont majoritaires. La présence d'acides gras ramifiés (C15, C16, C17, C18) permet d'exclure une origine végétale et favorise ainsi l'hypothèse de la présence de graisses animales. De plus, les mélanges d'isomères de position du C<sub>18:1</sub> dans les échantillons E16421, E16449, E16446, E16478, SN1, E16444, E16420 et E16488 indiquent la présence d'une graisse animale de ruminant. En revanche, dans les échantillons E16458 et E16439 un seul isomère du C18:1 est présent, indiquant plutôt la présence d'une graisse animale de type monogastrique. Dans le cas particulier de l'échantillon E16458, l'absence de diacides avait déjà permis d'exclure l'origine végétale du corps gras.

Il est important de noter que les acides gras « liés » ne sont pas soumis aux contaminations bactériennes dans la mesure où ils sont moins accessibles car estérifiés aux TAG. Ces profils sont donc bien plus informatifs que ceux obtenus pour les acides gras « libres ».

# E16458

# E16458

Acides « libres »



Figure 2.21 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des acides "liés" (obtenus après réaction à l'hydrure de lithium aluminium sur les TAG et acétylation) et "libres" (sous forme méthylée) ; \* : acides gras ramifiés (les autres sont linéaires).

# E16421





Figure 2.21 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des acides "liés" (obtenus après réaction à l'hydrure de lithium sur les TAG et acétylation) et "libres" (sous forme méthylée) ; \* : acides gras ramifiés (les autres sont linéaires).

# **SN1**

#### Acides « liés »

SN1

Acides « libres »



Figure 2.21 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des acides "liés" (obtenus après réaction à l'hydrure de lithium sur les TAG et acétylation) et "libres" (sous forme méthylée) ; \* : acides gras ramifiés (les autres sont linéaires).

# E16420

E16420



Acides « libres »



Figure 2.21 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des acides "liés" (obtenus après réaction à l'hydrure de lithium sur les TAG et acétylation) et "libres" (sous forme méthylée) ; \* : acides gras ramifiés (les autres sont linéaires).

Les diglycérides (produits intermédiaires de l'hydrolyse des TAG) sont présents dans les échantillons E16439, E16444, SN1, E16421, E16488 et E16420 (Figure 2.22). Les distributions sont dominées par les termes avec 32 (noté D32) et 34 (noté D34) atomes de carbone dans les parties acyles. Le terme D32 est composé de deux acides palmitique et le terme D34 est constitué d'un acide palmitique et d'un acide stéarique. Ces distributions sont cohérentes avec celles décrites dans la littérature et sont ubiquistes à tout corps gras dégradé.



Figure 2.22 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des diglycérides (forme acétylée) dans les fractions alcools des échantillons archéologiques ; Dxx : nombre d'atomes de carbone dans les parties acyles des DAG.



Figure 2.22 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des diglycérides (forme acétylée) dans les fractions alcools des échantillons archéologiques ; Dxx : nombre d'atomes de carbone dans les parties acyles des DAG.

#### III.3.3) Discussion & conclusion

Sur la base des données obtenues par GC-MS, cette famille d'échantillons caractérisée par la présence de TAG, semble contenir un corps gras différent de celui décrit dans le premier type d'échantillons majoritairement composé d'huile végétale siccative ou semi-siccative. La présence en faible quantité des diacides et dihydroxyacides, voire leur absence dans le cas particulier de l'échantillon E16458, semble favoriser l'hypothèse des graisses animales et des huiles végétales non siccatives. De manière générale, la présence d'acides gras ramifiés et l'absence d'acides gras polyinsaturés dans le profil correspondant aux acides gras « liés », confirment l'origine animale du corps gras. Les mélanges d'isomères de position du C<sub>18:1</sub> dans les échantillons E16421, E16449, E16446, E16478, SN1, E16444, E16420 et E16488 indiquent une graisse animale de ruminant. Dans le cas des échantillons E16458 et E16439, un seul isomère était présent, indiquant plutôt une graisse animale provenant d'animaux monogastriques. Pour les échantillons intermédiaires E16420 et E16439, la présence des TAG en plus faible quantité (environ 10%) semble indiquer un état de dégradation plus avancé, qui pourrait être lié à un mode de préparation différent. D'un point de vue moléculaire, il n'y a pas de différence entre ces deux échantillons et les autres appartenant à la même famille.

Les stérols ne sont pas présents dans ces échantillons. Cette absence est cohérente avec le fait qu'ils sont rarement retrouvés en contexte archéologique, en raison de leur forte sensibilité aux phénomènes de dégradation. En revanche, leurs produits d'autoxydation sont détectés : la cholesta-3,5-dièn-7-one (présente à l'état de trace), la méthyl cholesta-3,5-dièn-7-one et la stigmasta-3,5-dièn-7-one (Figure 2.31). L'interprétation de l'origine de ces composés est extrêmement délicate, car ils peuvent résulter d'une contribution autre que le corps gras. Comme nous allons en discuter dans la partie IV de ce chapitre, leur présence couplée à celle des *n*-alcanes avec une prédominance impaire et des esters lourds, semble plus probablement résulter d'une substance végétale à la graisse animale.

#### III.4) Analyses d'huiles fraîches de référence et simulations de dégradation

#### III.4.1) Analyses d'huiles fraîches de référence

Afin de comparer les résultats obtenus précédemment sur les substances archéologiques identifiées comme des huiles végétales dégradées à ceux obtenus sur des huiles végétales fraîches, nous avons choisi d'analyser six huiles de siccativité différente, selon notre protocole expérimental, qui sont :

- Huile de lin : très siccative
- Huiles de sésame et colza : semi-siccatives
- Huiles de ricin, olive et de palme : non siccatives

Les procédés de fabrication des huiles influencent nécessairement leur composition moléculaire. Dans le cas des huiles actuelles commerciales, ces procédés sont bien décrits. L'huile, contenue à l'intérieur des graines oléagineuses, est stockée dans les cellules dites oléifères, sous la forme de globules (organes de stockage des réserves lipidiques des graines appelés oléosomes). Il faut déstructurer les oléosomes, afin de libérer l'huile des cellules et de l'extraire avec un rendement optimum. On obtient deux types d'huile : l'huile de pression et l'huile d'extraction. L'huile de pression est obtenue à partir des graines suite à différents systèmes de presses puis de tamisage et décantation pour éliminer les particules solides. L'huile d'extraction est quant à elle obtenue à partir des graines partiellement déshuilées lors de l'étape de pression, par extraction au solvant (hexane). Le solvant sera éliminé par distillation. Avant d'être consommées, ces différentes huiles doivent être purifiées ou raffinées afin d'éliminer les impuretés comme les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les cires ou encore les acides gras libres.

Les compositions décrites pour les huiles analysées dans ces travaux sont les suivantes (Karleskind, 1996) :

*Huile d'olive*. Cette huile est obtenue à partir d'olives cueillies à maturité. Elle contient 75% d'acide oléique ( $C_{18:1}$ ), 13% de graisses saturées et 12% d'acide linoléique ( $C_{18:2}$ ).

*Huile de colza*. Le colza est une plante oléagineuse appartenant au genre *Brassica* de la famille des Brassicacées. Les acides gras monoinsaturés à chaîne longue, l'acide eicosénoique  $C_{20:1}$  et l'acide érucique  $C_{22:1}$ , sont caractéristiques du genre *Brassica*.

*Huile de sésame*. Elle est extraite à partir des graines de *Sesamum indicum*, une herbacée appartenant à la famille des Pedaliacées. Elle contient 42% d'acide oléique, 15% de graisses saturées, 43% d'acide linoléique ainsi que des traces d'acide érucique.

*Huile de palme*. Cette huile est obtenue à partir des noyaux des fruits de la famille *Elaeis guineensis*. Elle contient 50% de graisses saturées, 41% d'acide oléique et 9% d'acide linoléique. L'huile de noyaux de palme est riche en acide laurique ( $C_{12:0}$ ).

*Huile de lin*. Elle est obtenue à partir des graines de lin, qui est une dicotylédone appartenant à l'espèce *Linum usitatissimum* de la famille des Linacées. Elle est riche en acides linolénique, linoléique et oléique.

*Huile de ricin*. Elle est obtenue à partir des graines de *Ricinus communis*, de la famille des Euphorbiacea. Cette huile est caractérisée par la présence de l'acide ricinoléique (acide 12-hydroxystéarique).

A l'exception de l'huile de ricin (très visqueuse et blanche) et de l'huile de palme (solide et blanche), les huiles étaient liquides et plus ou moins jaunes. Il s'agit d'huiles alimentaires, de première pression sauf l'huile de ricin destinée aux massages et l'huile de lin destinée à protéger les mobiliers de jardin en bois et en teck.

Conformément aux données décrites dans la littérature (Evrard *et al.*, 2007; Karleskind, 1996), le fractionnement par classe de polarité a montré que ces huiles végétales sont majoritairement composées de triglycérides (environ 95% de l'huile) et la fraction contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés représente 3 à 4% de l'huile. De plus, les produits de dégradation des TAG (DAG, MAG, FA, diacides, dihydroxyacides et lactones) n'ont pas été détectés dans ces huiles fraîches.

L'analyse des triglycérides a été réalisée par LC-MS (*cf.* Chapitre 3) et par GC-MS, après leur dégradation préalable par l'hydrure de lithium aluminium (*cf.* Partie expérimentale). L'analyse des autres composés (alcanes, acides gras, phytostérols et composés polyfonctionnalisés) a également été réalisée par GC-MS.

#### III.4.1.i) Les acides gras « liés »

L'analyse des acides gras constitutifs des triglycérides a montré qu'ils sont majoritairement composés d'acides gras insaturés (Figure 2.23). Les distributions sont les mêmes que celles décrites dans la littérature, à l'exception de l'huile de lin. Dans le cas de l'huile d'olive, le profil est dominé par le  $C_{18:1}$  (75% dans la littérature), de même pour l'huile

de sésame où le profil est dominé par le  $C_{18:1}$  et  $C_{18:2}$  (40 % chacun dans la littérature). Pour l'huile de colza que nous avons analysée au laboratoire, le  $C_{20:1}$  et le  $C_{22:1}$  sont bien présents. L'huile de ricin est quant à elle caractérisée par l'acide ricinoléique, également utilisé comme biomarqueur de cette huile. Le profil obtenu pour l'huile de palme, qui provenait de la pulpe est effectivement dominé par l'acide palmitique, l'acide oléique, et caractérisé par l'absence du  $C_{12}$ . Dans le cas particulier de l'huile de lin, la provenance de l'huile ainsi que son utilisation laisse supposer que des modifications ont pu y être apportées, ce qui pourrait expliquer le profil obtenu ( $C_{18:1}$  majoritaire) qui ne correspond pas à celui décrit dans la littérature (60 % de  $C_{18:3}$ ). Une huile d'une autre nature est également une possibilité.

Lors de l'analyse des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, nous avons systématiquement recherché l'acide ricinoléique et son produit de dégradation : ceux-ci n'ayant jamais été détectés, l'huile de ricin est à exclure. Il est très important de noter que lors de l'analyse des acides gras présents dans les TAG des échantillons archéologiques (quand ils étaient encore présents), nous avons constaté que les profils étaient dominés par les acides gras saturés (essentiellement les acides palmitique et stéarique). De plus, il est important de noter que dans le cas des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh qui semblent contenir une huile végétale, les TAG ont été totalement hydrolysés, et les acides gras insaturés entièrement dégradés. Les profils d'acides gras des huiles fraîches et des corps gras archéologiques sont complètement différents.

Notre protocole expérimental permet effectivement de faire la distinction entre les huiles végétales fraîches. Cependant en ce qui concerne les échantillons archéologiques, il n'est malheureusement pas possible de faire la distinction sur la base des distributions des acides gras présents dans les TAG. Nous avons alors recherché des composés de polarités différentes qui pourraient être diagnostiques tels que les alcanes et les stérols.



Figure 2.23 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions contenant les acides gras obtenus après la dégradation des TAG des différentes huiles modernes de référence.

#### III.4.1.ii) Les n-alcanes

Les distributions de *n*-alcanes présents dans les huiles végétales sont très peu décrites dans la littérature, en raison de leur faible intérêt dans le domaine de l'agroalimentaire. Les profils obtenus lors de l'analyse des fractions F1 des huiles actuelles apparaissent néanmoins différents des quelques données de la littérature. A l'exception de l'huile d'olive dont la fraction F1 est uniquement constituée de squalène (ce qui a été confirmé dans la littérature), les autres huiles sont caractérisées par des distributions de *n*-alcanes s'étendant du terme en  $C_{21}$  au terme en  $C_{33}$  et centrées sur le terme en  $C_{29}$  (Figure 2.24). Cette très nette prédominance impaire n'est pas diagnostique et indique uniquement une origine végétale. Des alcanes ramifiés (2-méthyl) ont uniquement été détectés pour l'huile de sésame.

La distribution des *n*-alcanes présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh (décrite en détails dans la suite de ce chapitre) est caractérisée par une forte prédominance impaire et par la présence d'alcanes ramifiés. Ces résultats ont été observés quelque soit la nature du corps gras présent et indiquent la présence d'une substance végétale. Sur la base de ces données, il n'est pas possible de conclure sur la présence d'une huile, et encore moins d'en préciser sa nature.



Figure 2.24 : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des *n*-alcanes dans les fractions F1 des huiles modernes de référence.



Figure 2.24 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse représentant la distribution des *n*-alcanes dans les fractions F1 des huiles modernes de référence.

#### III.4.1.iii) Les stérols

Des problèmes liés au fractionnement et plus particulièrement à la mauvaise séparation entre la fraction majoritaire contenant les TAG et celle contenant les phytostérols (fraction des alcools) présents à l'état de trace, ne nous a pas permis de les analyser. La présence du campestérol et du sitostérol) n'a pas pu être vérifiée. Cependant, étant donné que ces composés sont très sensibles aux phénomènes de dégradation (*cf.* Chapitre 1) et qu'ils sont rarement retrouvés dans les échantillons archéologiques, il ne nous a pas paru nécessaire de parfaire leur séparation et leur identification.

#### III.4.2) Simulation de dégradation

Comme nous venons de le montrer, les processus de dégradation rendent la comparaison d'échantillons archéologiques avec des huiles fraiches de référence impossible et empêche leur identification. Des expériences de simulations par chauffage ont été réalisées sur ces huiles fraîches afin de mettre en évidence la formation des lactones, des diacides, des hydroxy- et dihydroxyacides durant le vieillissement de ces huiles végétales. Après avoir chauffé l'huile d'olive dans un bain de sable à 185°C pendant 72 heures (*cf.* Partie expérimentale), nous avons constaté de nombreux changements, notamment physiques l'huile étant devenue brune (assez foncée) et extrêmement élastique. D'autre part, le bilan quantitatif après le fractionnement a également été modifié : la fraction majoritaire n'est plus celle contenant les TAG (environ 95 % de l'huile fraîche et 7 % de l'huile dégradée), mais celle contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés (environ 70 % de l'huile dégradée).

L'analyse moléculaire de cette dernière fraction permet la mise en évidence de nombreuses différences entre huiles fraîche et dégradée. Tout d'abord, nous constatons la formation de diglycérides, de monoglycérides, et d'acides gras libres, provenant de l'hydrolyse des triglycérides, qui étaient absents dans l'huile d'olive fraîche. Ces composés sont essentiellement constitués des acides gras  $C_{18:1}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$ , comme cela était le cas des TAG présents dans l'huile d'olive fraîche. En plus de ces composés, des composés provenant de la dégradation des acides gras insaturés, et tout particulièrement de l'acide oléique, ont été mis en évidence, à savoir l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque, l'acide azélaïque, et des  $\gamma$ -lactones (termes en  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ) (Figure 2.25). Tous ces composés ont été détectés dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Huile d'olive dégradée

Figure 2.25 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés de l'huile d'olive dégradée par chauffage et de l'huile d'olive fraîche ; MAG : monoglycérides, DAG : diglycérides, MAG (ou DAG) C<sub>XX</sub> indique les acides gras qui les constituent.

La présence de ces lactones peut avoir deux origines : le vieillissement de l'huile et le chauffage. Il apparait par conséquent délicat de leur attribuer une origine lorsqu'elles sont mises en évidence dans les résidus archéologiques.

Le chauffage a permis d'accélérer le vieillissement de notre huile de référence, mais malheureusement, sa durée n'a pas été suffisante pour obtenir des profils similaires à ceux des échantillons archéologiques, qui sont dans un état de dégradation très avancé. Sur la base de ces différentes informations, il n'est donc pas exclu que les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, caractérisés par une quantité importante de diacides et de dihydroxyacides puissent contenir une huile végétale dans un état de dégradation très avancé. L'utilisation d'un chauffage au moment de leur préparation ne peut pas non plus être exclue.

*Remarque*. Des simulations de dégradation photochimique de l'huile d'olive ont également été réalisées à l'aide d'une lampe à spectre lumière du jour (*cf.* Partie expérimentale). En raison d'une durée d'exposition trop courte (aucun produit de dégradation de l'acide oléique n'est détecté), ces simulations continuent à l'heure actuelle.

#### III.4.3) Discussion et conclusion

L'analyse moléculaire des huiles fraîches a montré que les profils d'acides gras (contenus dans les TAG) sont très différents de ceux des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Ainsi, l'hydrolyse des TAG et la dégradation des acides gras insaturés dans les échantillons archéologiques ne permettent pas de les comparer avec les huiles fraîches. De plus, la distribution non diagnostique des *n*-alcanes dans les huiles actuelles et la perte des phytostérols dans les échantillons archéologiques posent également un problème pour identifier les huiles. La présence des composés d'hydrolyse des TAG (DAG, MAG et FA) et de dégradation des acides gras insaturés (diacides, dihydroxyacides), dont les formations ont été confirmées par simulation de vieillissement d'huile fraîche, permet bien d'identifier les huiles végétales dans les échantillons archéologiques. Il serait intéressant d'analyser une huile vieillie naturellement (pendant plusieurs dizaines d'années, ce qui n'a pas été possible durant ces travaux), afin de comparer les profils moléculaires obtenus avec ceux des échantillons de Deir el-Médineh.

# IV) IDENTIFICATION D'AUTRES SUBSTANCES PRESENTES DANS LES ECHANTILLONS A BASE LIPIDIQUE

Dans ce paragraphe, nous avons recherché spécifiquement dans nos échantillons, d'autres substances naturelles éventuellement ajoutées aux huiles et graisses décrites précédemment. Il paraît en effet étrange de disposer d'autant de poteries remplies uniquement de corps gras. Nous avons ainsi recherché des cires, et des résines. Par ailleurs, puisque l'hypothèse des onguents semblait la plus probable concernant la nature de ces contenus, nous avons analysé deux onguents égyptiens contemporains de ceux de Deir el-Médineh, afin de confronter nos résultats. Suite aux nombreuses discussions avec Geneviève Pierrat-Bonnefois, l'hypothèse des parfums a également été envisagée et puisque ceux-ci étaient alors confectionnés par la technique de l'enfleurage, nous avons étudié des absolues modernes, résultant de cette technique.

# IV.1) Les cires

Les cires susceptibles d'être retrouvées dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh sont les cires d'abeille, l'apiculture étant connue à cette époque, ainsi que les cires épicuticulaires résultant de la présence d'une substance végétale. Alors que les compositions moléculaires des cires d'abeille sont très proches, il en existe une grande variabilité parmi les cires épicuticulaires (liée aux espèces, conditions climatiques, altitude, etc.). Il est également important d'insister sur le fait que la cire d'abeille est un constituant de mélange à part entière, c'est-à-dire qu'elle est ajoutée volontairement, ce qui n'est pas le cas des cires végétales qui sont liées à la présence d'une substance végétale. Les cires sont très stables et facilement retrouvées, ce qui n'est pas toujours le cas de la substance végétale présente initialement dans le mélange.

### IV.1.1) Description des cires retrouvées en contexte archéologique

Les cires d'abeille. Cette ressource naturelle a été exploitée depuis la préhistoire en tant qu'imperméabilisant et agent d'étanchéité (Regert and Rolando, 2002; Ribechini *et al.*, 2009b). Chez les égyptiens, elle avait de nombreuses utilisations : elle entrait dans la composition des baumes de momies, servant à polir la surface des peintures (Colombini *et al.*, 2000; Evershed *et al.*, 1997c; Heron *et al.*, 1994; Regert and Rolando, 2002; Tchapla *et al.*, 2004), etc. Elles ont été retrouvées dans de nombreux résidus archéologiques, en mélange avec d'autres substances naturelles telles que des graisses (Charters *et al.*, 1995), du bitume, des résines (Regert *et al.*, 2005), etc.

Les cires d'abeille sont caractérisées par des biomarqueurs, déjà décrits dans le Chapitre 1. Les esters lourds (uniquement des esters de l'acide palmitique) sont peu sensibles aux phénomènes de dégradation inhérents au contexte archéologique, contrairement aux *n*-alcanes, dont la disparition peut également être liée à un chauffage (Tchapla *et al.*, 1999). Les esters lourds sont donc d'excellents biomarqueurs des cires d'abeille.

Les cires épicuticulaires. Les cires végétales présentes dans des résidus archéologiques sont rarement décrites dans la littérature.

L'unique article faisant, à notre connaissance, référence à des échantillons archéologiques contenant des cires végétales, concerne des résidus d'onguents italiens provenant d'une villa romaine (Ribechini *et al.*, 2008b). L'analyse moléculaire a révélé la présence de cire d'abeille en mélange avec une résine diterpénique, une huile végétale et une autre cire d'origine végétale. L'identification de phytostérols (campestérol, stigmastérol et sitostérol) ainsi que celle des co-élutions d'esters pairs et impairs des termes en  $C_{40}$  aux termes en  $C_{54}$  a permis de mettre évidence la présence d'une cire cuticulaire de feuilles ou de fleurs. Afin d'expliquer la présence de ces cires, les auteurs ont proposé l'hypothèse de l'onguent parfumé, préparé par la technique de l'enfleurage (à chaud ou à froid), qui consiste à piéger les parfums des fleurs, des feuilles ou des épices dans des corps gras (du type huile végétale ou graisse animale), en les déposant à leur surface. Dans le cas particulier de cette étude, il est important de noter que le profil obtenu lors de l'analyse de l'extrait lipidique total est dominé par la présence des esters lourds (co-élutions), ce qui semble plus cohérent avec la présence d'une cire d'abeille en mélange avec une cire végétale.

Dans un tout autre contexte, l'équipe d'Evershed a mis en évidence la présence de cires épicuticulaires provenant de feuilles de plantes de la famille des *Brassica* (brocoli, choux, etc.) dans des résidus culinaires présents à l'intérieur de tessons de poteries. Ces cires sont caractérisées par la présence du nonacosane (n-C<sub>29</sub>) et de ses dérivés oxydés, le nonacosan-15-one et le nonacosan-15-ol. (Evershed *et al.*, 1991).

<u>Remarque</u> : Puisque nous ne disposions d'aucune information nous permettant de définir quelles espèces analyser en regard du contexte archéologique de Deir el-Médineh, et en raison de la très faible quantité de cires présente à la surface des feuilles, et de la forte variabilité compositionnelle de ces cires (*cf.* Chapitre 1), nous avons jugé préférable d'envisager leur extraction lors de travaux ultérieurs.

Aucune information n'a été trouvée dans la littérature concernant le vieillissement de ces cires. Cependant, puisque leur composition est sensiblement identique à celle de la cire d'abeille, il est logique de supposer que le processus de vieillissement est du même ordre.

#### IV.1.2) Analyse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence

Une cire d'abeille non purifiée provenant de Witzenhausen (Allemagne) a été analysée au laboratoire en 2004. Elle est caractérisée par la présence de trois marqueurs (Figure 2.26) :

- les *n*-alcanes : la distribution s'étend du terme en n-C<sub>23</sub> au terme en n-C<sub>33</sub>, seul les termes impairs sont présents et le composé en n-C<sub>27</sub> est majoritaire.

- les *n*-acides : la distribution s'étend du terme en n-C<sub>22</sub> au terme en n-C<sub>34</sub>, seul les termes pairs sont présents et le composé en C<sub>24</sub> est majoritaire.

- les cérides (ou esters lourds de l'acide palmitique) : la distribution s'étend du terme en  $C_{40}$  au terme en  $C_{48}$ , seul les termes pairs sont présents et le composé en  $C_{40}$  est majoritaire.



Figure 2.26 : Chromatogramme en phase gazeuse d'une cire d'abeille moderne, utilisée comme référence dans cette étude.

*Fragmentation des esters lourds*. L'impact d'un électron sur un ester au sein du spectromètre de masse (mode impact électronique) entraîne la formation d'un radical chargé au niveau de l'atome d'oxygène insaturé. Les fragments obtenus par la suite peuvent provenir de la partie acide ou de la partie alcool de l'ester. Ce radical va ensuite être clivé au niveau de la liaison alkoxy (R'-O-), ce qui implique majoritairement le réarrangement de deux atomes d'hydrogène provenant du groupe alkyle. Deux réactions principales prennent place au niveau du groupe alkoxy:

 $[\text{RCOOR}']^{+\bullet} \rightarrow [\text{RCO}_2\text{H}]^{+\bullet} + [\text{R}' - \text{H}]$  $[\text{RCOOR}']^{+\bullet} \rightarrow [\text{RCO}_2\text{H}_2]^{+} + [\text{R}' - 2\text{H}]$ 

On obtient un fragment très intense (pic de base), caractéristique de la partie acide de l'ester, et noté [RCOOH+H]<sup>+</sup>. L'ion acylium [RCO]<sup>+</sup>, caractéristique de la partie acide, est également présent dans le spectre de masse. Le fragment résultant de la partie alcool provient de l'ion alkoxy carbonyle, noté [R'O-CO]<sup>+</sup> (Budzikiewicz *et al.*, 1967; Heron *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 2010).

Les différents fragments caractéristiques obtenus pour le palmitate d'hexacosanoyle ( $C_{16:0}$ - $C_{26:0}$ ) sont (Figure 2.27) :

- Le fragment moléculaire :  $M^{+\bullet}$  à 620 u.m.a.

- Ceux correspondant à la partie acide : deux fragments, à savoir le pic de base m/z 257 correspondant au clivage de la liaison alkoxy et à son réarrangement, ainsi que le fragment correspondant à l'ion acylium m/z 239.

- Ceux correspondant à la partie alcool : deux fragments, à savoir le fragment m/z409, correspondant à l'ion alkoxy carbonyle, et le fragment m/z 364, provenant de la coupure au niveau du groupe alkoxy.



Figure 2.27 : Spectre de masse de l'ester de l'acide palmitique en  $C_{42}$  (ou palmitate d'hexacosanoyle).

# IV.1.3) Caractérisation moléculaire des cires présentes dans les échantillons de Deir el-Médineh

Dans la totalité des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh caractérisés par une base lipidique, nous avons identifié des esters lourds. Ces biomarqueurs de cires sont présents en très faible quantité : ils représentent moins de 1 % (en masse) de la masse d'échantillon engagée lors du fractionnement. Les *n*-alcanes, autres composés présents dans les cires, ont également été détectés en très faible quantité dans ces échantillons (moins de 1 %).

Les esters lourds. La distribution des esters lourds présents dans les échantillons de Deir el-Médineh s'étend du terme en C<sub>38</sub> au terme en C<sub>50</sub>. Elle est dominée par les termes pairs, mais contrairement à la cire d'abeille, les termes impairs y sont également présents (Figure 2.28). La complexité des spectres de masse obtenus pour ces esters lourds a permis la mise en évidence des co-élutions d'esters. Les esters caractérisés par un même nombre d'atomes de carbone et donc de même formule brute, présentent des temps de rétention similaires. Les règles de fragmentation de ces composés sont les mêmes que celles décrites précédemment pour les esters de l'acide palmitique (Budzikiewicz et al., 1964; Regert et al., 2005; Zhang et al., 2010). Ainsi, la présence des fragments m/z 257 et m/z 285, dans les spectres de masse des esters lourds, indique des co-élutions d'esters d'acides palmitique et stéarique (Figure 2.29). Par exemple le palmitate d'hexacosanyle et le stéarate de butacosanyle, tous deux de formule brute C42H84O2 co-éluent et le spectre de masse correspondant présente des fragments provenant de ces deux molécules. Ces co-élutions d'esters ressemblent à celles décrites précédemment, et qui avaient été identifiées comme provenant de cire végétale (Ribechini et al., 2008b). Le problème de résolution (pics correspondant aux esters lourds sous forme de bosses) semble être lié à l'injecteur que nous utilisons en GC-MS (cf. Partie expérimentale). Malheureusement, comme le plus souvent les esters lourds sont présents à l'état de trace, il n'a pas été possible de comparer toutes les distributions entre elles. Il semblerait que dans le cas des échantillons E16415, E16458 et E16487, cette distribution est centrée sur le terme en C<sub>42</sub>, ce qui pourrait indiquer une substance végétale initiale commune. Dans le cas des autres échantillons une telle conclusion est impossible à formuler.

\_ Nous avons constaté la présence d'autres co-élutions dans les chromatogrammes des fractions des esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, correspondant à des co-élutions d'esters à chaînes carbonées plus courtes (Figure 2.28). De la même manière que pour les esters lourds, il s'agit majoritairement d'esters des acides myristique, palmitique, stéarique et eicosanoïque. Le principe, ainsi que les règles de fragmentation décrites précédemment, sont donc également applicables dans ce cas là. Pour les esters de l'acide myristique, le fragment majoritaire est le fragment m/z 159, alors que ceux de l'acide eicosanoïque, le fragment principal est le fragment m/z 313. Afin de mieux comparer les différents profils obtenus, nous avons choisi de réaliser une comparaison en fonction du nombre d'atomes de carbone qui compose la partie alcool de l'ester. Différentes distributions ont été mises en évidence. On distingue les échantillons dont la partie alcool est centrée sur 8 atomes de carbone (E16421, E16415), sur 18 atomes (E16458), sur 8 et 18 atomes (E16444, E16439), sur 15 atomes (E16438, E16420) et sur 17 atomes (E16487, E16443). Quand on parle de distribution d'esters dont la partie alcool est centrée sur 18 atomes de carbone, cela signifie que le palmitate d'octadecanyle et le stéarate d'octadecanyle sont majoritaires (dans le cas où seuls les esters des acides palmitique et stéarique sont présents). Ces co-élutions d'esters n'ont jamais été décrites dans la littérature, que ce soit dans le cas des cires végétales ou dans celui de résidus archéologiques. Ainsi, il n'est malheureusement pas possible de connaître leur origine. Cependant, d'un point de vue purement hypothétique, elles pourraient résulter d'une cire végétale ou du mélange entre un corps gras et une substance végétale, du mode de préparation (enfleurage à chaud ou à froid), ou encore des conditions d'enfouissement et de dégradation de l'échantillon. Chaque distribution spécifique de ces composés peut avoir une origine différente.



Figure 2.28 : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Figure 2.28 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Figure 2.28 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.

#### E16420



Figure 2.28 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Figure 2.28 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse et fragmentogrammes de masse des fractions contenant les esters des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Figure 2.29 : Spectres de masse des principaux esters lourds présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh (esters en C<sub>42</sub>, C<sub>44</sub> & C<sub>46</sub>).



Figure 2.29 (suite) : Spectres de masse des principaux esters lourds présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh (esters en C<sub>42</sub>, C<sub>44</sub> & C<sub>46</sub>).

- Les alcanes. En plus des co-élutions d'esters lourds, les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh sont caractérisés par une distribution de *n*-alcanes s'étendant du terme *n*- $C_{18}$  au terme *n*- $C_{33}$ , et présentant une prédominance impaire marquée à partir du terme *n*- $C_{23}$ . Selon les échantillons, les termes *n*- $C_{27}$ , *n*- $C_{29}$  ou *n*- $C_{31}$  sont majoritaires (Figure 2.30). Ce type de distribution a déjà été décrit dans le Chapitre 1 lors de la présentation des cires cuticulaires et des cires d'abeilles. Des alcanes ramifiés ont également été détectés dans tous les échantillons, à l'exception de l'échantillon E16487. Ce type de composés, jamais décrit dans les cires d'abeilles, a au contraire été détecté dans les cires cuticulaires (*cf.* Chapitre 1). Dans le cas des échantillons E10719, E16420, SN1, E16444, E16438 et E16415, nous constatons que les distributions des alcanes ramifiés sont très similaires et sont caractérisées par une prédominance des termes pairs (tout particulièrement par les termes en  $C_{28}$  et  $C_{30}$ ). Cette similitude pourrait indiquer une origine végétale commune qui n'a pas pu être identifiée. Nous constatons que cette distribution dans les échantillons

E16439 et E16458 est différente puisque seuls les alcanes ramifiés du terme  $C_{29}$  sont présents, ce qui semble indiquer une origine végétale différente de la précédente.

Dans le cas particulier des échantillons E16487, E16432, E16438, SN1 et E16444 la présence de composés polyaromatiques (anthracène, fluoranthène, pyrène) ainsi qu'une distribution sans parité marquée des *n*-alcanes du terme n-C<sub>18</sub> au terme n-C<sub>23</sub> (termes n-C<sub>21</sub> et n-C<sub>22</sub> majoritaires pour E16487, E16432 et E16438), indiquent une contamination par les feux des cheminées de Paris et de la période d'utilisation de charbon.



Figure 2.30 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques ; *n*-C<sub>XX</sub> : alcanes linéaires, *x*-C<sub>XX</sub> : position de la ramification sur les méthyl-alcanes, (x position de la ramification non déterminée) et × indique une contamination.



Figure 2.30 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques ; n-C<sub>XX</sub> : alcanes linéaires, x-C<sub>XX</sub> : position de la ramification sur les méthyl-alcanes, (x position de la ramification non déterminée) et × indique une contamination.

.



Figure 2.30 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques ; n-C<sub>XX</sub> : alcanes linéaires, x-C<sub>XX</sub> : position de la ramification sur les méthyl-alcanes, (x position de la ramification non déterminée) et × indique une contamination.


Figure 2.30 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques ; n-C<sub>XX</sub> : alcanes linéaires, x-C<sub>XX</sub> : position de la ramification sur les méthyl-alcanes, (x position de la ramification non déterminée), et × indique une contamination.



Figure 2.30 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F1 des échantillons archéologiques ; n-C<sub>XX</sub> : alcanes linéaires, x-C<sub>XX</sub> : position de la ramification sur les méthyl-alcanes, (x position de la ramification non déterminée), et × indique une contamination.

- *Composés terpéniques*. Comme nous l'avons précédemment mentionné (*cf.* Chapitre 1), la présence de composés triterpéniques (amyrine, stigmasta-3,5-dièn-7-one, et ursa-9(11),12-dièn-3-one), ubiquistes aux végétaux supérieurs, peut indiquer la présence d'une cire cuticulaire (Kolattukudy, 1969). La présence de ces composés dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh confirme la présence d'une composante végétale (Figure 2.31).



Figure 2.31 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions cétones et/ou alcools acétylés, présentant les triterpènes et les stérols présents dans les échantillons archéologiques.



Figure 2.31 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions cétones et/ou alcools acétylés, présentant les triterpènes et les stérols présents dans les échantillons archéologiques.

*Conclusion*. La présence de *n*-alcanes (distribution dominée par des termes impairs, non centrée sur le terme *n*-C<sub>27</sub>), de composés triterpéniques ainsi que les co-élutions d'esters lourds en faibles quantités (inférieures à 1 % de la masse d'échantillon engagée dans le fractionnement), confirment l'origine végétale des cires détectées dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Deux hypothèses sont possibles pour expliquer leur présence : soit elles proviennent d'une huile végétale et/ou de son procédé de préparation, ce qui semble être le cas des échantillons E10719, E14602 et E16465 (esters lourds présents à l'état de trace), soit elles résultent d'une autre substance végétale ajoutée au corps gras. Ceci nous a amené à considérer la technique d'enfleurage (technique décrite par la suite) utilisée à l'époque et mettant en jeu des feuilles ou des fleurs. L'origine des co-élutions d'esters plus légers, également présentes dans tous les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, n'a malheureusement pas pu être déterminée. Leur présence est-elle liée à la présence de la cire végétale, au mode de préparation de l'échantillon, ou encore au vieillissement de la matière organique ?

#### IV.2) Absence des résines

Les résines sont des exsudats de plantes et d'arbres. Elles étaient utilisées depuis l'Egypte ancienne pour préparer l'encens, mais elles entraient également dans la composition de remèdes, de cosmétiques ou encore de parfums (Hairfield and Hairfield, 1990). Voici une liste non exhaustive des résines qui auraient pu être utilisées durant la XVIII<sup>ème</sup> dynastie.

#### IV.2.1) Résines diterpéniques

Les principaux producteurs de résines diterpéniques sont les arbres appartenant à l'ordre des Conifères (seuls Gymnospermes à synthétiser de la résine). Nous avons détecté des traces d'acide déhydroabiétique et d'acide 7-oxo-déhydroabiétique (Figure 2.32) dans l'échantillon archéologique E16432 qui contient très probablement une huile siccative ou semi-siccative. Les quantités de ces composés trop faibles pour conclure à l'ajout volontaire d'une résine ditérpénique, sont plus probablement le résultat d'une contamination.





Figure 2.32 : Structures des acides caractéristiques des résines diterpéniques.

## IV.2.2) Résines triterpéniques

Les résines triterpéniques sont synthétisées par de nombreuses familles appartenant à la division des Angiospermes (plantes à fleurs). Il existe plusieurs types de résines triterpéniques :

• *Résines thérébinthe et mastic.* La résine de térébinthe provient des arbres de l'espèce *Pistacia terebinthus*, abondants depuis les anciens temps dans la région Méditerranéenne. Elle était utilisée dans l'ancienne Egypte pour l'encensement. La résine Mastic est secrétée par des arbres de l'espèce *Pistacia lentiscus*, également originaire de la Méditerranée. Cette résine était utilisée dans l'Egypte ancienne pour la préparation de remèdes et des baumes d'embaumement (Hairfield and Hairfield, 1990).

Quatre acides majoritaires sont spécifiques des résines du genre *Pistacia*. Il s'agit des acides oléanoique, moronique, masticadiénonique et *iso*-masticadiénonique (Figure 2.33).





• *L'encens/oliban*. L'encens ("frankincense") ou oliban ("olibanum") est une résine aromatique, obtenue à partir des arbres appartenant au genre *Boswellia*. Il s'agit d'une gomme résine aromatique utilisée comme encens dans les rituels religieux. La première preuve de l'utilisation de cette résine en tant qu'encens provient d'encensoirs datés de l'Ancien Empire Egyptien (2575-2150 av. J.-C.).

Les acides boswelliques, leurs dérivés acétylés (Figure 2.34) et l'acide  $3\alpha$ -hydroxy-lup-20(29)-èn-oique, composés majoritaires de ce type de gommes résines, sont utilisés comme marqueurs spécifiques de l'identification de celles-ci (Evershed *et al.*, 1997b; Mathe *et al.*, 2004; Van Bergen *et al.*, 1997).



Figure 2.34 : Structures des triterpènes pentacycliques, utilisés comme marqueurs moléculaires des encens modernes et archéologiques.

Ces structures, ainsi que leurs dérivés, ont été recherchés en vain dans les échantillons archéologiques provenant de Deir el-Médineh : il n'y a pas de résines triterpéniques dans ces poteries.

#### IV.2.3) Résines aromatiques/balsamiques de type Storax et Benjoin

Les résines Storax et Benjoin (benzoe ou benzoin), abondantes dans le bassin méditerranéen, proviennent des arbres appartenant aux genres *Styrax* et *Liquidambar*. Contrairement aux résines citées précédemment, celles-ci ne sont pas d'origine terpénique : elles sont composées d'acides, d'alcools et d'esters aromatiques. Les principaux composés de ces deux résines sont l'acide cinnamique, l'acide benzoïque, et l'alcool cinnamique (Figure 2.35) (Modugno *et al.*, 2006; Pastorova *et al.*, 1997). La résine benjoin est caractérisée par la présence de la 4-hydroxy-benzaldéhyde, de la vanilline, et des acides 3- et 4-hydroxy-

benzoïques. La résine de storax contient quant à elle du 4-hydroxy-benzènepropanol, de l'acide *p*-hydroxy-cinnamique, de la 3-phenyl-2-propanol et des acides tritérpéniques des types oléanonique et oléanolique (Modugno *et al.*, 2006).



Acide cinnamique



Alcool cinnamique



Acide benzoïque

Figure 2.35 : Structures des principaux composants des résines aromatiques.

L'absence de ces structures dans les échantillons de Deir el-Médineh, permet d'exclure l'utilisation de ce type de résine dans la composition de ces mélanges.

De manière générale, l'absence de biomarqueurs de résines végétales, permet d'exclure l'utilisation de celles-ci dans les échantillons de Deir el-Médineh.

#### IV.3) Onguents archéologiques

# IV.3.1) Description des onguents

*Généralités*. Les onguents (ou pommades) appartiennent à la famille des cosmétiques au même titre que les fards. Les cosmétiques égyptiens avaient plusieurs fonctions : esthétique, hygiénique, thérapeutique et religieuse (Cotte *et al.*, 2005). Les fards se présentent généralement sous la forme de poudre, principalement minérale, dans laquelle des graisses peuvent être ajoutées afin d'en modifier la texture, et ainsi s'assimiler aux onguents. Les onguents sont définis comme étant des substances grasses ou résineuses, de consistances molles, pâteuses et d'usages divers. Certains onguents utilisés en tant que cosmétiques ou

remèdes ont été décrits comme étant des mélanges complexes composés d'une base lipidique et minérale, dans laquelle sont ajoutés des produits végétaux et/ou animaux selon leurs propriétés odorantes, médicales et de leurs textures (Baeten *et al.*, 2010).

*La base minérale*. Cette fraction peut représenter jusqu'à 30 % du résidu total. Les éléments qui peuvent y être détectés sont le calcium, le soufre et le plomb. Des analyses par microdiffraction des RX ont révélé la présence de galène (PbS), de cérusite (PbCO<sub>2</sub>), et celle de la phosgènite (PbCO<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>), qui n'existe pas à l'état naturel (Cotte *et al.*, 2005).

La base lipidique. Cette base lipidique peut être constituée d'une graisse animale, d'une huile végétale (Colombini *et al.*, 2005a) ou d'un mélange des deux (Baeten *et al.*, 2010). L'huile végétale la plus souvent décrite dans les onguents égyptiens est l'huile de moringa : c'est ce qu'a révélé notamment l'analyse d'un onguent daté de 150 à 100 av. J.-C., présent à l'intérieur d'un vase en albâtre supposé d'origine égyptienne, retrouvé dans une tombe étrusque en Italie (Colombini *et al.*, 2009; Serpico and White, 2000). Cependant, comme nous le développerons par la suite, d'autres huiles végétales, telles que l'huile d'olive, peuvent également être utilisées (*cf.* Chapitre 4).

De la graisse animale est souvent ajoutée au mélange pour en augmenter la viscosité (Agozzino *et al.*, 2007). Il arrive parfois que les triglycérides aient été totalement hydrolysés, et seuls les acides gras libres sont présents (Cotte *et al.*, 2005)

#### Les autres substances naturelles parfois présentes dans les onguents.

- La présence de cire d'abeille a été mise en évidence lors de l'analyse d'un onguent daté du  $16^{eme}$  siècle, retrouvé en Belgique (Baeten *et al.*, 2010) : il semble qu'elle ait été ajoutée afin de modifier la texture de cet onguent.

- Les cires épicuticulaires sont plus rarement décrites dans la littérature. A notre connaissance, l'unique mention de celles-ci dans la littérature est relative à l'analyse d'un onguent de l'époque romaine, retrouvé en Italie (Ribechini *et al.*, 2008b). Ces cires résulteraient de l'enfleurage ou de la macération de fleurs ou de feuilles dans un corps gras. Il est important de rappeler que les cires végétales ne sont pas ajoutées volontairement : elles sont inhérentes à la présence initiale d'une substance végétale aujourd'hui disparue.

- Il apparait également que des résines auraient été utilisées pour fixer les parfums. Ainsi, la présence de résines diterpéniques de conifères a été révélée dans des résidus d'onguents égyptiens datés de la Période Romaine (Colombini *et al.*, 2005a; Ribechini *et al.*,

2008b), ainsi que dans des pots à onguent de la Grèce Antique ( $5^{eme}$  siècle av. J.-C.) (Agozzino *et al.*, 2007). Des mélanges de plusieurs résines sont également mis en évidence : ainsi, l'analyse d'un onguent d'origine égyptienne découvert dans une tombe étrusque a permis de détecter un mélange de résine de conifères et de mastic (Colombini *et al.*, 2009).

*Mode de préparation*. Les analyses d'anciens cosmétiques égyptiens, et tout particulièrement celles menées sur de nombreux fards par le centre de recherche et de restauration des musées de France (C2RMF, Paris) en partenariat avec L'Oréal ont permis de connaitre leur composition et leur mode de préparation. Il a ainsi été constaté que la base minérale des fards et onguents égyptiens est essentiellement composée de plomb. Les principaux minéraux à base de plomb sont la galène (PbS), présente dans les fards noirs et les khôls, ainsi que la cérusite (PbCO<sub>3</sub>), que l'on retrouve dans les fards de teintes plus claires, car de couleur blanche. La laurionite (PbOHCI) et la phosgénite (Pb<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>Cl), espèces n'existant pas ou sous forme de traces à l'état naturel, sont également présentes. Il est donc probable que ces espèces aient été synthétisées grâce à la chimie en solution pratiquée depuis 2000 ans av. J.-C (Cotte *et al.*, 2005; Martinetto *et al.*, 2001). Pour cela, les égyptiens broyaient de l'écume d'argent purifié (c'est-à-dire de l'oxyde de plomb), qu'ils mélangeaient ensuite dans de l'eau à du sel gemme et du natron (essentiellement des carbonates de sodium), avant de filtrer le mélange. Cette opération était répétée quotidiennement, durant plusieurs semaines.

Les sels de plomb ont également été mélangés à des corps gras afin d'obtenir des savons de plomb. En témoigne une recette de traitement de la peau et des yeux, mentionnée sur un papyrus égyptien daté de 1500 av. J.-C., qui consistait à mélanger une graisse avec des sels de plomb avant de chauffer le tout et d'y ajouter la phosgénite permettant d'ajuster la couleur du mélange (Cotte *et al.*, 2005; Cotte *et al.*, 2006).

Cependant, tous les onguents égyptiens ne sont pas constitués d'une fraction minérale et d'une fraction lipidique. En effet, certains ne contenant pas de partie minérale, sont constitués d'une base lipidique pouvant être mélangée à d'autres substances naturelles. L'analyse d'un cosmétique égyptien provenant d'une jarre scellée en calcite retrouvée dans la tombe de Toutankhamon (XVIII<sup>ème</sup> dynastie), semble présenter de nombreuses similitudes avec les échantillons de Deir el-Médineh (Chapman and Plenderleith, 1926). L'aspect physique de ces échantillons est globuleux, gluant, et de coloration jaune-orangée. D'un point de vue

moléculaire, l'ensemble des triglycérides apparait hydrolysé et la distribution des acides linéaires est dominée par les acides palmitique et stéarique. Malgré l'absence de stérols et la présence de dihydroxyacides provenant de la dégradation des acides gras insaturés présents initialement dans le corps gras, les analystes de l'époque ont conclu à la présence d'une graisse d'origine animale. La présence de cire n'a pas été détectée, peut-être en raison du protocole expérimental et des méthodes analytiques moins performantes dans les années 1930. Ce cosmétique a donc été identifié comme étant composé à 90 % de graisse animale et à 10 % d'une oléo-résine, en raison de l'odeur qu'il dégage en fondant sur la peau.

Suite à ces différentes études décrites dans la littérature, nous avons cherché à déterminer si les échantillons de Deir el-Médineh contenaient ou non une charge minérale et à déterminer leur température de fusion. Nous avons également analysé deux onguents archéologiques d'origine égyptienne, contemporains de ceux de Deir el-Médineh.

# IV.3.2) Charge minérale et température de fusion des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh

*Charge minérale*. L'absence de charge minérale et de métaux a été confirmée dans nos échantillons par des analyses en fluorescence X (*cf.* Partie expérimentale).

*Température de fusion*. Les points de fusion ont été déterminés par calorimétrie différentielle à balayage (Differential Scanning Calorimetry - DSC), pour deux échantillons archéologiques d'aspect pâteux (*E16458* et *E16449*, *cf*. Partie expérimentale). Les analyses par GC-MS indiquent que l'échantillon E16458 est composé d'une graisse animale du type monogastrique en mélange avec une cire épicuticulaire. La nature du corps gras présent dans l'échantillon E16449 semble quant à elle plus complexe, puisqu'il pourrait s'agir d'un mélange de graisse animale et d'huile végétale, en plus d'une cire épicuticulaire.

Il est important de noter que le point de fusion des huiles et des graisses dépend fortement du profil des acides gras, et que ce profil change au cours de la dégradation de ces derniers. Ainsi, plus il y a d'acides gras insaturés et/ou à chaînes courtes, plus le point de fusion est bas. Les températures de fusion (supérieures à 40°C) obtenues pour les deux échantillons archéologiques sont cohérentes avec celles correspondants aux graisses animales provenant de ruminants (Tableau 2.3). Cependant, il est fort probable que les températures de fusion des échantillons archéologiques ne soient pas les mêmes qu'initialement, c'est-à-dire avant la dégradation. Les résultats obtenus en GC-MS et DSC sont en désaccord, concernant l'échantillon E16458. Dans ce cas particulier, la température de fusion supérieure à 40°C indique une graisse de ruminant contrairement aux résultats moléculaires qui indiquent une graisse porcine. La DSC ne semble pas être une technique adaptée pour préciser l'origine biologique des corps gras fortement dégradés présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Ces mesures n'ont pas été réalisées sur d'autres échantillons.

	Température de fusion (°C)
Echantillon archéologique	
E16458	42-43
E16449	45
Graisse animale	
Ruminant (suif)	>40
Porc (lard)	< 40 (32-38)
Huile végétale	
Huile d'olive	-3
Huile de palme	23-30
Huile de lin	-19

 Tableau 2.3 : Températures de fusion des échantillons archéologiques E16458 et E16449, ainsi que de graisses et d'huiles modernes (Karleskind, 1996).

### IV.3.3) Analyses de deux onguents archéologiques utilisés comme référence

#### IV.3.3.i) Descriptions des échantillons

Deux onguents égyptiens contemporains des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh ont été analysés puis comparés entre eux. De nombreuses différences ont ainsi été constatées. L'onguent 1938 (référencé au Musée du Louvre sous la cote N 1114) provient d'une jarre à anse en albâtre égyptien (ou calcite, CaCO<sub>3</sub>), d'une hauteur de 33,9 cm et d'un diamètre de 22,3 cm, datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie et sur laquelle apparait l'inscription « huile bak ». Dans l'Egypte ancienne, la calcite renforçait la nature sacrée et la pureté d'un objet. L'inscription « huile bak » semble indiquer la présence de l'huile de moringa (famille de *Moringaceace*), mais il n'est pas impossible que cette jarre ait été réutilisée et qu'elle contienne une autre substance. L'échantillon se présente sous la forme d'une poudre fine, homogène et de couleur beige. Un extrait organique de 7,4 % a été obtenu à partir de l'échantillon brut.

L'onguent 1940 (référencé au Musée du Louvre sous la cote N 1142 B) provient d'une petite jarre à anse cassée en albâtre égyptien laissant voir son contenu, d'une hauteur de 16,7 cm et d'un diamètre de 9 cm, datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie. L'échantillon se présente sous la forme d'une poudre grossière, inhomogène : on y distingue la présence de grains bruns à oranges. Un extrait organique de 5,4 % a été obtenu à partir de l'échantillon brut.

Etant donné que les onguents sont susceptibles de contenir des métaux, et soupçonnant la présence de calcium suite aux interactions du contenu avec l'albâtre, des analyses par fluorescence X ont été réalisées sur ces deux échantillons (Figure 2.36, Communication personnelle A. Charrié). La présence de métaux a été confirmée : du calcium et du strontium ont essentiellement été mis en évidence dans l'onguent 1938 tandis que très peu de calcium mais surtout du fer et du plomb ont été détectés dans l'onguent 1940.



Figure 2.36 : Spectres de fluorescence X des onguents 1938 et 1940.

En suivant le même protocole analytique que pour les échantillons de Deir el-Médineh, le fractionnement des extraits organiques de ces deux onguents a montré qu'ils étaient principalement constitués de composés polaires (alcools, acides) et polyfonctionnalisés (75 % et 90 % par rapport aux extraits organiques pour les onguents 1938 et 1940 respectivement).

# IV.3.3.ii) Caractérisation moléculaire de l'onguent 1938 & comparaison avec les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh

*Corps gras.* L'absence de triglycérides a été confirmée par spectrométrie de masse en mode introduction directe. Ceux-ci ont été totalement hydrolysés en acides gras « libres », dont la distribution s'étend du terme n-C<sub>12</sub> au terme n-C<sub>28</sub>, avec les acides oléique (C<sub>18:1</sub>), palmitique (C<sub>16:0</sub>) et stéarique (C<sub>18:0</sub>) majoritaires. L'absence d'acides gras ramifiés ainsi que la présence de l'acide oléique en quantité importante et du sitostérol, indiquent l'utilisation d'un corps gras d'origine végétale. Des produits d'oxydation de l'acide oléique sont également présents : traces de diacides tels que l'acide azélaïque et de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque (Figure 2.37). Ces constatations sont très différentes de celles faites pour les échantillons de Deir el-Médineh (absence d'acides gras insaturés, et présence en quantité importante de diacides et d'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque) et pourraient

indiquer la présence d'huile végétale de siccativité différente. Dans le cas des échantillons de Deir el-Médineh, il s'agirait plutôt d'huile végétale siccative ou semi-siccative, alors que pour cet onguent l'hypothèse d'une huile non-siccative est la plus probable.

De plus, contrairement aux échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, les produits de dégradation des corps gras que sont les lactones, les carboxylactones et les 4-oxo-diacides n'ont pas été détectés. D'autres produits de dégradation qui n'ont pas été identifiés sont uniquement présents dans cet onguent.

De manière générale, l'absence de TAG et la faible quantité de produits d'altération pourraient être liées à plusieurs paramètres : un mode de préparation différent (chauffage ?), des conditions de conservation différentes, l'utilisation d'huile végétale de siccativité différente.



Figure 2.37 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés (fraction F3) dans l'onguent 1938 ; diC<sub>xx</sub> : diacides.

*Cire d'abeille*. La présence de cérides pairs (esters lourds de l'acide palmitique), caractérisés par un pic de base à m/z 257 dans le spectre de masse, est spécifique de la cire d'abeille (Figure 2.38). Le terme n-C<sub>27</sub> majoritaire dans la distribution des n-alcanes (Figure 2.40), serait lui-aussi une preuve de la présence de cire d'abeille. Contrairement aux échantillons de Deir el-Médineh, aucune co-élution d'esters (ni à chaînes longues, ni à chaînes courtes) n'est détectée, excluant ainsi la présence de cire épicuticulaire.



Figure 2.38 : Fragmentogramme de masse *m/z* 257 de la fraction contenant les hydrocarbures et les esters de l'onguent 1938 ; C<sub>XX</sub> : nombre d'atomes de carbone de l'ester.

Substance végétale provenant de conifères. Deux composés dérivant de l'acide abiétique sont détectés dans cet onguent. Il s'agit de l'acide déhydroabiétique et de l'acide 7-oxodéhydroabiétique (Figure 2.37, Figure 2.39). La présence de ces composés ainsi que celle du rétène indiquent la présence d'une résine diterpénique, c'est-à-dire de conifère.



Figure 2.39 : Spectres de masse de l'acide déhydroabietique et de l'acide 7-oxo-déhydroabiétique, présents sous forme d'esters méthyliques dans les fractions des acides et des composés polyfonctionnalisés de l'onguent 1938.

*Bitume*. Des biomarqueurs caractéristiques des bitumes sont présents. Il s'agit du pristane et du phytane (Figure 2.40), produits pétroliers formés suite à la transformation du phytol dans le sous-sol, ainsi que des hopanes et des stéranes. La présence de composés polyaromatiques tels que les phénanthrènes, les anthracènes et les fluoranthrènes, structures typiquement pyrolytiques, associées à celle de biomarqueurs de bitume semblent indiquer une contamination externe par l'atmosphère ambiante (pollution par les feux domestiques) plutôt qu'un ajout volontaire de bitume. La distribution des *n*-alcanes sans parité marquée, avec quelques composés ramifiés, n'est pas diagnostique (Figure 2.40).



Figure 2.40 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les hydrocarbures saturés et aromatiques présents dans l'onguent 1938 ; C<sub>XX</sub> : nombre d'atomes de carbone, \* : composés ramifiés.

*Conclusion*. L'onguent 1938 est constitué d'une huile végétale peu siccative, d'une cire d'abeille et d'une résine de conifère présente à l'état de trace. Cet onguent diffère des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, à la fois en ce qui concerne la fraction minérale (inexistante dans les échantillons de Deir el-Médineh) et la fraction organique (absence de cire végétale et présence d'une huile végétale dégradée dont les caractéristiques sont distinctes). Des modes de préparation différents (chauffage ou non), des conditions d'enfouissement distinctes ou encore la nature de l'huile végétale utilisée peuvent expliquer ces nombreuses dissemblances.

# IV.3.3.iii) Caractérisation moléculaire de l'onguent 1940 & comparaison avec les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh

L'analyse moléculaire de cet onguent montre un mélange moins complexe que le précédent. Ni bitume, ni cire végétale ou animale n'ont été détectés.

*Corps gras.* L'absence de triglycérides a été confirmée par spectrométrie de masse en mode introduction directe. Ceux-ci ont été totalement hydrolysés en acides gras « libres », dont la distribution s'étend du terme n-C<sub>14</sub> au terme n-C<sub>26</sub>, les acides palmitique (C<sub>16:0</sub>) et stéarique (C<sub>18:0</sub>) étant majoritaires (Figure 2.41). La présence d'acides gras ramifiés est indicatrice de la présence d'une graisse animale, alors que celle de l'acide oléique (C<sub>18:1</sub>) en faible quantité, couplée à celle de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque en quantité très importante (ce qui est surprenant et énigmatique), indiquent plutôt la présence d'une huile végétale dont la siccativité ne peut être déterminée. La nature de ce corps gras est différente de celle décrite dans l'onguent précédent et dans les échantillons de Deir el-Médineh. L'hypothèse d'un mélange entre une graisse et une huile végétale semble être la plus probable. Cependant, contrairement aux échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, les produits d'oxydation des acides gras insaturés tels que les diacides, les lactones, les carboxylactones ainsi que les 4-oxo-diacides n'ont pas été détectés. Ces observations soulèvent les mêmes interrogations que celles déjà soulevées pour l'onguent précédent : quels ont été le mode de préparation et les conditions d'enfouissement ?

Substance végétale provenant de conifères. La présence de l'acide déhydroabiétique ainsi que celle du rétène (à l'état de trace), indiqueraient la présence d'une résine diterpénique.



Figure 2.41 : Fragmentogramme de masse *m/z* 74 montrant la distribution des *n*-acides dans l'onguent 1940 ; \* : acides ramifiés.

*Conclusion*. Cet onguent semble être constitué d'une base minérale et d'un mélange de corps gras, à savoir une graisse animale et une huile végétale. Nous ne disposons pas d'assez d'informations pour savoir si cette huile est siccative ou non. Cette base lipidique est différente de celle présente dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, qui étaient caractérisés par des TAG et leurs produits d'oxydation et d'hydrolyse (diacides, acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque, lactones, DAG, MAG et FA). Ces nombreuses différences pourraient indiquer l'utilisation de corps gras différents, mais soulèvent également des questions concernant les modes de préparation et les conditions d'enfouissement, dont les rôles sont également très importants.

Cependant, il y a de nombreuses différences car dans les poteries de Deir el-Médineh, les résines n'ont pas été détectées et les cires présentes étaient d'origine végétale.

## IV.4) Analyse de l'absolue de jasmin

#### IV.4.1) La technique de l'enfleurage

L'enfleurage, technique connue depuis l'Egypte ancienne, a été pratiqué jusqu'au XX<sup>ème</sup> siècle en parfumerie (Fragonard, Molinard, Gallimard). Cependant étant très coûteuse, cette technique n'est plus utilisée à l'heure actuelle, à des fins commerciales. L'enfleurage consiste à extraire le parfum contenu dans des fleurs : on distingue l'enfleurage à froid, utilisé pour des fleurs très fragiles telles que le jasmin et la tubéreuse, de l'enfleurage à chaud, principalement utilisé pour la rose et la fleur d'oranger (Naves, 1990; Sozio, 1956).

Pour l'enfleurage à froid réalisé avec des graisses, on utilise des châssis, c'est-à-dire des vitres encadrées de bois sur lesquels la graisse repose (Figure 2.42). Lorsque des huiles sont utilisées, des toiles imbibées d'huile sont supportées par un treillis métallique. Le mélange de graisse ou « pommade » est composé d'axonge (graisse de porc fondue préparée à partir des pannes) et de suif (graisse de ruminant fondue), préalablement purifiés. La composition de la pommade dépend fortement de la température régnant dans l'atelier d'enfleurage : il faut que cette pommade soit assez dure pour que la fleur n'y adhère pas mais assez tendre pour que la surface puisse être facilement renouvelée (par peignage et pâtage), afin que son pouvoir d'absorption reste maximal. Il est également important que la graisse soit de bonne qualité et qu'elle soit correctement purifiée. Ainsi, après purification, l'axonge est composée de 60 % de palmitine et stéarine ainsi que de 40 % d'oléine. En mélangeant cette graisse avec du saindoux, on abaisse le point de fusion (normalement de 40 à 42°C). Des antioxydants tels que l'hydroquinone, la pyrocatéchine, le butylhydroxyanisole, etc., sont ajoutés afin d'éviter le rancissement de la pommade. En France, l'enfleurage avec des huiles végétales est généralement très peu utilisé. Les huiles végétales principalement utilisées sont : l'huile d'olive, l'huile d'amande douce ou encore l'huile de moringa. Les fleurs doivent être saines et séchées, avant d'être déposées sur la pommade. Elles sont remplacées une fois leur parfum exhalé en presque totalité et lorsqu'elles commencent à se faner (soit par exemple 12 à 30 heures dans le cas du jasmin). Ainsi, pour obtenir un kilo d'essence absolue de jasmin, il faut recueillir environ sept millions de fleurs. L'essence de pommade est obtenue en réalisant un extrait alcoolique, à partir de graisse saturée de matière parfumée.



Figure 2.42 : Photographies d'enfleurages à froid de la rose et du jasmin.

L'absolue résulte de l'extraction de la pommade par un solvant volatil. Les fleurs qui ont été enlevées du châssis sont odorantes et ont entrainé de la pommade. Pour récupérer leur parfum et la pommade, elles sont traitées à l'hexane, à l'acétone, à l'acétate d'éthyle ou à l'éther de pétrole : on obtient ainsi une concrète (Figure 2.43). La macération (également appelée digestion ou enfleurage à chaud) consiste à immerger de la matière végétale dans des graisses ou des huiles chauffées entre 50 et 70°C dans des cuves de métal. Les fleurs sont ensuite séparées de la pommade par filtration.

Les techniques d'enfleurage ont changé durant les années 1990, car à partir de cette date, l'utilisation de produit d'origine animale (suif et saindoux) a été interdite. Les bases grasses d'origine végétale ont alors été utilisées durant une quinzaine d'année, mais elles ne le sont plus à l'heure actuelle.



Figure 2.43 : Techniques d'extraction des substances parfumées (Fortineau, 2004).

#### IV.4.2) Caractérisation moléculaire de l'absolue de jasmin

L'absolue de jasmin provient de la société Robertet, spécialisée dans les produits aromatiques naturels. En raison du « secret de fabrication », aucune information sur le mode de production de l'absolue ne nous a été dévoilée, mais il nous a été assuré que la composition chimique était la même que celle de l'absolue produit par enfleurage.

L'absolue de jasmin contient au minimum 200 composés, dont l'acétate de benzyle, le benzoate de benzyle, le phytol, etc. (Fortineau, 2004). L'odeur de jasmin est due à la présence de la *cis*-jasmone et du *cis*-jasmonate de méthyle (Figure 2.44).

Ces principaux composés très volatils ont été identifiés dans l'absolue de jasmin que nous avons analysé après fractionnement par CCM (élution au DCM), (Figure 2.45). Les TAG, ainsi que les cires ne sont pas détectés : ils sont sans doute éliminés lors de la reprise de la pommade dans l'éthanol afin d'obtenir l'absolue. Des produits de l'hydrolyse des TAG sont présents : il s'agit du monoglycéride en  $C_{16}$  et d'acides gras insaturés ( $C_{18:2}$  et  $C_{18:3}$ ) et saturés ( $C_{16}$  et  $C_{18}$ ).

En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, on constate que dans ces derniers, les composés extrêmement volatils ne sont plus présents. La même observation est faite concernant les acides gras insaturés, totalement dégradés dans les échantillons archéologiques.

La comparaison de nos échantillons archéologiques avec l'absolue de jasmin n'a donc pas été concluante. Il aurait été intéressant de travailler sur une pommade, ce qui malheureusement n'a pas été possible étant donné qu'elles ne sont plus produites aujourd'hui. Des essais d'enfleurage en laboratoire sont envisagés lors de la poursuite de l'étude de ces échantillons.



Figure 2.44 : Structure des principaux composés présents dans l'absolue de jasmin.



Figure 2.45 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les alcools, les acides et les composés polyfonctionnalisés après acétylation et méthylation, obtenue suite au fractionnement de l'absolue de jasmin ; Mxx : nombre d'atomes de carbone dans les parties acyles des MAG.

Il n'apparait donc pas impossible que les échantillons de Deir el-Médineh aient initialement contenu des composés volatils (suite à l'enfleurage) ayant disparu au cours du vieillissement.

#### IV.5) Conclusion

Sur la base des résultats obtenus par GC-MS, il a été possible de différencier les échantillons provenant de Deir el-Médineh. Ainsi, il semble que dans le cas des échantillons présents dans des bouteilles et flacons (E10719, E14602 et E16465), ainsi que dans les pots dont la substance était élastique (E16419, E16432, E16438 et E16415), la présence en quantité importante de diacides et de dihydroxyacides indique la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative. Pour les échantillons E16487 et E16427, la présence de diacides en quantité importante et celle de dihydroxyacides en faible quantité semblent indiquer l'utilisation d'une huile siccative ou semi-siccative dont l'origine ou le mode de préparation sont différents de celles des autres échantillons. Dans le cas particulier de l'échantillon

E16443, le profil dominé par les acides palmitique et stéarique, et marqué également par la présence de diacide et dihydroxyacides indiquent l'utilisation d'une huile végétale nonsiccative ou d'une graisse animale. La confirmation de l'une ou de l'autre origine n'a malheureusement pas été possible au cours de cette étude. Dans tous les autres échantillons, la présence d'une graisse animale a pu être confirmée (absence d'acides insaturés et présence d'acides gras ramifiés, de TAG et d'une quantité importante d'acides palmitique et stéarique). Sur la base des profils des acides gras liés, il a été possible de préciser l'utilisation de graisse de ruminants (mélange de  $C_{18:1}$ ) dans tous les échantillons exceptés ceux portant le numéro d'inventaire E16458 et E16439 pour lesquels l'origine de la graisse semble être monogastrique. La présence de co-élutions d'esters lourds ainsi que celle de *n*-alcanes marquée par une prédominance impaire dans tous les échantillons indiquent qu'une substance végétale était initialement mélangée aux corps gras parmi lesquels, seule la cire a pu résister aux différents phénomènes de dégradation. La nature de cette substance n'a pas pu être déterminée, mais la présence d'une résine est exclue.

Ces différentes poteries pourraient contenir des onguents, éventuellement préparés par enfleurage, ce qui pourrait expliquer qu'aujourd'hui seules les cires sont encore détectées.

Dans les échantillons provenant des bouteilles et flacons, des traces d'esters lourds caractéristiques des cires végétales ont été détectées : elles résultent probablement du mode de fabrication de l'huile, et non de l'ajout d'une substance végétale.

# V) CARACTERISATION DES ECHANTILLONS PARTICULIERS, A BASE DE SUCRES, PAR GC-MS

Les sucres sont particulièrement abondant dans le règne végétal, majoritairement sous la forme de cellulose (papier, bois, fibre végétale) et d'amidon (racine, bulbe, tubercule, graine). De nombreux résidus d'origine végétale sont retrouvés en contexte archéologique : graines, fruits, céréales, fibres végétales, objets en bois, etc. Il existe de nombreuses substances naturelles contenant des sucres connues des égyptiens de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie : on peut citer les fruits, les jus de fruits, le miel ou encore les gommes (exsudats d'origine végétale essentiellement composés d'un mélange complexe de polysaccharides). Ces dernières, très complexes, ne seront pas décrites dans ce chapitre. Ces résidus sont sensibles aux phénomènes

de dégradation et particulièrement aux processus d'origine bactérienne liés à l'enfouissement et aux conditions de conservation. Afin de pouvoir comprendre et interpréter les résultats, il est nécessaire de développer dans un premier temps les nombreuses particularités des sucres ainsi que la complexité de leur chimie. Les résultats obtenus pour les échantillons archéologiques ainsi que leur comparaison avec des substances naturelles modernes utilisées comme référence (miel, fruits, jus de fruits) seront décrits dans un second temps.

#### V.1) La chimie des sucres

#### V.1.1) Généralités sur les sucres

Les sucres (glucides, oses ou carbohydrates) sont très certainement les composés organiques les plus abondants sur Terre (Guilloton and Quintard, 2002; Mills and White, 1994b). Parmi les plus importants, on peut citer la cellulose (assurant le soutien des tissus végétaux), l'amidon et le glycogène (utilisés comme réserves de carbone organique chez les organismes vivants) ou encore la chitine (principal constituant de l'exosquelette des Arthropodes). Ils sont synthétisés lors de la photosynthèse (*cf.* Chapitre 3).

La chimie des sucres est complexe. Ils existent sous différentes formes et ils peuvent se combiner les uns aux autres. Un ose est caractérisé par une chaîne carbonée non ramifiée qui comporte nécessairement une fonction carbonyle de type aldéhyde (on parle d'aldose) ou cétone (on parle de cétose). Les autres atomes de carbone portent tous des fonctions alcools (primaires ou secondaires). Nous allons nous intéresser plus particulièrement à l'ose le plus courant : le glucose.

Le glucose est un hexose de formule brute  $C_6H_{12}O_6$ , composé de cinq groupements hydroxyles et d'une fonction aldéhyde. Les aldéhydes peuvent réagir réversiblement avec les alcools et former des hémiacétals et des acétals. Lorsque ces groupements sont sur la même molécule, on peut former des hémiacétals cycliques avec des cycles à 5 (furanose) ou à 6 atomes de carbone (pyranose) (Figure 2.46). La majorité des sucres adoptent la forme pyranose.



Figure 2.46 : Formation des acétals et hémiacétals linéaires et cycliques (du glucose).

La présence de quatre atomes de carbone asymétriques (carbones portant les fonctions alcools secondaires) dans la forme linéaire entraine l'existence de nombreux isomères, d'où le nombre très important de sucres existant. Un autre carbone asymétrique est présent quand le sucre est sous forme cyclique. On distingue alors l' $\alpha$ -glucose et le  $\beta$ -glucose (Figure 2.47).



Figure 2.47 : Structures des formes :  $\alpha$ - et  $\beta$ -glucose.

Il existe également des monosaccharides constitués de moins d'atomes de carbone. C'est le cas par exemple de l'aldose, le plus simple, avec trois atomes de carbone (triose), également appelé glycéraldéhyde. La présence d'un seul carbone asymétrique entraine la présence de deux énantiomères caractérisés par des pouvoirs rotatoires différents. On distingue ainsi le + et le – indiquant le signe de la rotation : positive (à droite ou *dextrogyre*) ou négative (à gauche ou *levogyre*) (Figure 2.48).



Figure 2.48 : Structures des deux énantiomères du glycéraldéhyde.

L'information D- et L- indique la stéréochimie globale du sucre. Elle est déterminée en comparant la configuration du carbone asymétrique le plus éloigné de la fonction carbonyle, avec celle du carbone 2 du glycéraldéhyde. Si en convention de Fisher, l'alcool de ce carbone est projeté à droite, le sucre appartient à la série D, et s'il est projeté à gauche, il appartient à la série L. Les sucres présents dans la nature appartiennent majoritairement à la série D.

La famille des D- aldoses est composée de :

- Deux sucres à quatre atomes de carbone (tétroses) : thréose et érythrose.
- Quatre sucres à cinq atomes de carbone (pentoses) : ribose, arabinose, xylose et lyxose.
- Huit hexoses : allose, altrose, glucose, mannose, gulose, idose, galactose et talose.

Le mode de représentation des structures cycliques le plus souvent utilisé est celui de Haworth (Figure 2.49). C'est celui-ci que nous allons utiliser.



Figure 2.49 : Représentations de Haworth des deux énantiomères du glucose.

Les saccharides s'assemblent entre eux et forment des polysaccharides (ou polyosides), dont les plus abondants sont la cellulose et l'amidon.

#### V.1.2) Quelques exemples de polysaccharides

#### V.1.2.i) La cellulose

La cellulose, polymère du glucose, assure le soutien des végétaux et est donc le plus abondant des composés organiques : elle est présente dans le bois, le papier et les textiles fabriqués à partir de fibres végétales frais et retrouvés en contexte archéologique. Les unités de glucose sont liées par des liaisons glucidiques de type  $\beta(1\rightarrow 4)$ , le tout étant fortement stabilisé par des liaisons hydrogènes (Figure 2.50).



Figure 2.50 : Structure de la cellulose.

La cellulose est stable face aux phénomènes d'oxydation à température ambiante, mais elle s'oxyde progressivement en présence de lumière (l'alcool primaire s'oxyde en acide carboxylique). Sous l'action des cellulases (enzymes hydrolytiques sécrétées par des champignons filamenteux ou des bactéries), elle est dégradée sous forme d'unités de glucose.

#### V.1.2.ii) L'amidon

L'amidon est une substance glucidique de réserve des végétaux, que l'on trouve au niveau des tubercules, racines, bulbes et graines. Résistant à l'autoxydation, il peut être détecté dans les échantillons archéologiques (Evershed *et al.*, 2004). Il est présent dans les cellules sous forme de grains qui sont composés d'amylose et d'amylopectine. L'amylose est constituée d'un enchaînement linéaire de molécules de glucose, liées entre elles par des liaisons glucidiques de type  $\alpha(1\rightarrow 4)$  (Figure 2.51). Cet enchaînement forme une structure secondaire en forme d'hélice, qui est stabilisée par des liaisons hydrogènes. Contrairement à l'amylose, l'amylopectine présente des ramifications placées toutes les 25 à 30 unités de glucose.



Figure 2.51 : Structure de l'amylose, constituée de 1000 à 4000 (n) unités de glucose.

#### V.1.3) Difficultés d'analyse des sucres

La chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sont des techniques analytiques bien adaptées à l'étude des sucres. Cependant, comme les sucres sont présents dans les substances naturelles sous forme de polyosides, il est nécessaire de réaliser une réaction de méthanolyse (*cf.* Partie expérimentale) afin de couper les liaisons glycosidiques et d'obtenir les monomères avant de pouvoir les analyser (Bleton *et al.*, 1996). Il est important de noter que les hexoses sous la forme méthylée et tétra-acétylée résultent de la coupure de liaison glucidique des polyosides lors de la méthanolyse, tandis que les hexoses penta-acétylés sont des oses simples.

Sur la base des spectres de masse obtenus en impact électronique et en ionisation chimique (avec l'ammoniac), il n'est pas possible d'identifier et de faire la distinction entre les sucres qui sont caractérisés par le même nombre d'atome de carbone, car ils subissent des fragmentations identiques, mais il est possible de différencier les hexoses des pentoses. Au cours de cette étude, il n'a pas été possible de différencier ces composés en fonction de leurs temps de rétention, malgré l'utilisation de sucres de références (hexoses : mannose, galactose et glucose ; pentoses : fucose, rhamnose, arabinose, xylose et ribose). La diversité de formes présentes pour chaque sucre ainsi que les temps de rétention quasi-similaires sont à l'origine de ces difficultés.

# V.2) Le miel

# V.2.1) Aspect et fractionnement

L'échantillon qui semble contenir un miel provient d'une poterie de typologie particulière : il s'agit d'un vase à deux anses, fermé par un bouchon non scellé (Figure 2.52). Cet échantillon était dur, cassant et entièrement soluble dans l'eau. Un fractionnement de l'extrait organique a été réalisé par CCM. D'un point de vue quantitatif, cet extrait organique est constitué en grande majorité de composés polyfonctionnalisés (78,3 % de l'extrait organique).



Figure 2.52 : Photographies de la poterie portant le numéro d'inventaire E16459 © G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

Un miel de référence (miel de Corse) ayant déjà été analysé au laboratoire, résultats auxquels nous pourrons comparer ceux obtenus pour l'échantillon archéologique. Le fractionnement de l'extrait organique obtenu à partir de ce miel a également révélé la présence d'une quantité importante de composés polyfonctionnalisés (65 % de l'extrait organique).

L'analyse des fractions F3 obtenues pour ces deux échantillons a révélé la présence de sucres, c'est pourquoi nous avons réalisé des méthanolyses afin de caractériser ces derniers.

#### V.2.2) Caractérisation moléculaire de l'échantillon archéologique E16459

Nous avons comparé les profils chromatographiques obtenus pour les fractions F3 et les méthanolyses de l'échantillon archéologique ainsi que du miel de Corse utilisé ici comme référence. Ces profils sont caractérisés par la présence d'hexoses dont la nature (glucose, fructose, galactose, etc.) n'a pas pu être précisée (Figure 2.53, Figure 2.54). Dans le cas du miel, il s'agit principalement de glucose et de fructose. Des massifs identifiés comme des mélanges complexes de diholosides apparaissent également dans les chromatogrammes. Ceci semble tout à fait cohérent avec le fait qu'il pourrait s'agir d'un miel dans la mesure où le miel de référence est composé de saccharose (glucose + fructose), de maltose (deux glucoses), de mélibiose (galactose + glucose) et de turanose (glucose + fructose), étant tous des diholosides (Figure 2.55). La présence d'hexoses penta-acétylés après méthanolyse, semble confirmer la présence de polysaccharides composés d'hexoses comme c'est le cas des diholosides mentionnés précédemment. Des lipides sont également présents dans le miel mais en très faible quantité : il s'agit de TAG et d'acides gras (C<sub>16</sub>, C<sub>18:1</sub> et C<sub>18:2</sub>). Ils ne sont pas visibles sur le chromatogramme provenant de la méthanolyse du miel sans doute en raison de leur faible quantité. La présence des acides palmitique et stéarique dans l'échantillon archéologique pourrait éventuellement s'expliquer par le fait qu'ils sont extrêmement bien conservés en contexte archéologique, ce qui n'est pas forcément le cas des glucides.

Au vue de ces similitudes, il semblerait que cette poterie égyptienne contienne bien un miel.



Figure 2.53 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 acétylées et méthylées de l'échantillon archéologique et du miel de référence.



Figure 2.54 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyse et acétylation de l'échantillon archéologique et du miel de référence.


Figure 2.55 : Structure des diholosides présents dans le miel (représentation de Haworth).

### V.3) Les moûts & filtrats de boisson : E14593 et E16489

### V.3.1) Description des boissons archéologiques

A l'heure actuelle, aucune analyse de moût archéologique n'a été réalisée. Cependant, des boissons anciennes provenant de jarres ont déjà été étudiées et sont décrites dans la littérature : il s'agit à la fois de vin rouge, de vin blanc et de bière. Le vin, boisson fermentée obtenue à partir du raisin est d'un point de vue moléculaire un mélange complexe d'eau et de composés organiques tels que des alcools, des aldéhydes, des acides, des sucres, des protéines, des esters et des composés aromatiques polyhydroxylés de types flavonoïdes, anthocyanes et catéchines. Pour identifier le vin, deux biomarqueurs sont utilisés (Figure 2.56) : l'acide tartrique, spécifique au raisin et l'acide syringique plus spécifique du vin rouge (Guasch-Jané *et al.*, 2006b). Dans le cas de la bière, c'est l'oxalate de calcium, composé principal, qui est utilisé comme biomarqueur (McGovern, 1998; Michel *et al.*, 1992; 1993). Plus récemment, l'ergostérol a été utilisé comme biomarqueur indiquant une fermentation alcoolique dans des résidus lipidiques provenant de poteries préhistoriques (Isaksson *et al.*, 2010). La présence de jus de raisin dans un échantillon archéologique est très peu probable car celui-ci est difficile à

conserver en raison des levures naturellement présentes dans la peau des grains et qui le transforment en vin. Ce phénomène est d'autant plus rapide que la température est élevée, favorisant ainsi l'hypothèse des vins (McGovern, 1998). D'autres types de vins préparés à partir de fruits divers tels que les dattes, les figues ou encore les grenades existent également.



Figure 2.56 : Structures des deux biomarqueurs du vin : l'acide tartrique et l'acide syringique.

D'autres substances naturelles peuvent également être ajoutées dans ces boissons, dans le but de les aromatiser ou pour leurs propriétés médicinales. Il peut s'agir de résine telle que la résine de térébinthe (McGovern *et al.*, 2009) ou encore d'huile telle que l'huile de moringa (McGovern, 1997).

Les analyses de nombreuses jarres, retrouvées intactes dans la tombe de Toutankhamon (1332-1322 av. J.-C.), ont permis d'identifier du vin blanc et de préciser la nature d'une boisson appelée *Shedeh*, qui semble être du vin rouge (Guasch-Jané *et al.*, 2006a; b). Dans l'Egypte ancienne, seuls les classes élevées et la famille royale pouvaient boire du vin. Cependant, ces boissons jouaient également le rôle d'offrandes alimentaires pour les défunts et les Dieux.

Le protocole expérimental décrit pour l'analyse de ces résidus archéologiques particuliers provenant de jarres consiste à réaliser dans un premier temps une fusion alcaline puis à rechercher les biomarqueurs du vin par LC-MS-MS (Guasch-Jané *et al.*, 2004). La GC-MS, la HPLC-UV, l'IR et la THM-GC-MS sont des techniques également utilisées pour analyser ce type de composés (Garnier *et al.*, 2003; McGovern *et al.*, 2009; Stern *et al.*, 2008).

### V.3.2) Typologies, aspects, et stratégie expérimentale

Les poteries portant les numéros d'inventaire E14593 et E16489, sont caractérisées par une typologie particulière : il s'agit respectivement d'un vase à offrande et d'un vase cigare (dont l'usage est identique), étant tous deux ouverts (Figure 2.57).



Figure 2.57 : Poteries de typologie particulière contenant les moûts © G. Pierrat-Bonnefois, Louvre.

Les échantillons provenant de ces deux poteries sont très hétérogènes (présence de fibres végétales), ce qui a induit la nécessité de les broyer. L'échantillon E16489 est friable et de couleur rouge, tandis que l'échantillon E14593 est dur et de couleur noire. Ces aspects très différents peuvent traduire un contenu différent : d'après Geneviève Pierrat-Bonnefois, il pourrait s'agir de vases à offrandes contenant des moûts ou des filtrats de bière, de vin, ou de toutes autres boissons.

Des extraits organiques à partir des échantillons bruts ont été réalisés. Dans le cas de l'échantillon E14593 (entièrement soluble dans l'eau), l'extrait organique s'est révélé très faible (6 % de l'échantillon brut). Pour l'échantillon E16489, le pourcentage d'extrait organique était de l'ordre de 30 % (Figure 2.58-A). Les quantités de matériel étant très faibles, nous avons réalisé un fractionnement par CCM. D'un point de vue quantitatif, nous avons constaté que ces échantillons sont majoritairement composés de molécules très polaires telles que des acides et des composés polyfonctionnalisés (Figure 2.58-B). Des réactions de méthanolyses ont également été réalisées sur les échantillons bruts. Ces deux échantillons sont néanmoins très différents d'un point de vue moléculaire.



Figure 2.58 : Histogrammes représentant le pourcentage d'extrait organique par rapport à l'échantillon brut (A) et les proportions massiques des différentes fractions par rapport à la masse de l'extrait organique (B), pour les échantillons archéologiques contenant un moût.

### V.3.3) Caractérisation moléculaire de l'échantillon E14593

Les fractions contenant les composés saturés, les esters et les cétones ont été injectées en GC mais les composés étaient présents en quantités inférieures à la limite de détection en GC-MS. La fraction majeure contenant les acides et les composés polyfonctionnalisés est essentiellement constituée d'acides linéaires pairs dont la distribution s'étend du terme n-C<sub>12</sub> au terme n-C<sub>30</sub>, le terme n-C<sub>16</sub> étant majoritaire (Figure 2.59). Cette distribution d'acides gras

est cohérente avec celle décrite pour les végétaux supérieurs (Chikaraishi *et al.*, 2004). De plus, la présence d'acides gras insaturés ( $C_{18:1}$  et  $C_{18:2}$ ), ainsi que celle des produits de dégradation de l'acide oléique (acide azélaïque, acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque) semblent confirmer l'origine végétale du matériau. La présence d'hexoses et de pentoses nous a conduit à réaliser une méthanolyse afin de pouvoir mieux les étudier.



Figure 2.59 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les alcools, les acides et les composés polyfonctionnalisés dérivés de l'échantillon E14593.

Le profil chromatographique obtenu (Figure 2.60) est dominé par la présence d'hexoses de type glucose et de pentoses des types arabinose ou xylose. Ce profil est totalement différent de celui du miel que nous avons décrit précédemment (absence de diholosides et présence de pentoses), ce qui semble indiquer un contenu différent. Sur la seule base de ces informations, il est impossible de déterminer la nature de la substance végétale présente dans l'échantillon. Un test à l'iode, indicateur d'amidon (*cf.* Partie expérimentale) a été réalisé par ailleurs et s'est révélé être positif. Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'amidon est un polyoside du glucose se présentant sous forme de grains dans les organes de réserve des végétaux supérieurs tels que les graines. Il est particulièrement abondant dans les céréales. Il est également important de noter que le péricarpe des graines est constitué de cellulose et

d'hémicellulose. L'hémicellulose est un polyoside essentiellement constitué de pentoses (xylose, arabinose) mais aussi d'hexoses (mannose, galactose, rhamnose). Il n'a malheureusement pas été possible lors de cette étude d'identifier précisément la nature des hexoses et pentoses détectés.



Figure 2.60 : Chromatogramme en phase gazeuse obtenu après la méthanolyse de l'échantillon brut E14593.

Malgré les rares informations obtenues et l'absence d'indicateur de fermentation tel que l'ergostérol, la présence d'amidon ainsi que celle d'hexoses et de pentoses semblent indiquer la présence de céréales dans cet échantillon archéologique. L'hypothèse d'un moût ou filtrat de boisson à base de céréales tel que la bière a alors été proposée.

#### V.3.4) Caractérisation moléculaire de l'échantillon E16489

Les fractions obtenues suite au fractionnement sont celles des hydrocarbures, des esters, des cétones, des alcools, des acides et des composés polyfonctionnalisés. Contrairement à l'échantillon précédent, celui-ci est plus complexe.

*Les hydrocarbures*. Il s'agit essentiellement d'hydrocarbures saturés linéaires (*n*-alcanes) dont la distribution s'étend du terme n-C<sub>19</sub> au terme n-C<sub>33</sub>, les termes n-C<sub>21</sub> et n-C<sub>22</sub> étant majoritaires, ce qui est inhabituel. L'origine particulière de cette distribution n'a pas pu être déterminée. La prédominance impaire très nettement marquée à partir du terme n-C<sub>23</sub> est cohérente avec l'utilisation de végétaux supérieurs et/ou de cires (Figure 2.61). Des traces de hopanes et de steranes ont également été détectées mais celles-ci résultent plus probablement d'une pollution ambiante, ce qui semble également être le cas des composés chlorés.

La présence de trace d'hydrocarbures aromatiques (anthracène, pyrène et fluoranthène) indique une contamination de l'échantillon par des feux domestiques (il ne faut pas oublier que ce vase est ouvert, donc particulièrement exposé aux contaminations atmosphériques).



Figure 2.61 : Chromatogramme en phase gazeuse montrant la distribution des *n*-alcanes présents dans la fraction des hydrocarbures de l'échantillon archéologique E16489.

*Les esters*. Les co-élutions d'esters, ainsi que celles des esters lourds permettent d'exclure la présence de cire d'abeille et de confirmer celle des cires végétales (Figure 2.62). Les esters présents sont majoritairement ceux de l'acide palmitique et de l'acide stéarique.



Figure 2.62 : Fragmentogrammes de masse à *m/z* 257 (A), *m/z* 285 (B) et *m/z* 313 (C), montrant les co-élutions d'esters dans l'échantillon E16489 ; C<sub>XX</sub> : nombre total d'atomes de carbone composant l'ester.

*Les cétones & alcools terpéniques.* La présence de ces composés ubiquistes aux végétaux supérieurs confirme l'origine végétale de cet échantillon (Figure 2.63).

*Les acides gras.* La distribution des *n*-acides s'étend du terme n-C<sub>14</sub> au terme n-C<sub>26</sub>, avec une forte prédominance paire (Figure 2.64). Les termes n-C<sub>16</sub> et n-C<sub>18</sub> sont majoritaires, ce qui semble indiquer la présence d'un corps gras dégradé. Les acides gras n-C<sub>22</sub> à n-C<sub>26</sub> proviennent de la cire. Aucun acide gras insaturé ou ramifié n'est présent.



Figure 2.63 : Chromatogrammes en phase gazeuse des fractions dérivées cétones et alcools de l'échantillon archéologique E16489.



Figure 2.64 : Chromatogramme en phase gazeuse, montrant la distribution des *n*-acides présents dans la fraction des acides dérivée de l'échantillon archéologique E16489 ; C<sub>XX</sub> : nombre d'atomes de carbone.

Les lactones et les alcools gras. La distribution des  $\gamma$ - et  $\delta$ -lactones à chaînes longues, centrée sur les termes en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> indique également la présence d'un corps gras dégradé

(Figure 2.65). Les lactones peuvent indiquer un chauffage ou un vieillissement naturel de l'échantillon. Les alcools gras linéaires et pairs (n-C<sub>22</sub> à n-C<sub>28</sub>) proviennent également de la cire.



Figure 2.65 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction dérivée des alcools de l'échantillon archéologique E16489 ; C<sub>XX</sub> : nombre d'atomes de carbone.

*Les composés polyfonctionnalisés*. La fraction F3 est dominée par la présence de diacides linéaires, dont la distribution s'étend du terme en  $C_6$  au terme en  $C_{15}$ , les diacides en  $C_8$  et  $C_9$  étant majoritaires (Figure 2.66). La présence de ce type de composés ainsi que celle de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque indiquent également la présence d'un corps gras d'origine végétale qui s'est dégradé avec le temps et dont l'hydrolyse des triglycérides est totale.



Figure 2.66 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction contenant les composés polyfonctionnalisés de l'échantillon E16489.

*Sucres*. La méthanolyse de l'échantillon brut a montré la présence d'hexoses en faible quantité. Ceux-ci pourraient provenir d'une substance végétale présente dans le mélange : un fruit ou un miel par exemple. Le test négatif à l'iode permet d'exclure la présence d'amidon, donc de céréales.

Cet échantillon est différent et plus complexe que les deux précédemment décrits. Les analyses en GC-MS ont révélé la présence d'un corps gras dégradé (lactones, acides gras libres, absence d'acides gras insaturés). De plus, l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque, ainsi qu'une quantité importante de diacides (acide azélaïque majoritaire) et le sitostérol ont été détectés, indiquant que le corps gras présent est une huile végétale siccative ou semi-siccative. D'autres composés ubiquistes aux végétaux supérieurs indiquent que cet échantillon est d'origine végétale (*n*-alcanes avec une prédominance impaire, co-élution d'esters lourds, composés triterpéniques). Malheureusement, sur la base de ces informations, il n'est pas possible de savoir si ces composés proviennent de l'huile (et/ou de son mode de fabrication), ou s'il s'agit d'une autre substance végétale qui aurait volontairement été ajoutée dans l'huile. L'aspect très hétérogène de l'échantillon semble plutôt indiquer un mélange entre une huile et

une substance végétale. L'absence d'amidon exclut l'utilisation de céréales, et la présence d'hexoses serait une caractéristique de cette substance végétale. En raison du manque de composés diagnostiques, nous n'avons pas été en mesure de l'identifier. De plus, l'ergostérol (marqueur de fermentation) n'a pas été détecté dans cet échantillon, mais celui-ci a pu être dégradé suite à l'enfouissement. Ainsi, l'hypothèse d'un moût ou filtrat de boissons proposée par Mme Pierrat-Bonnefois n'a pu être ni confirmée, ni infirmée.

#### V.4) Analyses des sucres présents dans des fruits et des jus de fruits de références

La piste des fruits et des jus de fruits a également été envisagée. Les fruits sont des matières végétales extrêmement complexes dans la mesure où ils sont constitués de lipides (acides gras, cires, phytostérols, caroténoïdes et triterpènes) et de biopolymères (cellulose, hémicellulose, pectine, lignine et polyphénols) (Ribechini *et al.*, 2011).

Nous avons analysé les sucres présents dans des fruits et des jus de fruits modernes en réalisant des méthanolyses. Les fruits qui ont pu avoir été utilisés à l'époque sont la figue, la datte et la grenade. Malheureusement, nous n'avons pas trouvé de jus de dattes et de figues dans le commerce, et nous avons alors choisi d'analyser directement les fruits frais. Par ailleurs, il est important de signaler la présence de nombreux conservateurs dans les jus de fruits commerciaux.

Les sucres présents dans les jus de fruits (Sanz *et al.*, 2004), ainsi que dans les fruits tels que les dattes Deglet Nour (Al-Farsi *et al.*, 2007), les figues (Melgarejo *et al.*, 2003; Shiraishi *et al.*, 1996), et les grenades (Shwartz *et al.*, 2009) sont essentiellement le glucose et le fructose (hexoses), ainsi que le saccharose (ou sucrose, qui est un diholoside composé d'un glucose et d'un fructose).

*Figue*. Une étude décrite dans la littérature concernant l'analyse de figues à la fois fraîches et retrouvées en contexte archéologique, a révélé la présence d'acides gras saturés à prédominance paire ( $C_{12}$  à  $C_{30}$ , l'acide palmitique étant majoritaire), d'acides insaturés ( $C_{16:1}$ ,  $C_{18:2}$ ,  $C_{18:1}$  et  $C_{20:1}$ ), ainsi que celle d'hydroxy- et polyhydroxyacides et d'époxyacides dans les figues fraîches (Ribechini *et al.*, 2011). Des phytostérols tels que le stigmastérol, le sitostérol et des triterpènes (amyrines, lupéol) sont également détectés. L'analyse moléculaire de la figue retrouvée en contexte archéologique a, quant à elle, révélé la perte des acides gras

insaturés ainsi que celle des phytostérols (sans doute en raison de leur faible quantité et des phénomènes de dégradation). La présence de sucre et tout particulièrement de cellulose avait été constatée dans les deux échantillons de figues, et ce, malgré la sensibilité des polysaccharides face aux phénomènes de dégradation (Ribechini *et al.*, 2011). Les informations relatives aux sucres n'ont malheureusement pas été plus détaillées.

Dans le cadre de notre étude, nous avons réalisé une méthanolyse afin d'analyser uniquement les sucres. Nous avons ainsi constaté que conformément à la littérature, les sucres présents sont principalement des hexoses (Figure 2.67). Des pentoses ont également été détectés. Ces sucres proviennent probablement de la cellulose et de l'hémicellulose.

*Datte*. Après la méthanolyse, on constate que les sucres majoritaires sont des hexoses (Figure 2.67). Des diholosides (comme la cellobiose) sont également présents. Ils proviennent fort probablement de la dégradation de la cellulose qui n'a pas été totalement dégradée lors de la méthanolyse.

*Jus de grenade (commercial)*. Le profil obtenu après la méthanolyse est dominé par la présence d'hexoses, principaux sucres présents dans les jus de fruits (Figure 2.67). Le sorbitol (ou glucitol) également détecté est un édulcorant utilisé dans l'industrie agroalimentaire pour remplacer le saccharose (moins calorique sans augmenter la glycémie).

Globalement, les profils obtenus après méthanolyse de ces fruits et de ce jus de fruits sont très différents. Dans le cas de la figue, on a constaté la présence de pentoses, ce qui n'était pas le cas de la datte qui était caractérisée par la présence de diholosides. La prédominance des hexoses dans tous les échantillons à base de sucres que nous avons analysés (miel, datte, figue, jus de grenade, ainsi que les trois échantillons archéologiques), et l'absence de spécificité (sauf dans le cas de l'échantillon E14593 avec la présence d'amidon) ne permettent malheureusement pas de faire de distinction entre eux.



Figure 2.67 : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyses et acétylations des extraits organiques de figues, de dattes, et de jus de grenade.



Figure 2.67 (suite) : Chromatogrammes en phase gazeuse obtenus après méthanolyses et acétylations des extraits organiques de figues, de dattes, et de jus de grenade.

### V.5) Conclusion

Malgré la complexité des sucres ainsi que les problèmes que nous avons rencontrés pour les identifier, il a tout de même été possible de préciser ou de proposer des hypothèses quant à la nature des substances naturelles présentes dans les trois échantillons archéologiques de Deir el-Médineh à base de sucres. Ainsi, suite à la comparaison des profils des fractions F3 et de la méthanolyse de l'échantillon E16459 et d'un miel de référence, les nombreuses similitudes constatées (hexoses et diholosides) semblent confirmer la présence d'un miel. Dans le cas particulier de l'échantillon E14593, la présence d'amidon et d'un profil dominé par des hexoses et des pentoses semblent cohérents avec les céréales. Ce qui nous a mené à proposer l'hypothèse d'un moût ou filtrat de bière. L'échantillon E16489 semble quant à lui contenir un mélange entre une huile végétale siccative ou semi-siccative et une substance végétale caractérisée entre autres par des hexoses. La nature de cette substance n'a pas pu être précisée en raison de l'absence de composés diagnostiques. Les analyses des sucres provenant de fruits (figue, datte) et jus de fruits (grenade) a également permis la mise en évidence de la prédominance des hexoses dans les différents profils. L'absence de composés caractéristiques dans ces différents produits naturels ainsi que les impacts liés aux différents phénomènes de dégradation sur les profils chromatographiques compliquent énormément l'interprétation dans le cas d'échantillons archéologiques.

## CHAPITRE 3 : ANALYSE DES LIPIDES PAR LC-MS ET GC-C-IRMS

Depuis 1976, la chromatographie en phase gazeuse est la méthode de choix pour l'analyse de résidus organiques retrouvés en contexte archéologique (*cf.* Chapitre 2) (Condamin *et al.*, 1976). Cependant, cette technique présente de nombreuses limites et n'apporte pas toujours les informations nécessaires à l'identification des corps gras. De nouvelles techniques analytiques telles que la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec mesure du rapport isotopique (GC-C-IRMS) ont donc été développées durant ces dernières années. La LC-MS est un outil très efficace pour analyser les triglycérides. Ces molécules qui ont pu être protégées des réactions d'hydrolyse au cours du temps peuvent contenir les informations nécessaires à l'identification des corps gras archéologiques (présence d'acides gras insaturés et d'acides gras avec des chaînes courtes). La GC-C-IRMS permet quant à elle, de mesurer les valeurs isotopiques du carbone pour des composés préalablement séparés et de préciser leur origine biologique.

### I) LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE, APPLIQUEE A L'ETUDE DES TRIGLYCERIDES : LA LC-MS

### I.1) Principe et intérêts de la LC-MS

#### I.1.1) Introduction

L'analyse des lipides, et tout particulièrement celle des TAG apporte les informations permettant d'identifier les huiles et les graisses. Les TAG sont les principaux composés des huiles et des graisses synthétisés respectivement par les plantes et les animaux. Il s'agit de mélanges complexes dont l'analyse en GC-MS est délicate car elle nécessite généralement un prétraitement de l'échantillon ainsi que des réactions de dégradation et de dérivation, en raison de la faible volatilité et de l'instabilité thermique de ces composés. Grâce à la LC-MS, la préparation de l'échantillon est simplifiée et les réactions de dégradation et de dérivation sont évitées. Cette méthode très sensible apporte des informations sur la structure chimique des composés (Cai and Syage, 2006). Très bien adaptée à l'analyse des triglycérides, cette technique permet également de connaître la distribution des acides gras au sein du TAG, et ainsi de préciser la nature de la graisse ou de l'huile (Al-Rashood *et al.*, 1996; Fauconnot *et al.*, 2004). Deux modes d'ionisation sont généralement utilisés pour les composés peu voire

non polaires que sont les lipides : l'ionisation par électrospray ou électronébulisation (ESI – *electrospray ionization*) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI – *atmospheric pressure chemical ionization*). Si ces deux méthodes ne sont pas efficaces, on pourra utiliser la photoionisation à pression atmosphérique (APPI – *atmospheric pressure photoionization*). Cette méthode d'ionisation est beaucoup plus récente que les précédentes (Cai and Syage, 2006; Mu and Sillen, 2000), et son efficacité pour l'analyse des TAG s'est très rapidement imposée (Byrdwell and Emken, 1995; Byrdwell, 2001). Mais l'APCI reste la méthode la plus utilisée et la plus décrite dans la littérature pour l'analyse de ces composés. Le principal domaine d'application de cette technique est l'agroalimentaire, puisque l'analyse et la quantification des différents TAG permettent de distinguer différents types de graisses et d'huiles (Holcapek *et al.*, 2003; Jakab *et al.*, 2002), mais également de s'assurer de leur authenticité (Christopoulou *et al.*, 2004).

### I.1.2) Principe de la LC-APCI-MS, appliquée à l'analyse des TAG

L'analyse des triglycérides en chromatographie liquide haute performance se fait en phase inverse. Pour cela, on utilise une phase apolaire (silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbone) et une phase mobile polaire (essentiellement du méthanol, de l'acétonitrile ou de l'eau). Les composés polaires sont moins retenus par la colonne et éluent en premier.

La séparation dépend à la fois de la masse moléculaire et du degré d'insaturation des molécules. L'ordre d'élution est donc directement lié au nombre d'atomes de carbone de la partie acyle (ACN – *acyl carbon number*,) et au nombre d'insaturations (Laakso, 2002). La notion du nombre équivalent d'atomes de carbone (ECN - *equivalent carbon number*), permettant de prédire les ordres d'élutions des TAG, consiste à soustraire deux fois le nombre d'insaturations au nombre total d'atomes de carbone présents dans les acides gras. Ainsi, des TAG ayant le même ECN ont des temps d'élution voisins, et ceux avec le plus d'insaturations élueront en premier. Il est en revanche impossible de séparer des TAG dont la différence se situe au niveau de la position des acides gras (Laakso, 1996).

La spectrométrie de masse est la méthode par excellence, permettant l'identification et la quantification des TAG. En effet, elle apporte les informations structurales nécessaires à l'identification des TAG grâce à la fragmentation qui permet de connaitre la masse

moléculaire (informations sur le nombre d'atomes de carbone des acides gras et le nombre d'insaturations) et les positions (*sn*-1, 2 et 3) des acides gras au sein du TAG (Figure 3.1).

La notation des TAG utilisée dans cette étude consiste à utiliser les abréviations correspondant aux noms des acides gras (Tableau 3.1). Prenons l'exemple du TAG noté SOS : il est composé de deux acides stéariques présents en position sn-1 et 3, ainsi que d'un acide oléique en position sn-2.

Le mode d'ionisation le plus largement utilisé lors de l'analyse de TAG est l'APCI. C'est une technique d'ionisation douce qui dans le cas particulier des TAG, permet d'obtenir des fragments très utiles pour la caractérisation structurale (Byrdwell, 2001).

		Nombre d'atomes	
Abréviation	Nom	de carbone &	
		d'insaturations	
La	Laurique	C12:0	
M (ou My)	Myristique	C14:0	
Ро	Palmitoléique	C16:1	
Р	Palmitique	C16:0	
Ma	Margarique	C17:0	
Ln	Linolénique	C18:3	
L	Linoléique	C18:2	
0	Oléique	C18:1	
S	Stéarique	C18:0	
G	Gadoléique	C20:1	
*	Arachidique	C20:0	
A	(eicosanoïque)		
В	Behénique	C22:0	
Li	Lignocérique	C24:0	

Tableau 3.1 : Liste des abréviations des principales parties acyles, composant les triglycérides.

### I.1.3) Fragmentation et quantification des triglycérides

*Fragmentation*. En APCI, la fragmentation de la majorité des triglycérides conduit à la formation de deux types d'ions :  $[M+H]^+$  et  $[M-RCOO]^+$  (ou ion « diglycérides », noté  $[DG]^+$ ) causé par la perte d'un acide gras estérifié au glycérol (Figure 3.1).



Figure 3.1 : Structure & fragmentation des triglycérides; *n* indique la longueur de la chaîne carbonée de la partie acyle.

L'ion [M+H]<sup>+</sup> permet de déterminer la masse moléculaire du TAG. Etant donné qu'à une même masse moléculaire correspondent plusieurs TAG, c'est grâce aux fragments [DG]<sup>+</sup> que l'on va pouvoir identifier la nature des acides gras et ainsi connaître la nature précise du TAG (Tableau 3.2, Tableau 3.3).

		M+H]
857	OLO	883
857	000	885
859	OOS	887
861	SOS	889
861	SSS	891
863	ASS	911
877	OOG	913
881	AOO	915
881	OLB	941
	857 857 859 861 861 863 877 881 881	857 OLO   857 OOO   857 OOO   859 OOS   861 SOS   863 ASS   877 OOG   881 AOO   881 OLB

Tableau 3.2 : Ions [M+H]<sup>+</sup> observés dans les spectres des TAG obtenus par LC-APCI-MS permettant de déterminer la masse du TAG (Holcapek *et al.*, 2003).

Chapitre 3 - Analyse des lipides par LC-MS et GC-C-IRMS

$[M-RCOO_2]^+$	m/z	$[M-RCOO_2]^+$	m/z	$[M-RCOO_2]^+$	m/z
MP	523	OP	577	OL	601
РоРо	547	PoS	577	00	603
МО	549	PS	579	OS	605
PP	551	MaS	593	SS	607
PMa	565	LnLn	595	OG	631
LnP	573	LLn	597	AO	633
LP	575	LL	599	AS	635
OPo	575	OLn	599	LB	659

Tableau 3.3 : Ions [M-RCO<sub>2</sub>]<sup>+</sup> observés dans les spectres de masse des TAG obtenus par LC-APCI-MS, permettant de déterminer la nature et la position des acides gras sur le glycérol (Holcapek *et al.*, 2003).

Il a été constaté que l'intensité relative des ions dépend du degré d'insaturation et de la position des acides gras sur le squelette du glycérol. En effet, l'intensité relative du  $[M+H]^+$  augmente avec le degré d'insaturation du triglycéride. Ainsi pour les TAG constitués d'acides gras saturés, l'intensité relative de cet ion est très faible. Ceci a tout particulièrement été observé dans le cas des TAG saturés SSP et SPS, où le  $[M+H]^+$  n'est pas visible, contrairement aux TAG composés d'un acide gras insaturé tels que SOS ou MyOP, où le  $[M+H]^+$  de faible intensité est visible (Figure 3.2).

Quant aux différentes positions, il a été observé que la perte des parties acyles sur les positions sn-1/3 est favorisée par rapport à celle en position sn-2 (Fauconnot *et al.*, 2004; Laakso, 2002; Mottram and Evershed, 1996). Ainsi, l'ion  $[M-RCOO]^+$  le moins abondant correspond à la perte de l'acide gras en position sn-2. Comme le montrent les spectres de masse obtenus pour des TAG de référence présentés dans la Figure 3.2, dans le cas des TAG symétriques (SOS et SPS), le fragment  $[M-RCOO]^+$  correspondant aux coupures en position sn-1 et 3 est identique et est par conséquent majoritaire. Pour les TAG composés de trois acides gras différents (MyOP, Figure 3.2), trois fragments  $[M-RCOO]^+$  sont présents dans le spectre de masse. Les deux fragments  $[M-RCOO]^+$  correspondant aux coupures sn-1 et 3 sont différents, il y a donc deux fragments majoritaires et le fragment de plus faible intensité résulte de la coupure en position sn-2.

Le rapport  $[AA]^+/[AB]^+$  peut être utilisé pour différencier les triglycérides du type ABA et AAB. Un rapport proche de 1 indique un TAG du type AAB alors qu'un rapport inférieur à 1 indique plutôt un TAG du type ABA (Jakab *et al.*, 2002; Mottram *et al.*, 1997). Ainsi, il est donc possible de distinguer les TAG SSP et SPS, d'après leurs spectres de masse (Figure 3.2). En effet, dans le cas du TAG SSP, les deux fragments d'intensité importante, proviennent des coupures en position *sn*-1 et 3, alors que dans le cas du TAG SPS, un seul fragment correspond à ces deux coupures.



Figure 3.2 : Spectres de masse de quatre triglycérides obtenus en mode APCI : SOS et MyOP (Mottram and Evershed 1996) ; SSP et SPS (Mottram *et al.*, 2001).

Donc, sur la base des informations obtenues à partir des spectres de masse des TAG, il est possible de les identifier en déterminant précisément l'enchaînement des acides gras les constituants (Mottram and Evershed, 1996).

*Quantification*. La quantification des triglycérides présents dans les huiles et les graisses grâce à la spectrométrie de masse est régulièrement décrite dans la littérature, que ce soit sans séparation préalable, par introduction de l'échantillon dans la source (Hites, 1970) ou après séparation par HPLC (Byrdwell *et al.*, 1996). En quantifiant les TAG, il est possible de distinguer des corps gras qui sont caractérisés par la présence des mêmes TAG. Ainsi, il est

relativement aisé de faire la distinction entre différentes huiles végétales, et graisses animales, et de vérifier leur authenticité (Al-Rashood *et al.*, 1996; Holcapek *et al.*, 2003).

La méthode de quantification de Byrdwell est la méthode la plus souvent décrite dans la littérature (Mottram *et al.*, 1997), mais il existe quelques variantes (Byrdwell *et al.*, 1996). Elle consiste à déterminer l'aire de chaque pic, en sommant les aires obtenues à partir des fragmentogrammes de chaque ion  $[DG]^+$  et  $[M+H]^+$  spécifiques à chaque TAG. Il faut préalablement déterminer les facteurs de réponse de chaque acide gras, car l'intensité des fragments dépend de leur degré d'insaturation (Byrdwell, 2001). Cette méthode est délicate à mettre en place, et pour des raisons pratiques, n'a pas pu être utilisée lors de cette étude.

# I.2) Principaux résultats obtenus lors de l'analyse de triglycérides provenant de références modernes et de résidus archéologiques

# I.2.1) Cas des graisses animales, des produits laitiers et des huiles végétales modernes

### I.2.1.i) Les huiles végétales modernes décrites dans la littérature

Les distributions complexes des TAG présents dans les huiles végétales ont été très largement étudiées (Holcapek *et al.*, 2003; Jakab *et al.*, 2002; Lísa and Holcapek, 2008; Mottram *et al.*, 1997), tout particulièrement dans le domaine de l'agroalimentaire. Une étude récente, au cours de laquelle 26 huiles végétales avaient été analysées, a révélé la présence d'une grande diversité de TAG (Lísa and Holcapek, 2008). Ainsi, plus de 260 TAG composés de 28 acides gras avec des chaînes alkyles comportant de 6 à 26 atomes de carbone et comprenant de 0 à 4 doubles liaisons ont été détectés.

De manière générale, il a été constaté que dans la quasi-totalité des huiles végétales provenant du commerce, les TAG POP, OLO, PLP, POS et AOO sont présents. Les profils de TAG obtenus pour différentes huiles végétales sont très différents, ce qui permet de les distinguer (Figure 3.3). Dans le cas des huiles de colza et d'olive, c'est la trioléine (OOO) qui est majoritaire, alors que dans celui de l'huile de sésame, le TAG OLL est majoritaire. Diverses analyses d'huiles d'olive ont également montré des profils de TAG distincts : les différences ne sont pas visibles sur les TAG majoritaires (OOL, OOO et OOP), mais sont très

marquées au niveau des TAG minoritaires (Figure 3.3). Ces différences peuvent être liées à l'origine de l'huile et à son procédé de fabrication.

La position sn-2 du TAG est le plus souvent occupée par un acide gras insaturé (Mottram *et al.*, 1997). Dans le cas particulier des huiles végétales non-siccatives, essentiellement composées d'acides gras saturés (huile de palme : acides palmitique et stéarique majoritaires), il a en effet été constaté que les acides gras insaturés tels que les acides oléique et linoléique sont préférentiellement situés en position sn-2 (Chen *et al.*, 2007; Fauconnot *et al.*, 2004). L'analyse d'une huile de colza, dont les TAG sont majoritairement composés d'acide oléique, a révélé que la position sn-2 était généralement occupée par l'acide linoléique (Figure 3.3). Il semblerait que cette observation ne soit pas extrapolable aux autres huiles végétales, dans la mesure où dans les huiles d'olive et de noisette, également riches en acide oléique, la position sn-2 est préférentiellement occupée par l'acide oléique, plutôt que par l'acide linoléique (Mottram *et al.*, 1997).



Figure 3.3 : Chromatogrammes des triglycérides présents dans les huiles végétales modernes et décrites dans la littérature, obtenus par LC-APCI-MS; Olive (a) & Lin (Jakab *et al.*, 2002), Olive & Colza (Mottram *et al.*, 1997), Sésame (Lísa and Holcapek, 2008), Palme (Chen *et al.*, 2007).

### I.2.1.ii) Les huiles végétales modernes analysées au laboratoire

Au cours de ces travaux, nous avons choisi d'analyser cinq huiles végétales modernes servant de références : les huiles de colza, d'olive, de sésame, de lin et de palme, susceptibles d'avoir été utilisées dans l'Egypte ancienne.

L'analyse des mélanges relativement complexes des TAG présents dans ces huiles végétales, ainsi que leurs études décrites dans la littérature, ont permis de réaliser les mises au point de la méthode et les réglages de la LC-MS (*cf.* Partie expérimentale). Il était important que la méthode soit optimisée sur des références avant d'être utilisée sur les TAG présents dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Le fait d'appliquer la même méthode aux TAG des huiles de référence et aux TAG des échantillons archéologiques a également permis de comparer les résultats entre eux et sera discuté ultérieurement.

Malgré les nombreuses co-élutions de TAG, les profils obtenus pour les huiles de référence (essentiellement constitués d'acides gras insaturés) sont distincts, permettant ainsi de les identifier. A l'exception de l'huile de palme dont la distribution est centrée sur les TAG OOP et PPO, celles des autres huiles sont centrées sur les TAG OOO et OOP (Figure 3.4). Il apparaît qu'à l'exception de l'huile de lin, les principaux TAG détectés par notre méthodologie sont identiques à ceux décrits dans la littérature (Figure 3.3, Figure 3.4). Il est fort probable que l'huile de lin analysée au laboratoire soit un mélange de plusieurs huiles ou qu'il s'agisse d'une huile d'une autre nature.

Comme nous l'avions mentionné précédemment, on constate que la position *sn*-2 des TAG est principalement occupée par l'acide linoléique ou l'acide oléique.

*Conclusion*. Les profils de TAG obtenus pour les différentes huiles végétales fraîches présentent de nombreuses différences et il est donc aisé de les distinguer les uns des autres. Ces TAG sont majoritairement composés d'acides gras insaturés. Les huiles que nous avons analysées au laboratoire, de la même manière que celles décrites dans la littérature, sont caractérisées par la présence des mêmes TAG majoritaires, puisque les différences concernent uniquement les TAG minoritaires.



Figure 3.4 : Chromatogrammes des triglycérides présents dans les huiles végétales de référence, analysées au laboratoire par LC-APCI-MS.

### I.2.1.iii) Les graisses animales modernes décrites dans la littérature

Les graisses animales décrites dans la littérature proviennent du commerce.

- *Les graisses de ruminants (bovins et ovins)*. Leurs compositions en acides gras sont assez similaires. La proportion en acide stéarique est plus importante chez les ovins et les différences de position des acides gras au sein des TAG (Mottram *et al.*, 2001) permettent de distinguer les graisses de bovins et d'ovins.

Chez les bovins, l'analyse des TAG de leur suif a permis la mise en évidence d'acides gras essentiellement saturés (majoritairement les acides palmitique, stéarique, myristique) et insaturés (uniquement l'acide oléique, Figure 3.5). Les acides gras saturés sont préférentiellement situés en position *sn*-1 et 3, alors que la position *sn*-2 semble plutôt être occupée par l'acide oléique ou myristique (Fauconnot *et al.*, 2004). Les différents profils décrits dans la littérature présentent de nombreuses similitudes : les TAG majoritaires sont essentiellement le POO, le POP, le POS, le PPS, le SOS et le SSP. Ces profils diffèrent par les TAG minoritaires, mais ces différences peuvent être liées à l'origine de la graisse.



Figure 3.5 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de bœuf modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot *et al.*, 2004) ; (B) (Mottram *et al.*, 2001).

Chez les ovins (mouton, agneau), le mélange de TAG est plus complexe et les principaux acides gras qui les composent sont saturés (Figure 3.6). Il s'agit essentiellement des acides palmitique et stéarique et des acides gras à nombre impair d'atomes de carbone tel que l'acide margarique ( $C_{17:0}$ ). Les deux stéréoisomères du  $C_{18:1}$  sont également présents. Le *cis*- $C_{18:1}$  est en position *sn*-2, alors que le *trans*- $C_{18:1}$  occupe plutôt les positions *sn*-1 et 3, (Mottram *et al.*, 2001).



Figure 3.6 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour la graisse d'agneau moderne, par LC-APCI-MS (Mottram et al. 2001).

- La graisse de porc (non-ruminant). L'analyse de lard a montré la présence de deux TAG majoritaires, le SPO et l'OPO (Figure 3.7). La quantité plus importante d'acides gras insaturés ainsi que la présence d'un seul isomère (*cis*) du  $C_{18:1}$  dans ce type de graisse permettent de facilement la distinguer des graisses de ruminants (Mottram *et al.*, 2001). L'acide palmitique est principalement retrouvé en position *sn*-2, alors que les acides gras insaturés occupent les positions *sn*-1 et 3 (Al-Rashood *et al.*, 1996; Fauconnot *et al.*, 2004).



Figure 3.7 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de porc modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot et al. 2004) ; (B) (Mottram et al. 2001).

- La graisse de volaille (poulet). Cette graisse contient plus d'acides gras mono- et polyinsaturés que celles provenant de ruminants et non ruminants. Les TAG majoritaires sont le POO, le PLO/POL, le LOO/OLO, l'OOO, le PPO/POP, le SOO et le POS (Figure 3.8). Il a également été constaté que les acides gras saturés sont plutôt situés en position *sn*-1 et 3 alors que les acides gras insaturés (oléique et linoléique) occupent aléatoirement les trois positions (Fauconnot *et al.*, 2004), avec tout de même une légère prédisposition pour la position *sn*-2 (Mottram *et al.*, 2001).



Figure 3.8 : Chromatogrammes des TAG obtenus pour des graisses de poulet modernes, par LC-APCI-MS : (A) (Fauconnot et al. 2004) ; (B) (Mottram et al. 2001).

*Conclusion*. Les profils de TAG correspondant à ces différents types de graisses animales fraîches étant très distincts, il est donc aisé de les différencier sur cette base. Il ne semble par ailleurs, pas y avoir de grandes différences au niveau de la distribution des TAG entre les graisses de même espèce.

Remarque : nous avons choisi de ne pas analyser de graisses animales de référence au laboratoire, dans la mesure où elles sont relativement bien décrites dans la littérature, ainsi que dans les résidus archéologiques. Il nous semblait plus judicieux de mettre la méthode au point sur des mélanges plus complexes comme ceux des huiles végétales.

### I.2.1.iv) Les produits laitiers modernes décrits dans la littérature

La distribution des triglycérides dans les produits laitiers est extrêmement complexe (Figure 3.9), étant donné que plus d'une centaine de TAG ont pu être identifiés (Mottram and Evershed, 2001). Ils sont constitués d'une grande diversité d'acide gras : acides gras de 4 à 20 atomes de carbone, acides gras ramifiés, saturés ou mono-insaturés (Laakso, 1996). La quantité importante de TAG composés d'acides gras à chaînes courtes (4 à 10 atomes de carbone) permet de distinguer ces produits des graisses provenant de tissus adipeux. Les acides gras constitués de 4, 6 ou 8 atomes de carbone sont situés en position sn-3 (Jensen et al., 1991).



Figure 3.9 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse de lait par HPLC-APCI-MS, les numéros indiquent les différents TAG (Mottram and Evershed, 2001).

*Conclusion*. Les profils de TAG obtenus pour des corps gras frais (graisses animales, huiles végétales, et produits laitiers) sont très différents, permettant donc une distinction aisée. Dans le cas des huiles végétales, les TAG sont essentiellement composés d'acides gras insaturés, contrairement aux graisses animales constituées, elles, majoritairement d'acides gras saturés. Les produits laitiers sont quant à eux caractérisés par la complexité du profil, ainsi que par la présence de TAG avec des acides gras saturés à chaînes courtes.

# I.2.2) Résultats obtenus à partir d'échantillons archéologiques et décrits dans la littérature

La LC-MS, directement adaptée de celle décrite précédemment pour l'analyse des TAG des corps gras frais, a été utilisée à partir des années 2000 pour l'analyse de triglycérides retrouvés en faible quantité en contexte archéologique en raison des phénomènes d'hydrolyse (chimique et enzymatique) subis lors de leur enfouissement (Kimpe *et al.*, 2001).

Il est convenu aujourd'hui que les TAG, piégés à l'intérieur des tessons archéologiques, contrairement à ceux qui ne le sont pas, sont moins soumis aux phénomènes de dégradation par oxydation et hydrolyse. Ainsi, les profils obtenus pour ce type de matériaux sont quasiment similaires à ceux des corps gras initialement présents (Kimpe *et al.*, 2001; Kimpe *et al.*, 2002). Cependant, il a été constaté lors de l'analyse de dépôt de matière organique à la surface de poterie, que les TAG sont soumis à des phénomènes d'oxydation, qui se traduisent par la perte des TAG contenant des acides gras insaturés. La disparition totale de ces TAG a parfois été constatée (Evershed *et al.*, 2002), ou bien leur présence sous une forme différente (remplacement de l'acide gras insaturé du TAG par un dihydroxyacide) (Romanus *et al.*, 2008).

Nous allons par la suite présenter les résultats de quelques analyses réalisées en LC-APCI-MS sur des triglycérides provenant d'échantillons archéologiques. Il est important de noter que les études décrites ci-dessous, ont toutes été effectuées à partir de tessons de poteries donc sur des TAG bien conservés.

*Remarque*. Il n'y pas d'information dans la littérature en relation avec les profils de TAG, obtenus après des expériences de simulation sur des corps gras vieillis artificiellement par chauffage ou non.

### I.2.2.i) Identification d'huile végétale

Cette technique a été utilisée pour analyser des triglycérides issus de tessons de lampes à huile provenant du site archéologique de Sagalassos, situé au sud-ouest de la Turquie (Kimpe *et al.*, 2001). Ces lampes ont été datées de la fin de l'époque Romaine au début de la période Byzantine. La présence avérée d'oliviers sur le site à cette époque laisse supposer qu'elles auraient pu contenir de l'huile d'olive.

Les TAG d'une huile d'olive moderne ont donc été analysés dans le but de les comparer avec ceux contenus dans les tessons. Les résultats ont démontré que la trioléine (OOO) est le TAG majoritaire dans les échantillons de Sagalassos (Figure 3.10). La présence de tripalmitine (PPP) dans les échantillons archéologiques uniquement, semble indiquer le mélange d'une graisse animale à l'huile d'olive.

### I.2.2.ii) Identification de graisse animale

L'étude de tessons de poteries du site archéologique de Sagalassos a également permis la mise en évidence de TAG présentant des profils différents de ceux décrits précédemment. En effet, les TAG détectés dans ce cas précis sont essentiellement composés d'acides gras saturés, majoritairement les acides palmitique et stéarique, contrairement aux TAG des huiles végétales (Figure 3.11). En comparant ces profils à ceux obtenus pour des graisses animales modernes, il a été possible d'en préciser l'origine. La présence en quantité plus ou moins importante de la tristéarine (SSS) semble effectivement favoriser les graisses de ruminants (bovins et ovins). Dans le cas du tesson SA-01-KK-21 où la tristéarine est particulièrement abondante, il s'agit fort probablement d'une graisse d'ovin.



Huile d'Olive actuelle

### Tesson archéologique : SA-00-KK-165



### Tesson archéologique : SA-00-KK-201



Figure 3.10 : Intensités relatives (%), des triglycérides identifiés par LC-APCI-MS dans une huile d'olive de référence et deux échantillons archéologiques de Sagalassos (Kimpe *et al.*, 2001).


Graisse de Bovin actuelle

Graisse de Volaille actuelle





Graisse d'Ovin actuelle



\_\_\_\_\_



Tesson archéologique : SA-01-KK-76

100

80

60

40

20

0

MMP

MPP

PPP

PPS

PSS

Tesson archéologique : SA-01-KK-21



Figure 3.11 : Intensités relatives (%) des triglycérides identifiés par LC-APCI-MS dans des graisses animales de référence et dans deux échantillons archéologiques (Kimpe *et al.*, 2002).

### I.2.2.iii) Conclusion

Les TAG retrouvés en contexte archéologique sont soumis tout comme les acides gras aux phénomènes d'oxydation et d'hydrolyse. La dégradation par oxydation se traduisant par la perte des insaturations, conduit à la disparition des TAG comportant des acides gras insaturés. Dans le cas des graisses animales, étant donné que les TAG sont majoritairement constitués d'acides gras saturés, les profils ne sont pas très différents de ceux décrits pour les graisses animales fraîches. Ces graisses sont donc aisément identifiées dans les résidus archéologiques. Le cas des huiles végétales est quant à lui plus délicat, car celles-ci contiennent essentiellement des TAG avec des acides gras insaturés qui ne seront plus présents dans les huiles archéologiques. Les TAG composés d'acides insaturés retrouvés dans des tessons constituent néanmoins une exception et peuvent être détectés dans la mesure où ils sont à l'abri de ces réactions de dégradation. Enfin, en contexte archéologique, il sera impossible de distinguer un profil de TAG provenant initialement d'un produit laitier de celui provenant de tissus adipeux.

### I.3) Analyse des triglycérides des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh

### I.3.1) Instrumentation & Quantification

L'analyse de triglycérides sur des archéomatériaux a déjà été effectuée au laboratoire en LC-APCI-MS. Cependant, étant donné l'indisponibilité de cet appareil durant ces travaux, nous avons effectué des essais dans un laboratoire extérieur, nécessitant une nouvelle mise au point de la méthode (*cf.* Partie expérimentale). Ces analyses ont été réalisées sur les fractions contenant les triglycérides (fractions communément appelées cétones suite au fractionnement) de huit échantillons archéologiques, sans dérivation, ni traitement préalable.

Après identification des TAG, nous avons choisi de les quantifier en normalisant les aires de chaque TAG identifié par rapport à celle du TAG majoritaire, le PPS. Cette méthode est différente de celles décrites dans la littérature pour les échantillons archéologiques où la quantité des TAG identifiés était estimée soit à partir de l'intensité relative de l'ion [DG]<sup>+</sup> (Kimpe *et al.*, 2002), soit à partir de celle de l'ion moléculaire (Kimpe *et al.*, 2001). Ces deux méthodes n'étant pas décrites plus amplement dans les publications y faisant référence, lors

d'analyse d'échantillons archéologiques, nous avons donc décidé de nous baser uniquement sur les aires.

### I.3.2) Principaux résultats et discussion

### I.3.2.i) Profils de distribution des TAG

Les TAG contenant des acides gras insaturés ont été recherchés dans les échantillons archéologiques. Leur absence semble exclure la présence d'huile végétale et privilégier celle de graisse animale. Etant donné que la matière organique que nous avons analysée n'était pas à l'abri des phénomènes d'oxydation, des TAG composés d'acides gras insaturés pouvaient très bien être présents initialement. Cependant, comme les TAG détectés sont uniquement constitués d'acides gras saturés, essentiellement les acides palmitique et stéarique (Figure 3.12), l'hypothèse des graisses animales semble être la plus probable. Les profils obtenus pour ces échantillons sont très ressemblants. Malheureusement, sur la base de ces résultats, il n'est pas possible d'exclure l'hypothèse d'un mélange entre une graisse animale et une huile végétale. Seule la détection des produits d'oxydation des acides gras insaturés (*cf.* Chapitre 2) permettra de confirmer leur présence initiale.





### I.3.2.ii) Quantification des TAG

En quantifiant à l'aide de la méthode décrite précédemment, les TAG identifiés de façon certaine et sans co-élution, nous avons été en mesure de comparer les échantillons entre eux.

Les profils des TAG de tous les échantillons de Deir el-Médineh apparaissent très ressemblants : les TAG majoritaires sont le PPS, le PPP et le PSS (Figure 3.13). Nous avons également constaté que le SSS est présent dans ces échantillons en quantité variable d'un échantillon à l'autre. Ainsi, pour les échantillons E16421, E16478, E16444, E16439, E16446 et E16458, le TAG SSS est présent en plus faible quantité (environ 20 %) que dans les échantillons E16420 et E16449 (environ 40 %).

En comparant ces profils avec ceux décrits dans la littérature pour des graisses animales (Kimpe *et al.*, 2002), il a été clairement observé que la présence de la tristéarine en plus ou moins grande quantité semble cohérente avec l'utilisation d'une graisse de ruminant du type bovin ou ovin (Figure 3.14). Ce qui est confirmé par le fait que la tripalmitine n'est majoritaire dans aucun des échantillons archéologiques, alors qu'elle l'est dans les graisses de porc et de volaille de référence. Les trop grandes différences entre les profils archéologiques et ceux des graisses de ruminants ne nous permettent malheureusement pas d'être plus précis dans l'identification de la graisse animale utilisée. Par ailleurs, ces différences pourraient être indicatrices de mélanges entre différents types de graisses.









E16478





E16446



E16420



E16458







Figure 3.13 : Intensités relatives (%) des différents TAG identifiés par LC-APCI-MS, dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.



Graisse de Bovin

Graisse d'Ovin





Graisse de Volaille



Figure 3.14 : Intensités relatives (%) des TAG identifiés par LC-APCI-MS, dans des graisses animales de référence (Kimpe *et al.*, 2002).

### I.3.3) Conclusion

Dans un premier temps, il est important de noter que les études des TAG par LC-APCI-MS décrites dans la littérature sont relatives à l'analyse de résidus organiques provenant de tessons de poteries. Dans ce cas de figure, ceux-ci étant piégés dans la matrice de la céramique, ils sont à l'abri des phénomènes d'oxydation et d'hydrolyse. Jusqu'à présent, aucun résultat de ce type sur de la matière organique pure retrouvée en contexte archéologique n'a été mentionné puisqu'il faut tenir compte des différents phénomènes de dégradation auxquels les TAG sont soumis, et tout particulièrement ceux contenant des acides gras insaturés et ceux à chaînes courtes. Ce manque de données bibliographiques a grandement compliqué l'interprétation des résultats obtenus pour les échantillons de Deir el-Médineh. L'absence de TAG contenant des acides gras insaturés et la présence en grande quantité de ceux composés des acides palmitique et stéarique semblent indiquer la présence de graisse animale. D'après les profils obtenus et par comparaison avec ceux de graisses animales de référence, la graisse de ruminant constitue l'option la plus plausible. Malheureusement, la complexité des profils de TAG, ne nous permet pas d'exclure des mélanges entre plusieurs graisses animales.

## II) LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE AVEC MESURE DU RAPPORT ISOTOPIQUE <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C : LA GC-C-IRMS

### **II.1) Introduction**

L'analyse isotopique des composés spécifiques (*CSIA* : *compound-specific isotope analysis*) par spectrométrie de masse avec mesure du rapport isotopique (*IRMS* : *isotope ratio mass spectrometry*), après la combustion (*C*) en-ligne des composés séparés par chromatographie en phase gazeuse (*GC*) est une méthode analytique développée relativement récemment (commercialisation des appareils à partir des années 1990). Cette technique permet de mesurer avec justesse et précision des distributions isotopiques à un niveau naturel (Tableau 3.4). Cette méthode s'est très vite avérée être la méthode de choix pour vérifier l'authenticité des produits alimentaires, mais aussi pour déterminer une origine biologique et géographique d'un matériau dans les domaines de l'archéologie, de la géochimie et dans la chimie environnementale. Pour cela, le rapport isotopique <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C des acides gras, auxquels nous allons consacrer la suite de ce chapitre, est mesuré (Meier-Augenstein, 1999; 2002).

Elément	Isotope	Abondance naturelle (Atomes %)
Hydrogène	$^{1}\mathrm{H}$	99.985
	$^{2}H$	0.015
Carbone	$^{12}C$	98.892
	<sup>13</sup> C	1.108
Azote	$^{14}N$	99.6337
	<sup>15</sup> N	0.3663
Oxygène	<sup>16</sup> O	99.759
	<sup>17</sup> O	0.0374
	<sup>18</sup> O	0.2039
Soufre	$^{32}$ S	95.018
	<sup>33</sup> S	0.75
	$^{34}S$	4.215
	<sup>36</sup> S	0.02

Tableau 3.4 : Abondances relatives des isotopes stables de l'hydrogène, du carbone, de l'azote, de l'oxygène et du

### II.2) Principe de la GC-C-IRMS

### **II.2.1)** Instrumentation

Afin de mesurer la valeur isotopique (rapport  ${}^{13}C/{}^{12}C$ ) de chaque composé de manière individuelle, il est nécessaire de séparer au préalable les différentes molécules organiques d'un mélange par chromatographie en phase gazeuse, puis dans un second temps de mesurer individuellement la valeur isotopique de chaque composé. Pour mesurer ce rapport, l'analyte doit être transformé en un gaz simple et représentatif d'un point du vue isotopique, de l'échantillon original, avant d'entrer dans la source du spectromètre. Ainsi, pour mesurer le rapport <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C, le carbone présent dans chaque molécule est transformé quantitativement en CO<sub>2</sub>. Pour cela, une interface est présente entre le chromatogramme et le spectromètre de masse, permettant de réaliser une combustion « on-line » du carbone des différents analytes sortant en CO<sub>2</sub>. C'est la raison pour laquelle on parle de méthode « on-line ». Le tube de combustion est constitué le plus souvent d'alumine et rempli de fils de platine, d'oxydes de cuivre et de nickel (CuO/NiO/Pt). Il est maintenu à une température de 820°C ou 940°C. Les oxydes de cuivre et de nickel fournissent alors la quantité nécessaire d'oxygène pour assurer la combustion complète des composés organiques en CO<sub>2</sub> et en H<sub>2</sub>O. La vapeur d'eau produite est ensuite éliminée par l'intermédiaire d'une trappe. Le plus souvent, le dispositif utilisé est un tube « Nafion ». Il s'agit d'un polymère qui fonctionne comme une membrane semiperméable, c'est-à-dire perméable exclusivement à l'eau, tandis que les autres produits de la combustion restent mélangés au gaz vecteur. Le spectromètre de masse est quant à lui équipé d'une source avec impact électronique (EI), d'un analyseur magnétique (qui permet de faire de la haute résolution) ainsi que d'un détecteur à cylindres de Faraday (technique précise mais peu sensible). Afin d'avoir une meilleure sensibilité, le spectromètre de masse est en mode SIM (Single Ion Monitoring), permettant ainsi de ne détecter que les masses choisies (Figure 3.15).



Figure 3.15 : Schéma de l'appareillage du spectromètre de masse avec mesure du rapport isotopique couplé à un chromatographe en phase gazeuse via une interface de combustion permettant la mesure des rapports <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C et <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N (Meier-Augenstein, 2002).

Pour mesurer le rapport  ${}^{13}\text{CO}_2/{}^{12}\text{CO}_2$ , trois ions sont détectés : ils correspondent aux isotopomères  ${}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}_2$ ,  ${}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}_2$  et  ${}^{12}\text{C}{}^{18}\text{O}{}^{16}\text{O}$ , de masses respectives m/z 44, 45 et 46. Cependant, la masse m/z 45, correspond à la fois aux isotopomères  ${}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{16}\text{O}$  et  ${}^{12}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{16}\text{O}$  : il y a alors une contribution du  ${}^{12}\text{C}$  lors de la mesure du  ${}^{13}\text{C}$  qu'il va falloir déterminer et corriger. Pour cela, on mesure la masse m/z 46 correspondant essentiellement au  ${}^{12}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{18}\text{O}$ , puisque dans ce cas-là, les contributions des isotopomères  ${}^{12}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{17}\text{O}$  et  ${}^{13}\text{C}{}^{16}\text{O}{}^{17}\text{O}$  sont négligeables. Ainsi, en déterminant la proportion de l'isotope  ${}^{18}\text{O}$  dans la masse m/z 46, celle de l'isotope  ${}^{17}\text{O}$ , et donc la contribution du  ${}^{12}\text{C}{}^{17}\text{O}{}^{16}\text{O}$  dans la masse m/z 45 peuvent être déduites grâce à la relation linéaire existant entre l'abondance naturelle des isotopes  ${}^{17}\text{O}$  et  ${}^{18}\text{O}$  (Tableau 3.4).

Les pics correspondant à chaque isotopomère sont ensuite intégrés quantitativement et les rapports correspondant sont calculés.

Grâce à cette technique, on peut mesurer des valeurs de  $\delta^{13}$ C avec une précision moyenne de 0,3 ‰. Ce degré de précision permet de détecter de très faibles variations isotopiques en <sup>13</sup>C (de l'ordre de 1 ‰) (Meier-Augenstein, 1999).

### II.2.2) La mesure isotopique du rapport <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C

Cette mesure relative est exprimée par rapport à un standard (Figure 3.16), qui est le V-PDB (*cf.* Partie expérimentale).

$$\delta^{13}C(\%_0) = \left[\frac{\binom{1^3C}{^{12}C}\acute{e}chantillon - \binom{1^3C}{^{12}C}standard}{\binom{1^3C}{^{12}C}standard}\right] \times 1000$$

### Figure 3.16 : Formule permettant de déterminer le $\delta^{13}$ C.

Ainsi, le rapport isotopique est noté delta ( $\delta$ ) et est exprimé en pour mille (‰). Ces valeurs indiquent une déviation par rapport au standard, se traduisant pour les composés organiques naturels par des valeurs négatives, dû au fait que le mode de fixation du carbone (via le CO<sub>2</sub>) favorise la fixation du carbone léger c'est-à-dire celle de l'isotope <sup>12</sup>C (Park and Epstein, 1961). Ainsi, plus la valeur du  $\delta^{13}$ C est positive, plus l'échantillon est enrichi en <sup>13</sup>C, et inversement.

Note : dans la suite de ce chapitre, les valeurs isotopiques mentionnées sont par rapport au V-PDB.

### II.2.3) Préparation des échantillons et dérivation

Etant donné la grande sensibilité du spectromètre de masse, la qualité des résultats dépend de la nature de l'échantillon et de la qualité de la séparation chromatographique.

De même que pour la chromatographie en phase gazeuse, il est nécessaire de dériver les composés trop polaires ou trop faiblement volatils, afin d'améliorer le comportement chromatographique vis-à-vis de la colonne utilisée. La dérivation doit répondre à un certain nombre de critères :

- Améliorer la séparation des produits
- ✓ Eviter les interférences avec des sous-produits
- ✓ Former des produits stables
- ✓ Limiter l'addition d'atomes de carbone, ce qui va influer sur la composition isotopique des composés analysés sous la forme de dérivés
- ✓ Limiter la possibilité d'effets isotopiques liés à la réaction de dérivation

Si la dérivation entraine une modification du nombre d'atomes de carbone après la dérivation des molécules ciblées, il faut s'assurer que celle-ci soit totale ou dans le cas contraire, reproductible, afin de pouvoir être utilisée.

Il existe deux méthodes de dérivation ciblant les fonctions acides :

- La *triméthylsilylation* : elle engendre l'ajout de trois atomes de carbone sur la molécule de départ, en modifiant ainsi la valeur du δ<sup>13</sup>C de celle-ci. Cette réaction de dérivation est rarement utilisée pour les acides gras.
- La méthylation : il s'agit de la méthode standard de dérivation des acides gras. L'utilisation de BF<sub>3</sub>-méthanol (BF<sub>3</sub>-MeOH, *cf*. Partie expérimentale), induit l'ajout d'un seul atome de carbone sur les acides de départ, permettant ainsi de minimiser les modifications sur les valeurs de δ<sup>13</sup>C. C'est donc cette méthode que nous avons choisi d'utiliser.

#### II.2.4) Corrections après dérivation au BF<sub>3</sub>/MeOH

Comme cela a été précisé ultérieurement, cette réaction de dérivation conduit à l'addition d'atomes de carbone de composition isotopique différente de celle du produit de départ. Il faut tenir compte de cette différence lors de la mesure du  $\delta^{13}$ C et réaliser une correction pour chaque atome de carbone ajouté. Pour cela, on utilise la formule suivante :

$$n_{cd}\delta^{13}C_{cd} = n_c\delta^{13}C_c + n_d\delta^{13}C_d$$

*n* : nombre de moles de carbone

*cd* : fait référence au composé dérivé

- c: fait référence au composé d'intérêt à dériver
- d: fait référence aux groupements ajoutés par dérivation

Il est également nécessaire de déterminer la valeur du  $\delta^{13}$ C du réactif (ici le BF<sub>3</sub>-MeOH). Pour cela, une mesure *off-line* est tout d'abord réalisée par combustion du réactif brut suivie de la mesure du  $CO_2$  résultant. Puis, on mesure la composition d'un ester méthylique formé à partir de ce réactif et d'un acide de référence de composition isotopique connue.

*Correction appliquée pour les acides* : on ajoute un seul atome de carbone à l'acide d'origine lors de la dérivation en ester méthylique.

$$\bigwedge_{n} \bigcup_{O}^{OMe} \delta^{13}C_{acide} = \frac{(n+1)\delta^{13}C_{ester} - \delta^{13}C_{réactif}}{n}$$

avec n: nombre d'atomes de carbone de l'acide d'origine

*Correction appliquée pour les diacides* : on ajoute deux atomes de carbone au diacide d'origine lors de la dérivation en diester méthylique.

avec n: nombre d'atomes de carbone du diacide d'origine

# II.3) Paramètres influant sur les valeurs isotopiques du carbone des molécules naturelles

La composition isotopique de toute molécule biosynthétisée dépend à la fois de la source de carbone utilisée, des effets isotopiques associés à la fixation du carbone, du métabolisme, du mode de biosynthèse et de la disponibilité du carbone dans la cellule (Hayes, 1993). Les processus biologiques sont principalement responsables du fractionnement isotopique du carbone (Figure 3.17), mais aussi de l'azote et du soufre. Ces variations sont les plus importantes au moment de la production initiale de la matière organique par les producteurs primaires également appelés *autotrophes* (essentiellement des plantes et de nombreuses bactéries). La photosynthèse constitue le processus majeur de production de matière organique. D'autres variations isotopiques, généralement moins importantes, sont induites tout au long de la chaîne alimentaire par les hétérotrophes qui consomment la matière organique primaire.



Figure 3.17 : Distribution des valeurs de δ<sup>13</sup>C dans la nature; la différence entre la population européenne et américaine résulte de l'utilisation massive du maïs (plante en C<sub>4</sub>) dans l'alimentation de cette dernière (Brand, 1996).

### II.3.1) Chez les autotrophes : la photosynthèse

La photosynthèse se déroule au niveau des feuilles des plantes et consiste à biosynthétiser la matière organique par fixation du carbone à partir du CO<sub>2</sub> atmosphérique, sous l'action de la lumière. L'équation bilan de cette réaction est la suivante :

$$6 \operatorname{CO}_2 + 12 \operatorname{H}_2 O \longrightarrow \operatorname{C}_6 \operatorname{H}_{12} \operatorname{O}_6 + 6 \operatorname{H}_2 O + 6 \operatorname{O}_2$$
  
glucose

Au cours de l'évolution, les végétaux se sont adaptés à leur environnement et surtout aux conditions climatiques, permettant ainsi le développement de trois mécanismes photosynthétiques différents. Les fractionnements isotopiques au cours de l'assimilation photosynthétique du CO<sub>2</sub> dépendent de ces différents mécanismes. Ainsi, les différentes voies photosynthétiques utilisées par les végétaux sont les suivantes :

- Plantes en C<sub>3</sub>: elles utilisent le cycle de Calvin-Benson. Il s'agit de la majorité des végétaux supérieurs à savoir les arbres et arbustes des climats tempérés et de quelques herbes, telles que le blé, l'orge, le tabac. Le phytoplancton (algues) et les bactéries photosynthétiques anaérobies utilisent également cette voie photosynthétique.
- Plantes en C<sub>4</sub> : elles utilisent le cycle de Hatch-Slack. Il s'agit de plantes adaptées à un climat tropical sec avec un fort éclairement, des températures élevées et une faible humidité (zone aride), mais elles peuvent également être présentes dans des zones tempérées. Le maïs et la canne à sucre sont des exemples de plantes en C<sub>4</sub>.
- Plantes dites CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*): elles utilisent un mécanisme hybride entre le métabolisme des plantes en C<sub>3</sub> et celui des plantes en C<sub>4</sub>. Il s'agit de plantes adaptées aux conditions désertiques, stockant une quantité plus importante d'eau que pour leur besoin immédiat. C'est le cas des plantes grasses (crassulescentes), des cactus ou encore des orchidées.

La photosynthèse se déroule en deux étapes. La première est commune à tous les végétaux. Il s'agit de la diffusion du CO<sub>2</sub> atmosphérique jusqu'à l'intérieur des feuilles. Cette diffusion est possible grâce à la présence des *stomates* à la surface des feuilles. Lors de cette étape, la composition isotopique du carbone est modifiée par une différence de -4,4 ‰ entre le CO<sub>2</sub> atmosphérique (-7 ‰) et le CO<sub>2</sub> présent à l'intérieur des feuilles (-11 ‰). C'est lors de la seconde étape que les voies de biosynthèses diffèrent :

Mécanisme des plantes terrestres en C<sub>3</sub>. Les plantes dites en C<sub>3</sub>, utilisent une enzyme appelée RuBisCO (Ribulose Bisphosphate Carboxylase-Oxygenase) qui catalyse la réaction au cours de laquelle une molécule de CO<sub>2</sub> réagit avec le 3-ribulose 1,5-bisphosphate pour former un composé instable à six atomes de carbone. Ce composé est immédiatement clivé en deux molécules constituées de trois atomes de carbone appelées acide 3-phosphoglycérique (APG) (Figure 3.18, Figure 3.20). Le fractionnement isotopique associé à l'enzyme est d'environ 27 ‰.

Les plantes en C<sub>3</sub> sont donc caractérisées par des valeurs en  $\delta^{13}$ C de -37 ‰ à -24 ‰.



Figure 3.18 : Structures du ribulose-1,5-bisphosphate et de l'acide phosphoglycérique intervenant lors de la photosynthèse des plantes en C<sub>3</sub>.

Mécanisme des plantes en C<sub>4</sub>. La voie photosynthétique utilisée par les plantes dites en C<sub>4</sub>, est très ressemblante à celle adoptée par les plantes en C<sub>3</sub>. Après diffusion du CO<sub>2</sub> à l'intérieur des feuilles, celui-ci est converti en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> par *l'anhydrase carbonique*, avant d'être transformé en un composé à quatre atomes de carbone, l'acide malique grâce à l'enzyme *PhosphoEnolPyruvate Carboxylase (PEPc)* (Figure 3.19, Figure 3.21, Figure 3.22). Le fractionnement isotopique associé à l'activité de cette enzyme est d'environ 2,2 ‰. L'acide malique obtenu est ensuite réduit en CO<sub>2</sub> puis comme dans le cas des plantes en C<sub>3</sub>, il sera fixé par la RuBisCO avant de suivre le cycle de Calvin. Un autre effet isotopique est lié à la fuite de CO<sub>2</sub> au niveau des cellules de la gaine perivasculaire.

Les valeurs en  $\delta^{13}$ C des plantes en C<sub>4</sub> sont de l'ordre de -9 ‰ à -16 ‰.



Phosphoénolpyruvate PEP

Acide malique

Figure 3.19 : Structures du phosphoénolpyruvate et de l'acide malique intervenant lors de la photosynthèse des plantes en C4 et CAM.

- Mécanisme des plantes CAM. Comme pour les plantes en C<sub>4</sub>, les plantes dites CAM fixent le CO<sub>2</sub> sous forme d'acide malique grâce à l'enzyme PEPc : durant la nuit, les stomates sont ouverts et le CO<sub>2</sub> diffuse à l'intérieur des feuilles. L'acide malique formé est alors stocké dans les vacuoles des cellules photosynthétiques. Les stomates étant fermés durant la journée afin d'éviter les pertes hydriques, l'acide malique est décarboxylé sous forme de CO<sub>2</sub> avant de suivre le cycle de Calvin (Figure 3.21, Figure 3.22).

Les valeurs en  $\delta^{13}$ C de ce type de plantes sont intermédiaires entre celles des plantes en C<sub>3</sub> et celles des plantes en C<sub>4</sub>, soit entre -9 ‰ et -19 ‰.



Figure 3.20 : Voie photosynthétique utilisée par les plantes terrestres en C3 (Grice, 2005).



Figure 3.21 : Structures des feuilles de plantes en  $C_3$  et en  $C_4$  (<u>http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/APE\_PS.pdf</u>).



Figure 3.22 : Voie photosynthétique utilisée par les plantes terrestres en C<sub>4</sub> et CAM (Grice, 2005).

Bien que les différentes voies photosynthétiques soient les principaux facteurs responsables du fractionnement isotopique du carbone, il existe d'autres variables qui peuvent également avoir un impact (Lockheart *et al.*, 1997; O'Leary, 1981). On peut citer :

- *L'organe de la plante*. Les valeurs de  $\delta^{13}$ C sont le plus souvent déterminées au niveau des feuilles. Cependant, en fonction de l'organe (feuille, racine, tige), la variation de  $\delta^{13}$ C peut être de l'ordre de quelques dixièmes à une dizaine de pour mille. Ainsi, il a été constaté que dans le cas de la tomate, les  $\delta^{13}$ C des tiges et des racines sont moins négatifs que celui des feuilles de l'ordre de quelques dixièmes. Il apparait également que les graines ont en général un  $\delta^{13}$ C plus positif de l'ordre de 10 ‰ par rapport aux feuilles.
- *La température*. Dans le cas des plantes en C<sub>3</sub> et en C<sub>4</sub>, il semblerait que l'effet de la température sur le  $\delta^{13}$ C soit minime (valeur plus négative de l'ordre de 2 ‰, quand la température augmente). Pour les plantes CAM, en revanche, la température est un paramètre non négligeable pouvant induire des diminutions de l'ordre de 8 ‰ quand la température augmente.
- La nature du sol. Les plantes se développant sur des sols ayant subi des déficits en azote et/ou en potassium présentent des valeurs de δ<sup>13</sup>C plus négatives que celles se développant sur des sols n'ayant pas subi ce genre de déficit.

### II.3.2) Fractionnement isotopique durant les voies de biosynthèse

Dans tous les organismes, les réactions métaboliques intervenant dans les voies de biosynthèse des carbohydrates, des protéines et des lipides sont associées à des effets isotopiques qui affectent la teneur en <sup>13</sup>C (Hayes, 1993). Nous nous concentrerons ici sur les lipides. Ils sont synthétisés à partir du glucose par la glycolyse, encore connue sous le nom de voie d'Embden-Meyerhof-Parnas. Ils sont appauvris en <sup>13</sup>C (de 8 ‰, chez les plantes) par rapport aux autres produits biosynthétisés tels que les carbohydrates et les protéines (O'Leary, 1981; Park and Epstein, 1961). Durant la glycolyse (Figure 3.23), le glucose transformé en acide pyruvique est décarboxylé et oxydé en acétyl CoA via la pyruvate déshydrogénase. Le fractionnement isotopique est faible durant la transformation du glucose en pyruvate. La perte en <sup>13</sup>C des lipides aurait lieu lors de l'oxydation du pyruvate en acétyl CoA via l'activité de la pyruvate déshydrogénase (DeNiro and Epstein, 1977). L'effet isotopique sur le carbone portant la fonction carbonyle (position 2) de l'acétyl CoA a été approximativement mesuré à 1,02 ‰ (Melzer and Schmidt, 1987).



Figure 3.23 : Schéma simplifié de la biosynthèse des lipides (DeNiro and Epstein, 1977).

### II.3.3) Chez les hétérotrophes : importance de l'alimentation

Plusieurs études ont montré qu'il n'y a pas d'important fractionnement isotopique associé à l'incorporation du carbone chez l'animal à partir de sa nourriture (DeNiro and Epstein, 1978; Tieszen *et al.*, 1983). Ainsi, les importantes différences isotopiques existantes entre les plantes en  $C_3$  et les plantes en  $C_4$  suffisent à se répercuter sur les valeurs isotopiques des graisses animales. Le choix de la source d'alimentation est donc très important.

En ce qui concerne les acides gras provenant des graisses animales, les valeurs en  $\delta^{13}$ C peuvent être plus positives que celles liées à l'alimentation de l'animal en question, en raison des voies de biosynthèse (Hammer *et al.*, 1998). Grâce aux valeurs en  $\delta^{13}$ C des acides palmitique et stéarique, il est possible de distinguer les graisses animales provenant des ruminants et des non-ruminants.

Il est également possible de faire la différence entre les produits laitiers et les graisses sous-cutanées provenant des ruminants, car l'acide stéarique présent dans les produits laitiers est appauvri en <sup>13</sup>C (de plus de 2,3 ‰) par rapport à celui présent dans ces dernières (Copley *et al.*, 2003). Les acides gras présents dans les tissus adipeux sont biosynthétisés dans le rumen à partir de carbohydrates (glycolyse) provenant de l'alimentation de l'animal. Etant donné que la glande mammaire ne peut pas synthétiser l'acide gras C<sub>18:0</sub>, celui-ci provient alors à 60 % des tissus adipeux et à 40 % de l'hydrogénation dans le rumen des acides gras insaturés (Figure 3.24) provenant de l'alimentation (Evershed, 2009).



Figure 3.24 : Différences entre les voies de biosynthèse des acides gras des tissus adipeux et des produits laitiers chez les ruminants (Evershed, 2009).

### II.4) Résultats isotopiques pour les échantillons de Deir el-Médineh

La GC-C-IRMS est utilisée en archéologie moléculaire afin de déterminer l'origine biologique des acides gras couramment présents dans les résidus archéologiques. Les graisses animales (ruminants, non-ruminants et produits laitiers) ont été particulièrement étudiées. La mesure des valeurs en  $\delta^{13}$ C des acides palmitique et stéarique de ces différentes graisses permet d'en faire facilement la distinction et de déterminer l'origine biologique d'une graisse retrouvée en contexte archéologique, grâce à l'établissement de modèles.

Des analyses isotopiques ont été réalisées sur une dizaine d'échantillons appartenant à la famille des échantillons de Deir el-Médineh caractérisés par une base lipidique. Nous avons effectué ces analyses sur les fractions F3 globales mais aussi sur des séries de composés préalablement séparés par chromatographie en phase gazeuse tels que les *n*-alcanes, les acides gras majoritaires (acides palmitique et stéarique) et pour la première fois sur des produits de dégradation des graisses tels que les lactones ( $\delta$  et  $\gamma$ ) ainsi que sur les diacides. Dans le cas des *n*-alcanes et des acides gras, de nombreuses valeurs obtenues pour des références modernes et des échantillons archéologiques sont mentionnées dans la littérature, permettant ainsi la comparaison directe avec celles obtenues pour les échantillons de Deir el-Médineh. En revanche, seul un très faible nombre de valeurs isotopiques est présenté dans la littérature sur les lactones et les diacides, rendant ce type de comparaison direct impossible ici.

### II.4.1) Analyses sur les fractions F3 globales & les échantillons bruts

Ces analyses (*cf.* Partie expérimentale) ont été réalisées sur seize fractions F3 provenant de la famille des échantillons de Deir el-Médineh à base lipidique dont les états de dégradation sont distincts (Figure 2.4). Ainsi, des mesures ont été réalisées sur les fractions F3 de sept échantillons très dégradés (E10719, E16465, E16419, E16432, E16415, E16427 et E16443), des deux échantillons intermédiaires (E16420 et E16439) et de sept échantillons peu dégradés (E16444, E16421, E16446, E16449, E16478, SN1 et E16458). La fraction F3, caractérisée par la présence des composés très polaires, constitue la fraction majoritaire des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.

Les résultats isotopiques ont été obtenus sur la globalité de la fraction F3 qui peut être un mélange, ce qui rend l'interprétation des résultats délicates. Dans le but de faciliter

l'interprétation des valeurs obtenues sur les fractions F3, nous avons choisi d'en calculer la moyenne et de représenter les valeurs maximale et minimale, via une barre verticale sur le graphique en fonction des différents états de dégradation des échantillons (Figure 3.25). A l'exception d'un échantillon, les résultats isotopiques sont homogènes (aux alentours de -26 ‰). L'originalité de l'échantillon E16458, déjà constatée lors des analyses par GC-MS (*cf.* Chapitre 2), est confirmée par les résultats isotopiques. Dans le cas des autres échantillons, de légères différences sont visibles selon leur état de dégradation : on constate un appauvrissement en <sup>13</sup>C pour les échantillons dans un état de dégradation plus avancé. Cependant, il est très important de rappeler que ces différences isotopiques peuvent être liées aux origines biologiques différentes (*cf.* Chapitre 2), ce qui est fort probablement le cas des échantillons de Deir el-Médineh. Les informations sur ce type de valeurs étant, à notre connaissance, inexistantes dans la littérature, nous n'avons pas pu confronter nos résultats à ceux d'autres études.

Ces résultats ont confirmé les regroupements d'échantillons en différentes familles que nous avions réalisés suite au fractionnement.



Figure 3.25 : Distribution des valeurs de  $\delta^{13}$ C obtenues pour les fractions F3 selon les différents états de dégradation des échantillons.

### Remarque :

Dans le cas particulier de l'échantillon E16459 appartenant à la famille d'échantillons à base de sucres, les mesures isotopiques ont été réalisées sur le brut, c'est-à-dire un

prélèvement de l'échantillon effectué avant le fractionnement. Comme les résultats obtenus dans le chapitre 2 indiquaient la présence d'un miel, nous avons comparé la valeur isotopique de cet échantillon brut à celles de miels de référence étudiés au laboratoire ainsi qu'à celles décrites dans la littérature (Tableau 3.5) : ceci nous a permis d'exclure les miels de plantes en  $C_4$  et d'avancer l'hypothèse qu'il s'agisse d'un miel de plantes en  $C_3$  sans pouvoir pousser plus loin l'identification (Padovan *et al.*, 2003).

Echantillon archéologique & références	δ <sup>13</sup> C (‰)
E16459	-23,09
Miel plantes en C <sub>3</sub>	-21,96 à -30,47
Miel plantes en C <sub>4</sub>	-11,82 à -19
Miel de montagne	-25,8
Miel d'acacia <sup>1</sup>	-24,4
Miel de tilleul <sup>1</sup>	-25,1
Miel de fleurs <sup>1</sup>	-26,8

Tableau 3.5 : Valeurs en  $\delta^{13}$ C pour l'échantillon archéologique E16459 et les miels de références (Padovan *et al.*, 2003) ; <sup>1</sup>: résultats obtenus au laboratoire.

### II.4.2) Les n-alcanes

Les *n*-alcanes, *n*-alcools et *n*-acides des végétaux supérieurs ont des valeurs en  $\delta^{13}$ C d'environ -35 ± 5 ‰ dans le cas des plantes en C<sub>3</sub> et d'environ -20 ± 5 ‰ dans le cas des plantes en C<sub>4</sub> (Chikaraishi and Naraoka, 2007). En général, les *n*-alcanes issus des cires végétales sont appauvris en <sup>13</sup>C de 6,7 à 11 ‰ (Tableau 3.6) par rapport à l'analyse isotopique de l'ensemble des tissus des feuilles (Bi *et al.*, 2005). Ces différences compliquent l'interprétation des résultats.

	Plantes en C <sub>3</sub>	Plantes en C <sub>4</sub>	Plantes CAM
Globalité (feuilles)	-30,1 à -27,1	-14 à -10,8	
<i>n</i> -alcanes (feuilles)	-38,9 à -29,1	-26,4 à -14,1	-29,5 à -21,5
<i>n</i> -alcanes (cires)	-37,9 à -30	-24,4 à -14,6	

Tableau 3.6 : Valeurs en  $\delta^{13}$ C (en ‰) obtenues pour les plantes en C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> et CAM (Bi *et al.*, 2005; Collister *et al.*, 1994).

Les mesures isotopiques des *n*-alcanes ont été réalisées sur trois échantillons archéologiques (Tableau 3.7). Dans le cas particulier de l'échantillon E16458, l'analyse moléculaire avait révélé la présence d'une graisse animale en mélange avec une substance végétale dont seule la cire avait survécu aux phénomènes de dégradation. La distribution des *n*-alcanes marquée par une prédominance impaire aurait pour origine les cires cuticulaires de la substance végétale initialement présente dans le mélange. Les résultats isotopiques obtenus pour les *n*-alcanes, de l'ordre de -25 à -27 ‰, correspondent à ceux obtenus pour des cires provenant des plantes en C<sub>4</sub>, ce qui semble cohérent avec le climat chaud et aride de l'Egypte. La nature précise de cette plante n'a pas pu être déterminée.

Concernant l'échantillon E16478, également constitué d'un mélange de graisse animale et d'une substance végétale (comme l'échantillon E16458), la prédominance impaire des *n*-alcanes résulte de la contribution végétale. Des traces d'esters lourds étant également présentes, nous avons supposé que les *n*-alcanes provenaient de la cire. Là encore, les valeurs isotopiques obtenues de l'ordre de -23 à -28 ‰ semblent indiquer une cire de plantes en C<sub>4</sub>, mais étant donné que celles-ci sont différentes de celles obtenues pour l'échantillon E16458, il est possible qu'il s'agisse de plantes différentes.

Concernant l'échantillon E10719, dans lequel la présence d'huile végétale avait été constatée lors des analyses par GC-MS, la détection de trace d'esters lourds indique également la présence d'une cire végétale résultant très probablement du mode de préparation de l'huile. Cependant, les *n*-alcanes proviennent très certainement de l'huile. L'absence de données isotopiques relatives à ce type de composés dans la littérature ne nous a pas permis de comparer nos résultats.

Echantillons			δ <sup>13</sup> C (‰	)	
archéologiques et					
références	<i>n</i> -C <sub>23</sub>	<i>n</i> -C <sub>25</sub>	<i>n</i> -C <sub>27</sub>	<i>n</i> -C <sub>29</sub>	<i>n</i> -C <sub>31</sub>
E10719	-27,1	-27,1	-25,8	-26,9	-26,7
E16478	-28,2	-26,2	-23,4	-25,6	-26,3
E16458	-24,7	-23,3	-22,8	-24,2	-23
Cire d'abeille	-25,1	-25,8	-26,1	-26,4	-26,6
Cire végétale C <sub>4</sub>		-25 à -19	-24 à -19	-27 à -19	
Cire végétale C <sub>3</sub>		-35 à -32	-36 à -34	-36 à -34	

Tableau 3.7 : Valeurs  $\delta^{13}$ C obtenues pour les *n*-alcanes présents dans les échantillons archéologiques, de cires d'abeille (Evershed *et al.*, 2003) et de cires épicuticulaires (Evershed *et al.*, 1999) de référence.

### II.4.3) Les acides gras

La mesure isotopique des acides gras majoritaires (acides palmitique et stéarique) provenant de résidus archéologiques est très fréquemment décrite dans la littérature. Elle permet le plus souvent de préciser l'origine biologique (animale ou végétale) du corps gras mais également de déterminer plus spécifiquement le type de graisse (ruminant, porc, lait et produits dérivés) ou d'huile (plantes en C<sub>3</sub> ou C<sub>4</sub>) présent. Des mesures ont donc été réalisées sur ces acides provenant d'échantillons actuels afin d'établir des modèles de référence pour les échantillons archéologiques. Cette méthode s'avérant relativement efficace dans le cas de corps gras purs, l'interprétation devient extrêmement complexe en cas de mélange. Dans le cadre de ces travaux, les mesures isotopiques ont été réalisées sur les acides palmitique et stéarique « libres », provenant des échantillons de Deir el-Médineh très dégradés (E10719, E14602, E16415, E16419 et E16438), intermédiaires (E16420) et peu dégradés (E16421, E16444, E16446, E16478 et E16458), soit sur un total de onze échantillons.

### II.4.3.i) Les différents modèles décrits dans la littérature

*Cas des graisses animales.* Le modèle le plus utilisé en archéologie moléculaire et le plus cité dans la littérature est celui élaboré par l'équipe d'Evershed (Evershed, 2009). Les valeurs isotopiques des acides palmitique et stéarique provenant de graisses animales modernes

d'origine anglaise (alimentation animale exclusivement constituée de plantes en C<sub>3</sub>) ont été mesurées et reportées dans un graphique représentant le  $\delta^{13}C_{18:0}$  en fonction du  $\delta^{13}C_{16:0}$ . Des zones très distinctes ont ainsi été mises en évidence selon qu'il s'agisse de graisse de ruminant, de graisse de porc ou de produits laitiers (Figure 3.26). Les acides en C<sub>16:0</sub> et C<sub>18:0</sub> de graisse de porc sont plus riches en <sup>13</sup>C (environ -25 ‰) que celles de ruminant (-32 ‰ pour le terme en C<sub>18:0</sub> et -29 ‰ pour celui en C<sub>16:0</sub>) et de produits laitiers (-34 ‰ pour le terme en C<sub>18:0</sub> et -29 ‰ pour celui en C<sub>16:0</sub>). Les différences isotopiques entre les valeurs de C<sub>18:0</sub> de la graisse de ruminant et des produits laitiers (traduisant un appauvrissement en <sup>13</sup>C pour le C<sub>18:0</sub> issu de ces derniers) permettent de faire la distinction entre ces corps gras. La mise en place de ce modèle a permis d'identifier de nombreux corps gras retrouvés en contexte archéologique (Copley *et al.*, 2003; Evershed *et al.*, 2002; Mottram *et al.*, 1999), et tout particulièrement les produits laitiers qui ne pouvaient pas l'être par GC-MS (*cf.* Chapitre 2).

En parallèle du modèle proposé par Evershed, particulièrement bien adapté au nord de l'Europe (Copley *et al.*, 2003; Copley *et al.*, 2005b), d'autres modèles du même type ont été mis en place sur des graisses animales provenant d'Europe Centrale (Spangenberg *et al.*, 2006), du Moyen Orient (Gregg *et al.*, 2009) et du Kazakhstan (Outram *et al.*, 2009) (Figure 3.26). La comparaison de ces modèles a montré de grandes disparités isotopiques pour les acides palmitique et stéarique provenant de graisses de ruminant, de porc et de produits laitiers de différentes zones géographiques.

- Graisse de porc (Figure 3.26, représenté en vert). On constate que les valeurs décrites dans le modèle d'Evershed et celles décrites pour le Kazakhstan sont identiques. Cependant, ces valeurs sont totalement différentes de celles décrites pour l'Europe Centrale et celles du Moyen Orient. Ces dernières (δ<sup>13</sup>C<sub>16:0</sub> : -30 à -33 ‰ ; δ<sup>13</sup>C<sub>18:0</sub> : -28 à -32,5 ‰) sont appauvries en <sup>13</sup>C par rapport à celles d'Evershed (δ<sup>13</sup>C<sub>16:0</sub> :-25 à -27 ‰ ; δ<sup>13</sup>C<sub>18:0</sub> : -24 à -26 ‰).
- *Graisse de ruminant (Figure 3.26, représenté en orange).* Les valeurs obtenues sur ce type de graisse sont différentes pour ces quatre zones géographiques. On note qu'en comparaison au modèle d'Evershed ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -28 à -31 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -30 à -34 ‰), les valeurs obtenues pour le Kazakhstan sont enrichies en <sup>13</sup>C ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -24 à -27 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -26 à -30 ‰), tandis que celles de l'Europe Centrale sont appauvries en <sup>13</sup>C ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -32 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -33 ‰). Dans le cas du Moyen Orient, les mesures ont été prises pour de la graisse de chèvre et de mouton. Celles-ci sont complètement

différentes (chèvre :  $\delta^{13}C_{16:0}$  : -31,5 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -32 ‰ / mouton :  $\delta^{13}C_{16:0}$  : -24 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  -25 ‰), et il n'a pas été possible de définir une gamme de valeurs isotopiques précise.

Produits laitiers (Figure 3.26, représenté en violet pour les bovins et en rose pour les ovins). Concernant les produits laitiers, seules les valeurs obtenues pour le Kazakhstan se démarquent, étant donné qu'elles sont enrichies en <sup>13</sup>C (δ<sup>13</sup>C<sub>16:0</sub> : -25 à -28 ‰; δ<sup>13</sup>C<sub>18:0</sub> : -30 ‰).

De manière générale, il apparait que les valeurs isotopiques des acides palmitique et stéarique de corps gras d'origine animale provenant du Kazakhstan soient plus riches en <sup>13</sup>C que celles d'Angleterre. Pour les corps gras provenant du Moyen Orient, on observe le phénomène inverse. La raison de ces différences isotopiques pourrait être l'alimentation des animaux en question et il apparait donc primordial de bien choisir le modèle auquel les résultats archéologiques vont être comparés.

L'absence de modèle spécifique à l'Egypte nous a conduit à comparer les résultats obtenus pour les échantillons de Deir el-Médineh à ceux décrits pour le modèle le plus proche géographiquement, ici le Moyen Orient.



Figure 3.26 : Comparaison des différents modèles décrits dans la littérature pour des graisses de référence (modèle d'Evershed en bleu), en fonction de la zone géographique (Gregg and Slater, 2010).

*Cas des huiles végétales.* Contrairement aux graisses animales, il n'existe que peu de modèles pour les huiles végétales. Comme nous l'avons indiqué précédemment, les valeurs isotopiques différant entre les plantes en C<sub>3</sub> et les plantes en C<sub>4</sub> en permettent la distinction : les plantes en C<sub>4</sub> sont riches en<sup>13</sup>C ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -16 à -17,6 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -14,5 à -16,8 ‰), en comparaison des plantes en C<sub>3</sub> ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -27 à -30 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -25 à -29 ‰).

Etant établi que l'alimentation en Egypte ancienne était très largement basée sur des plantes en C<sub>3</sub> (Thompson et al., 2005), des études isotopiques sur des huiles modernes provenant de ce type de plantes ont été mentionnées dans la littérature. En comparant les valeurs isotopiques obtenues sur les acides palmitique et stéarique d'huiles de référence à celles obtenues pour des échantillons archéologiques, il est possible de préciser la nature de l'huile végétale mise en évidence par GC-MS (Figure 3.27). Deux études de ces huiles ont été récemment entreprises. La première étude (Steele et al., 2010) portait sur les huiles d'olive, d'argan, de sésame, d'amande, de noix et de moringa (Figure 3.27, en vert), tandis que la seconde (Romanus et al., 2008) portait sur celles de palme, d'arachide, de tournesol et sur deux huiles de la famille des Brassicacées, les huiles de colza et de radis (Figure 3.27, en orange). Les valeurs isotopiques  $\delta^{13}C_{16:0}$  et  $\delta^{13}C_{18:0}$  obtenues pour ces huiles végétales sont comprises dans des gammes très larges ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -31 à -26 ‰ et  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -32 à -25 ‰). Des différences isotopiques sont tout de même visibles entre ces huiles, permettant ainsi de faire la distinction de certaines d'entre elles. Trois huiles présentent des valeurs isotopiques particulières, à savoir l'huile de moringa ( $\delta^{13}C_{16:0}$ : -26 ‰ et  $\delta^{13}C_{18:0}$ : -25,5 ‰), d'amande  $(\delta^{13}C_{16:0}: -27,5 \% \text{ et } \delta^{13}C_{18:0}: -29,5 \%)$  et d'arachide  $(\delta^{13}C_{16:0}: -29 \% \text{ et } \delta^{13}C_{18:0}: -30,5 \%)$ . Pour d'autres en revanche, les valeurs isotopiques étant très proches les unes des autres, leur distinction s'avère impossible : c'est le cas notamment des huiles de tournesol, de palme et de colza ( $\delta^{13}C_{16:0}$ : -30,5 ‰ et  $\delta^{13}C_{18:0}$ : -31 ‰), des huiles de sésame, de noix et d'argan  $(\delta^{13}C_{16:0}: -27 \text{ \% et } \delta^{13}C_{18:0}: -28 \text{ \%})$ , et des huiles d'olive et de radis  $(\delta^{13}C_{16:0}: -28, 5 \text{ \% et } \delta^{13}C_{16:0}: -28, 5 \text{ \% et } \delta$  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -28 ‰).



Figure 3.27 : Valeurs isotopiques des acides provenant d'huiles de références modernes décrites dans la littérature, en vert (Steele *et al.*, 2010), en orange (Romanus *et al.*, 2008).

En comparant les valeurs isotopiques obtenues pour les huiles de plantes en  $C_3$  à celles décrites dans le modèle d'Evershed, il a été constaté que la zone correspondant aux valeurs de plantes en  $C_3$  est la même que celle correspondant à la zone intermédiaire de mélange entre les graisses de ruminants et de porc (Figure 3.28) (Evershed *et al.*, 1999). Il apparait donc extrêmement délicat voire impossible sur la seule base de l'isotopie de faire la distinction entre la présence d'une huile de plantes en  $C_3$  et un mélange entre une graisse de ruminant et une graisse porcine.

## II.4.3.ii) Comparaison avec les résultats obtenus pour les échantillons de Deir el-Médineh

Les résultats isotopiques obtenus pour les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh ont été comparés aux modèles décrits pour les graisses animales (modèle d'Evershed et modèle correspondant au Moyen Orient) (Gregg and Slater, 2010), ainsi qu'aux valeurs obtenues pour les huiles de référence (Steele *et al.*, 2010) (Figure 3.28). Nous avons constaté que les valeurs obtenues se situent dans la zone problématique décrite précédemment, correspondant à la fois aux mélanges de graisses animales et aux huiles végétales. Comme nous l'avons déjà mentionné, le modèle d'Evershed ne semble pas adapté à l'étude d'échantillons provenant d'Egypte et il est plus judicieux de comparer nos valeurs à celles décrites pour le Moyen Orient.

Parmi les onze échantillons pour lesquels des analyses isotopiques ont été réalisées, il a été possible de distinguer deux zones distinctes. La première zone, notée **1** (Figure 3.28, en rouge) est caractérisée par les valeurs isotopiques suivantes :  $\delta^{13}C_{16:0}$  : -26,5 à -28 ‰ et  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -26 à -29,5 ‰, on y voit les échantillons très dégradés (E10719, E14602, E16415, E16419 et E16438). La seconde, notée **2** (Figure 3.28, en rouge) est quant à elle, caractérisée par les valeurs isotopiques suivantes :  $\delta^{13}C_{16:0}$  : -24 à -26 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -26 à -29 ‰ : cette zone comprend les échantillons intermédiaires et peu dégradés (E16420, E16421, E16444, E16446 et E16478). L'échantillon peu dégradé E16458 n'appartient à aucune de ces deux zones dans la mesure où les valeurs que nous avons obtenues sont beaucoup plus riches en <sup>13</sup>C ( $\delta^{13}C_{16:0}$  : -22 ‰ ;  $\delta^{13}C_{18:0}$  : -25,5 ‰).

Par comparaison de nos résultats pour les échantillons de Deir el-Médineh avec ceux obtenus pour les graisses du Moyen Orient, on constate que ceux-ci ne correspondent ni à des graisses de porc ni à des produits laitiers. Sur cette base, l'hypothèse de la graisse de ruminant est la plus probable, mais le faible nombre de valeurs de référence décrites dans la littérature ne nous permet pas de l'affirmer. En représentant les résultats selon un mode de projection différent qui consiste à exprimer  $\delta^{13}C_{18:0}$ - $\delta^{13}C_{16:0}$  en fonction de  $\delta^{13}C_{18:0}$  (Figure 3.29), on a constaté que quelle que soit la zone dans laquelle se situaient les échantillons, ils se localisent tous dans ce nouveau graphique, dans la région des graisses de ruminant, ce qui semble confirmer l'hypothèse précédente.

Dans le cas particulier de l'échantillon E16458, les valeurs isotopiques relativement atypiques semblent indiquer une graisse particulière qui n'est ni porcine, ni bovine, ni ovine, ni un produit laitier. Il n'a cependant pas été possible de préciser la nature du corps gras présent.

Si on compare ces valeurs, à celles des huiles de références décrites dans la littérature (Steele *et al.*, 2010), on constate que les échantillons de la zone 1 sont caractérisés par les

mêmes valeurs isotopiques (à l'exception de l'huile de moringa, dont les valeurs isotopiques sont voisines de celles des échantillons de la zone 2) (Figure 3.28).



Figure 3.28 : Valeurs isotopiques des acides gras majoritaires obtenues pour des graisses modernes du Moyen Orient (Gregg and Slater, 2010), des huiles végétales modernes (olive, sésame, argan, amande, noix et moringa, en vert) (Steele *et al.*, 2010), le modèle d'Evershed est représenté en bleu, et des échantillons provenant de Deir el-Médineh, en rouge (1. Echantillons très dégradés ; 2. Echantillons intermédiaires et peu dégradés).



Figure 3.29 : Projection de Δ<sup>13</sup>C (δ<sup>13</sup>C<sub>18:0</sub>-δ<sup>13</sup>C<sub>16:0</sub>) en fonction du <sup>13</sup>C<sub>18:0</sub> pour des références modernes (Gregg and Slater, 2010; Steele *et al.*, 2010) et les échantillons de Deir el-Médineh (1. Echantillons très dégradés ; 2. Echantillons intermédiaires peu dégradés).

### II.4.3.iii) Conclusion

Sur la seule base des valeurs isotopiques, il nous a été impossible de déterminer la nature des corps gras utilisés dans les échantillons de Deir el-Médineh. L'absence de modèle dédié à l'Egypte a été problématique lors de l'interprétation des résultats. Ainsi, faire la différence

entre une graisse et une huile, mais également entre différentes huiles, différentes graisses, sans mentionner les mélanges de corps gras n'est pas toujours aisée.

Malgré ces difficultés, en combinant les informations obtenues par GC-MS et celles des acides collectées via GC-C-IRMS, des réponses à nos questionnements ont pu être apportées. Ainsi les analyses par GC-MS ont permis de déterminer la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative dans les échantillons très dégradés (zone 1), ce qui est cohérent avec les données isotopiques que nous avons recueillies. Dans le cas des échantillons intermédiaires et peu dégradés, à l'exception de l'échantillon E16458, nous avons conclu qu'une graisse animale, probablement du type ruminant était présente en mélange avec une substance végétale, conclusion qui a été confirmée ultérieurement par les mesures isotopiques. La nature du corps gras présent dans l'échantillon E16458 n'a pas pu être déterminée : d'après les résultats obtenus par GC-MS, il s'agirait d'une graisse du type monogastrique ce qui n'a malheureusement pas pu être confirmé par les données isotopiques. Il semble s'agir d'une graisse atypique, peut-être monogastrique.

L'interprétation des valeurs isotopiques demeure délicate dans la mesure où, pour les échantillons de Deir el-Médineh, des mélanges entre des corps gras d'origine animale ou végétale avec une substance végétale avaient été mis en évidence. Il est donc probable qu'il y ait une contribution de la composante végétale dans les valeurs mesurées. Cependant, il est impossible de déterminer la nature de cette contribution ou la déviation des valeurs isotopiques. De plus à l'heure actuelle, nous n'avons pas suffisamment de recul vis-à-vis de cette technique et nous ne savons pas quelles sont les conséquences de l'altération des corps gras archéologiques sur les valeurs isotopiques.

### II.4.4) Les diacides

L'analyse isotopique de diacides retrouvés en contexte archéologique est rarement décrite dans la littérature. Les seuls résultats mentionnés sont ceux concernant des graisses animales et des huiles végétales provenant de tessons de lampes retrouvées en Egypte (Copley *et al.*, 2005d). Les mesures isotopiques réalisées sur les diacides (termes en  $C_8$ ,  $C_9$  et  $C_{10}$ ) y sont indiquées, mais aucune conclusion sur leur origine biologique n'est mentionnée. Dans le but de comparer nos résultats, nous avons effectué des mesures isotopiques sur ces mêmes diacides présents dans les échantillons de Deir el-Médineh peu et très dégradés. Afin de faciliter l'interprétation et la comparaison des résultats, nous avons indiqué les valeurs minimale et maximale ainsi que la valeur moyenne obtenue pour chaque diacide dans les Tableau 3.8 & 3.9.

Par comparaison des valeurs obtenues pour les diacides des échantillons de Deir el-Médineh, nous avons constaté que les résultats sont homogènes et qu'il n'y a pas de différence entre échantillons très dégradés contenant une huile végétale et échantillon peu dégradés contenant une graisse animale (Tableau 3.8). Si on compare ces résultats à ceux des acides palmitique et stéarique, la différence est très nettement marquée. Les valeurs isotopiques moyenne des acides (-26 à -27 ‰) sont plus négatives que celles des diacides, indiquant ainsi un appauvrissement en <sup>13</sup>C des acides dont l'origine est inconnue. Des problèmes majeurs liés à l'interprétation des résultats et à la détermination d'une origine biologique, tels que ceux mentionnés précédemment pour les acides sont peut être identiques dans le cas des diacides.

Par comparaison de ces résultats avec ceux décrits dans la littérature (Tableau 3.9), on constate que les valeurs moyennes des diacides sont légèrement plus faibles (de -21 à -25 ‰, avec une valeur moyenne de -24 ‰, dans le cas de l'acide azélaïque) que celles des diacides de Deir el-Médineh. Les origines de cette différence n'ont pas pu être déterminées. De même que pour les échantillons de Deir el-Médineh, les valeurs isotopiques moyennes des acides d'échantillons archéologiques de la littérature (-25 à -27 ‰) sont légèrement plus faibles que celles des diacides.

Le manque de recul concernant les résultats isotopiques sur les diacides ne nous permet pas d'en approfondir l'interprétation. L'absence de valeur isotopique sur les acides gras insaturés et tout particulièrement sur l'acide oléique pose un réel problème. Afin de pouvoir corréler les informations, il aurait été très intéressant de comparer les valeurs de l'acide oléique à celles de l'acide azélaïque. Malheureusement, comme l'acide oléique n'est plus présent dans les échantillons archéologiques, cela n'a pas été possible. Des simulations de dégradation de corps gras frais permettraient de collecter des valeurs isotopiques pour ces deux acides, voire même de résoudre ces problèmes d'interprétation.

Echantillons	Diacides carboxyliques (‰)			Acides gras (‰)	
archéologiques	C <sub>8</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>
Echantillons					
très dégradés					
E10719	-22,8	-22,8	-21,8	-27,2	-28,8
E14602	-23,1	-22,6	-22,5	-27,9	-27,7
E16415	-23,6	-23,2	-21,5	-26,6	-27,8
E16419	-23	-22,6	-22	-27,2	-27,7
E16438	-22,7	-22,6	-21,5	-26,8	-26,8
Echantillons					
peu dégradés					
E16420	-21,7	-23,1	-20,6	-26,8	-28,4
E16444	-23,7	-24,1	-18,5	-25,7	-26,3
E16446	-22,7	-22,9	-23	-25,2	-27,4
E16478	-23,9	-23,1	-24,4	-24,7	-26,7
Valeur	22.0	24.1	24.4	27.0	200
minimale	-23,9	-24,1	-24,4	-27,9	-20,8
Valeur	21.7	22.1	18.5	247	26.2
maximale	-21,/	-22,1	-10,0	-24,7	-20,3
Moyenne	-23	-22,9	-21,8	-26.4	-27,3

Tableau 3.8 : Valeurs isotopiques obtenues pour les diacides et les acides des échantillons provenant de Deir el-Médineh.

Echantillons	Diacides carboxyliques (‰)			Acides gras (‰)	
archéologiques	C <sub>8</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>
QI 124 free	-25,5	-25,2	-26,5	-24	-26,1
QI 125 free	-26,8	-25,2	-	-26,3	-26,4
QI 123 free	-26,4	-24,2	-22,9	-22,6	-25
QI 120 bound	-21,4	-21,4	-	-27,8	-29,7
QI 126 free	-26,1	-24,6	-25,1	-23,5	-25,7
QI 128 free	-24,1	-23,3	-23,9	-25,5	-26,7
Valeur minimale	-26,8	-25,2	-26,5	-27,8	-29,7
Valeur maximale	-21,4	-21,4	-22,9	-22,6	-25
Moyenne	-25	-24	-24,6	-24,9	-26,6

 Tableau 3.9 : Valeurs isotopiques obtenues pour les diacides et les acides d'échantillons archéologiques provenant d'Egypte (Copley et al., 2005d).
#### II.4.5) Les lactones

Les lactones à chaînes longues (termes en  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ), produits de dégradation des corps gras, sont très rarement décrites dans la littérature lors de l'analyse de résidus archéologiques et aucune donnée isotopique les concernant n'a été publiée. Des valeurs isotopiques de lactones naturelles, caractérisées par des chaînes courtes telle que la  $\gamma$ -décalactone (terme en  $C_{10}$ ) ont été mesurées afin de vérifier l'authenticité d'arômes utilisés dans l'industrie alimentaire (Nitz *et al.*, 1991). Ces valeurs sont de l'ordre de -38,5 à -40,9 ‰ pour la  $\gamma$ décalactone caractéristique de l'arôme de pêche, et de -26 à -30,5 ‰ pour la lactone caractéristique de l'arôme de fraise. Puisque les origines des lactones naturelles et celles retrouvées en contexte archéologique sont différentes, les comparer entre elles ne présentait aucun intérêt.

Au cours de cette étude, nous avons mesuré les valeurs isotopiques pour les termes en  $C_{16}$  et  $C_{18}$  des  $\gamma$ - et  $\delta$ -lactones présentes dans des échantillons peu et très dégradés. Les résultats obtenus sont relativement homogènes, indiquant ainsi une origine commune (Tableau 3.10). Dans le cas de l'échantillon peu dégradé E16421, les valeurs isotopiques moins négatives permettent d'affirmer que ces lactones sont plus riches en <sup>13</sup>C que celles présentes dans les échantillons très dégradés. Ceci pourrait être cohérent avec une origine biologique différente comme nous l'avons déjà mentionné dans le Chapitre 2. L'absence de recul sur ce type de résultats ne nous permet pas d'approfondir l'interprétation. De la même manière que pour les diacides, il serait intéressant de réaliser ce type de mesure sur des lactones formées suite à des simulations de dégradation de graisse animale et d'huile végétale, afin de mettre éventuellement en évidence des différences.

			δ <sup>13</sup> C (‰)		
Echantillons archéologiques	γ- <i>l</i> c	actones		δ-lactor	ies
	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>		C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>
Echantillons très dégradés					
E10719	-26,6	-27,9		-	-
E14602	-27,2	-28,2		-	-
E16415	-27,5	-29,5		-	-
E16419	-29,8	-29,6		-29,5	-30,2
E16438	-28,2	-29,5		-28,7	-28
E16443	-27,4	-27,2		-	-
Echantillon peu dégradé					
E16421	-25,6	-26,5		-	-

 Tableau 3.10 : Valeurs isotopiques obtenues pour les lactones provenant des échantillons de Deir el-Médineh.

#### **II.4.6)** Conclusion

L'information isotopique contenue dans les échantillons archéologiques est très importante et permet de déterminer l'origine biologique d'une graisse, d'une huile, ou encore de préciser un type de cire. La GC-C-IRMS est un outil très puissant qui doit être utilisé en parallèle des analyses moléculaires. Cependant, ces données doivent être interprétées par le chimiste avec précaution, car de très nombreux paramètres doivent être pris en compte (choix du modèle, présence de mélange, degré d'altération de l'échantillon, etc).

L'étude des données isotopiques nous a permis de confirmer l'existence de deux types d'échantillons au sein du corpus d'échantillons archéologiques de Deir el-Médineh. Le premier ensemble est constitué d'échantillons très dégradés qui semblent contenir une huile végétale. Le second apparait quant à lui plus complexe : les échantillons de ce groupe semblent être constitués d'une graisse animale, probablement de ruminant, très souvent en mélange à une substance végétale dont seules les cires sont aujourd'hui détectées. Ces valeurs isotopiques ont également permis de confirmer la particularité de l'échantillon E16458, qui correspond probablement à un mélange entre un résidu végétal (plante en  $C_4$ ) et une graisse animale dont la nature n'a pas pu être précisée (peut-être monogastrique ?).

## CHAPITRE 4 : DISCUSSION AUTOUR DE LA FONCTIONNALITE DES POTERIES

Les résultats obtenus en GC-MS des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh ont mis en évidence la présence de deux familles d'échantillons. La première, représentant vingt échantillons, est constituée d'une base lipidique. Quant à la deuxième, elle est composée de trois échantillons et est caractérisée par la présence de sucres.

Les analyses moléculaires (GC-MS et LC-MS) couplées aux analyses isotopiques (GC-C-IRMS) des échantillons appartenant à la première famille ont permis d'identifier la nature du corps gras présent. Ce dernier, a par ailleurs pu être mélangé à une substance végétale dans certains cas. L'abondance anormale de ces poteries pourrait être l'indice d'une fonction particulière qui serait à associer à la nature de la population de la nécropole.

Les analyses moléculaires (GC-MS) des échantillons appartenant à la seconde famille ont mis en évidence la présence d'un miel, ainsi que celle de moût ou filtrat de boissons. Les fonctionnalités de ces poteries de typologie particulière ne seraient cette fois-ci pas propre à la population de la nécropole et seront également discutées dans ce chapitre.

Noms des	Techniques utilisées	Produits naturels identifiés							
échantillons		Huile végétale	Graisse de ruminant (bovin ou ovin)	Graisse de monogastrique	Graisse de volaille	Produit laitier	Substance végétale d'origine inconnue	Résine diterpénique	
<i>Bouteilles et Flacons</i> E10719, E14602 & E16465	GC-MS	✓ (siccative ou semi-siccative)	×	*	×	×	×	×	
	LC-MS								
	GC-C-IRMS (E10719 & E14602)	✓ (plante en $C_3$ )	×	×	×	×	-	-	
Pots avec la	GC-MS	✓ (siccative ou semi-siccative)	×	*	×	×	✓	✓ (E16432)	
substance élastique	LC-MS								
E16438, E16432, E16419 & E16415	GC-C-IRMS (E16438, E16419 & E16415)	✓ (plante en C <sub>3</sub> )	×	×	×	×	-	-	
Mini-amphore E16487	GC-MS	✓ (siccative ou semi-siccative)	×	×	×	×	✓	×	
	LC-MS								
	GC-C-IRMS								
Pot	GC-MS	<ul> <li>✓ (siccative ou semi-siccative)</li> </ul>	×	×	×	×	$\checkmark$	×	
E16427	LC-MS								
	GC-C-IRMS								
	GC-MS	? (non-siccative)	?	?	?	?	$\checkmark$	×	
<i>Pot</i> E16443	LC-MS								
	GC-C-IRMS								
<i>Pot</i> E16439	GC-MS	×	×	$\checkmark$	×	×	$\checkmark$	×	
	LC-MS	×	$\checkmark$	?	×	×	-	-	
	GC-C-IRMS				1				
<i>Pots</i> E16488, E16478, E16444, E16421, E16446, E16449, E16420 & SN1	GC-MS	×	$\checkmark$	×	×	×	$\checkmark$	×	
	LC-MS (E16478, E16444, E16421, E16446, E16449 & E16420)	×	$\checkmark$	?	×	×	-	-	
	GC-C-IRMS (E16478, E16444, E16421, E16446 & E16420)	×	$\checkmark$	?	×	×	<ul> <li>✓ (plante en C<sub>4</sub> ?) (E16478)</li> </ul>	-	
<i>Pot</i> E16458	GC-MS	×	×	✓	×	×	✓	×	
	LC-MS	×	$\checkmark$	?	×	×	-	-	
	GC-C-IRMS	×	×	?	×	×	$\checkmark$ (plante en C <sub>4</sub> ?)	-	

Figure 4.1 : Bilan des résultats obtenus par les différentes techniques analytiques utilisées sur les échantillons de Deir el-Médineh caractérisés par une base lipidique (🗸 : indique les substances présentes ; 😕 indique les substances absentes ; ?: indique des résultats non

significatifs; - : la technique n'apporte pas d'information ; les zones grisées indiquent des échantillons non analysés par cette technique).

#### Chapitre 4 - Discussion autour de la fonctionnalité des poteries

#### I) CAS DE LA FAMILLE A BASE LIPIDIQUE

### I.1) Identification des substances naturelles entrant dans la composition de ces échantillons

#### I.1.1) Cas des poteries contenant une huile végétale

Les analyses en GC-MS des échantillons archéologiques concernés ici ont montré une hydrolyse complète des TAG et la présence en quantité très importante de diacides et d'acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques (*cf.* Chapitre 2). Ces observations ont permis d'identifier l'utilisation d'une huile végétale siccative ou semi-siccative. Les résultats obtenus en GC-C-IRMS sur les acides palmitique et stéarique, confirment cette conclusion (Figure 4.1).

Ces constatations ont tout particulièrement été faites pour les échantillons provenant de bouteilles et de flacons (E10719, E14602 et E16465), où nous avons été en mesure de conclure sur la présence d'une huile siccative ou semi-siccative, dans un état de dégradation très avancé. Les traces de co-élution d'esters lourds détectées dans ces échantillons semblent provenir de l'huile végétale, et de sa fabrication. Ce résultat est cohérent avec les typologies particulières des poteries, qui laissaient penser à un contenu initialement liquide.

Dans le cas des pots qui contenaient une substance élastique (E16415, E16438, E16419 et E16432), les résultats moléculaires et isotopiques étaient identiques à ceux obtenus pour les bouteilles et flacons, indiquant la présence d'une huile végétale siccative ou semi-siccative. La seule différence était la détection de co-élution d'esters lourds en quantité plus importante que dans le cas des bouteilles et flacons. Les origines de ces esters lourds indicateurs de cire végétale sont diverses. Ainsi, dans le cas des pots, les cires détectées pourraient être le dernier vestige d'une substance végétale qui était initialement présente, résulter d'un mode de fabrication de l'huile différent ou encore indiquer une huile de nature différente. Les typologies distinctes entre les pots et les bouteilles et flacons contenant une huile, ainsi que la présence en quantité plus importante des cires dans les pots incitent à penser que l'hypothèse d'un mélange entre une huile et une substance végétale soit la plus probable.

Dans le cas de l'échantillon E16432, une résine diterpénique a pu également être ajoutée au mélange.

Pour les échantillons E16487 et E16427, il s'agit également d'un mélange entre une huile végétale siccative ou semi-siccative et d'une substance végétale. Cependant, les profils obtenus après les réactions de méthanolyse étaient différents de ceux obtenus pour les échantillons provenant de flacons et pots décrits précédemment. Ces différences s'expliquentelles par l'utilisation d'huile de nature différente, par un mode préparation différent ou encore par des dégradations distinctes?

*Remarque*. Dans le cas particulier de l'échantillon E16415, des analyses avaient déjà été réalisées en 1978 par les Laboratoires des Musées de France (*cf.* Chapitre 2). Le chimiste avait conclu à la présence d'une huile végétale dégradée, dont la distribution des acides gras indiquait probablement une huile de palme. D'après nos résultats, cette conclusion ne peut être que partiellement confirmée. Il s'agit bien d'une huile végétale dégradée, mais la distribution que nous avons observée pour les acides gras n'est pas typique de celle d'une huile de palme. En effet, la distribution des acides gras correspondant à l'huile de palme est dominée par les termes en  $C_{12:0}$ ,  $C_{14:0}$  et  $C_{16:0}$  (Copley *et al.*, 2001b). Ce type de distribution n'a été détecté dans aucun des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.

Les huiles végétales dans l'Egypte ancienne. Les scènes décrites dans les tombes de l'Egypte ancienne donnent peu d'informations sur l'agriculture et les procédés de fabrication des huiles. Nous pouvons supposer que le mode d'extraction des huiles soit à peu de chose près le même que celui utilisé aujourd'hui (Lucas and Harris, 1962c). Il se déroulerait en plusieurs étapes :

- *Le nettoyage*. Cette première étape consiste à éliminer les brindilles, les feuilles, le sable et les autres graines.

- *La décortication*. Cette étape est nécessaire quand il y a une mince écorce autour de la graine, comme c'est le cas pour le sésame. Les graines sont plongées dans de l'eau bouillante, puis séchées et frottées, ce qui facilitera le pressage.

- *Le broyage*. Il est probablement effectué à l'aide d'un mortier et d'un pilon pour obtenir une pâte.

- *Le pressage à chaud*. La pulpe est mélangée avec de l'eau puis chauffée. L'huile va flotter à la surface, permettant ainsi sa récupération. Elle sera ensuite chauffée pour éliminer l'eau restante.

258

- *Le pressage à froid*. Des sacs étaient remplis de graines, de tubercules ou de pulpes de fruits qui étaient ensuite pressés, tordus, puis suspendus afin de récupérer l'huile.

- *La filtration*. Elle permet l'élimination des restes de débris solides présents dans l'huile par sédimentation.

Par comparaison avec le procédé décrit dans le chapitre 2, l'étape de purification de l'huile consistant à éliminer les impuretés tels que les pesticides, les acides gras libres ou encore les cires n'existait pas dans l'Egypte ancienne. Des procédés différents (actuel/ancien) impliquent des compositions différentes et tout particulièrement au niveau des cires épicuticulaires qui ne sont pas présentes dans les huiles modernes mais qui peuvent l'être dans les huiles dégradées. Cette observation est tout à fait cohérente avec celles observées pour les échantillons de Deir el-Médineh. En effet, les traces d'esters lourds présentes dans les bouteilles et flacons proviennent très certainement d'une huile végétale. Dans le cas des pots contenant également une huile végétale, mais où les esters lourds sont détectés en plus grande quantité, leur origine est plus délicate à déterminer. Comme nous l'avons mentionné précédemment pour les pots, il est plus probable que les cires résultent de l'ajout d'une autre substance végétale.

Bien qu'il existe des biomarqueurs pour certaines huiles végétales telles que l'huile de ricin, l'huile du palmier dattier ou les huiles de la famille des *Brassicacées (cf.* Chapitre 2), ceux-ci n'ont pas été détectés dans les échantillons de Deir el-Médineh. Nous avons donc pu exclure la présence de ces huiles. L'absence de biomarqueurs spécifiques pour les autres huiles végétales, ainsi que l'état de dégradation avancé des échantillons, ne nous a pas permis d'identifier la nature des huiles utilisées.

Les huiles végétales avaient de nombreuses utilisations. Elles étaient essentiellement employées dans le domaine culinaire, dans la confection des onguents destinés à un usage cosmétique ou médical et qui pouvaient être parfumés ou non.

Les problèmes posés au moment de la traduction des hiéroglyphes ne permettent pas toujours d'identifier des espèces précises et de faire des corrélations avec des espèces actuelles. Parmi les huiles végétales siccatives ou semi-siccatives qui auraient pu être utilisées durant la XVIII<sup>ème</sup> dynastie, on peut citer (d'après Geneviève Pierrat-Bonnefois) :

- L'huile de carthame. Obtenue à partir des graines de *Carthamus tinctorius*, elle est utilisée pour la cuisine.

- L'huile de sésame. Obtenue à partir des graines, elle est utilisée pour l'onction, la cuisine et pour les lampes à brûler.

*Remarque*. Les égyptiens font référence pour les rites funéraires et religieux à un groupe consacré de sept « huiles saintes ». La présence de celles-ci dans les poteries de Deir el-Médineh est possible, mais leur nature végétale demeure inconnue. Les égyptologues supposent qu'elles étaient utilisées pour un usage médical, ainsi que pour l'onction des morts, mais leur nature reste indéterminée. Très peu d'informations sont mentionnées dans la littérature sur ces huiles (*cf.* paragraphe sur l'opium).

#### I.1.2) Cas des échantillons plus complexes provenant de pots

Dans le cas des nombreux échantillons homogènes d'aspect pâteux provenant des pots, la nature du corps gras présent dans ces mélanges complexes a été plus délicate à déterminer (Figure 4.1). Grâce aux analyses par GC-MS, nous avons pu identifier la présence d'une base lipidique via la détection de triglycérides en quantité importante, et de leurs produits d'hydrolyse. La présence de diacides et de dihydroxyacides en faible quantité indique une huile végétale non-siccative ou une graisse animale. Sur la base des profils des acides gras « liés », caractérisés par des mélanges d'isomères du  $C_{18:1}$ , ainsi que d'après l'analyse des TAG par LC-MS et les résultats isotopiques sur les acides palmitique et stéarique (*cf.* Chapitre 2 & 3), il semble que le corps gras soit une graisse animale provenant de ruminants, tels que les bovins et les ovins (à l'exception des échantillon E16458 et E16439, où un seul isomère du  $C_{18:1}$  était détecté). Dans le cas de l'échantillon E16439, il s'agirait d'une graisse animale provenant d'un animal monogastrique. Des analyses isotopiques n'ayant pas pu être réalisées, nous n'avons pas été en mesure de faire de comparaison avec l'échantillon E16458 (décrit dans la suite de cette partie).

La présence en quantité importante de co-élutions d'esters lourds et de *n*-alcanes dont la distribution est marquée par une prédominance impaire pour les termes avec une chaîne longue indiquent une contribution végétale dans tous ces échantillons. Il semblerait donc qu'une substance végétale était initialement en mélange avec la graisse animale, dont seule la cire a survécu aux conditions d'enfouissement et aux phénomènes d'altération.

*Cas particulier de l'échantillon E16458.* Des analyses sur cet échantillon avaient déjà été réalisées en 1978 par les Laboratoires des Musées de France. Le chimiste de l'époque avait conclu à la présence d'une graisse animale. Les analyses que nous avons menées au laboratoire, ont confirmé ce résultat. Les informations obtenues par GC-MS et LC-MS, ont révélé que la graisse animale présente n'était ni d'origine bovine, ni d'origine ovine. Les résultats obtenus en GC-C-IRMS indiquent une graisse animale particulière, différente des graisses décrites classiquement dans les modèles (*cf.* Chapitre 3), mais également différente de celles présentes dans les autres échantillons de Deir el-Médineh. La détection de co-élutions d'esters lourds, ainsi que la distribution des *n*-alcanes marquée par une prédominance impaire pour les termes avec une chaîne longue indiquent une contribution végétale. Une substance végétale, dont seules les cires sont toujours présentes, a donc été ajoutée à cette graisse animale.

*Remarque*. Dans le cas de l'échantillon E16443, les TAG avaient été totalement hydrolysés, mais la présence en faible quantité de diacides et dihydroxyacides, semblent indiquer l'utilisation d'une graisse animale ou d'une huile végétale non-siccative. Sur la seule base des résultats obtenus en GC-MS, nous n'avons pas été en mesure d'identifier le corps gras. Il serait intéressant de réaliser des mesures en GC-C-IRMS sur les acides palmitique et stéarique afin de préciser cette origine.

Les graisses animales utilisées dans l'Egypte ancienne. Elles proviennent essentiellement des animaux domestiqués comme les vaches, les moutons, les chèvres, les cochons, les ânes et les zébus. Elles peuvent aussi provenir d'animaux chassés tels que les hippopotames, les lions, les antilopes, les serpents ou les crocodiles. Ces graisses entrent dans la composition de nombreux remèdes. Des sources plus exotiques sont également mentionnées comme la gazelle, l'oryx, le lièvre, l'addax, l'ibex ou encore la hyène. Les graisses sont obtenues en grande quantité dans les tissus sous-cutanés et autour des organes, et en plus faible quantité autour des muscles (Lucas and Harris, 1962c; Serpico and White, 2000). Les graisses animales, en plus de leur valeur nutritionnelle étaient utilisées dans divers mélanges pouvant servir de lubrifiants, de liants, de vernis, de base pour les parfums, dans les onguents (remèdes et cosmétiques), lors des rituels religieux, ou encore des pratiques funéraires (Evershed *et al.*, 1997a).

#### I.1.3) Conclusion

Les résultats des analyses obtenus par GC-MS, LC-MS et GC-C-IRMS pour les échantillons caractérisés par une base lipidique ont permis de préciser l'origine des corps gras et d'identifier la nature des mélanges présents (Figure 4.2). Ainsi, les bouteilles et flacons contenaient une huile végétale siccative ou semi-siccative dont la nature précise n'a pas pu être déterminée, en raison de l'absence de biomarqueurs spécifiques. Dans le cas des pots contenant la substance élastique, la présence d'huile végétale siccative ou semi-siccative, sans doute en mélange avec une substance végétale a été mise en évidence. La nature de cette substance demeure inconnue et il n'a pas été possible de déterminer s'il s'agissait de la même substance dans les différents échantillons. Pour les échantillons contenant une graisse animale (de ruminant dans la majorité des cas), des mélanges avec une substance végétale ont également été constatés. Il n'a pas été possible d'établir son origine et de déterminer s'il s'agissait de la même substance que celle mentionnée précédemment. La base de corps gras dans ces échantillons semble cohérente avec l'hypothèse des onguents. Ils auraient pu être utilisés en tant que cosmétiques (onguents parfumés ou non) préparés par les techniques d'enfleurage et de macération (décrites ci-dessous), ou être destinés à un usage médical (remèdes).

Famille d'échantillon	Typologie	Numéro d'inventaire des poteries	Nature des substances présentes		
<b>BASE</b> Lipidique	Bouteilles et flacons	E10719, E14602 & E16465	Huile végétale siccative ou semi-siccative		
	Mini-amphore	E16487	Huile végétale siccative ou semi-siccative + substance végétale		
		E16419, E16438 & E16415	Huile végétale siccative ou semi-siccative + substance végétale		
		E16432	Huile végétale siccative ou semi-siccative + substance végétale + résine diterpénique		
		E16427	Huile végétale siccative ou semi-siccative + substance végétale		
	Pots	E16446, E16420, E16449, E16488, E16478, E16444, E16421, SN1	Graisse animale de ruminant + substance végétale		
		E16443	Graisse animale ou huile végétale non-siccative + substance végétale		
		E16458, E16439	Graisse animale (monogastrique) + substance végétale		
Base de Sucres	Vase à deux anses	E16459	Miel		
	Vase à offrandes	E14593	Moût de bière		
	Vase cigare	E16489	Huile siccative ou semi-siccative + substance végétale + sucres : filtrat d'une boisson fermentée ?		

Figure 4.2 : Tableau représentant la nature des mélanges présents dans les différentes poteries de Deir el-Médineh, en fonction des typologies.

#### I.2) Les cosmétiques et onguents parfumés

#### I.2.1) Les cosmétiques et les parfums

Les égyptiens étaient des maîtres dans l'art des cosmétiques. De très nombreux objets contenant des substances rares et précieuses, ainsi que des portraits de femmes avec des visages maquillés ont été retrouvés dans les tombes égyptiennes (Oumeish, 2001).

Les cosmétiques regroupent à la fois les fards pour les yeux, les lèvres, le visage, ainsi que des onguents à base d'huile et de graisse (Lucas and Harris, 1962b).

- *Les yeux*. Il s'agit essentiellement des khôls. Ce type de cosmétique, très bien connu aujourd'hui est composé d'une base minérale telle que la galène (PbS). D'autres fards pour les yeux sont caractérisés par la présence de métaux et d'oxydes (tels que les oxydes de Mn, de Fe, de Cu, etc.). La couleur verte pouvait être apporté par la malachite (Cu<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)(OH)<sub>2</sub>) et le noir par la galène.

- *Les lèvres*. La nature de ce type de cosmétique est très mal connue. Il pourrait s'agir d'une préparation à base d'ocre rouge (oxyde de fer également appelé hématite) et de corps gras (huile ou graisse).

- *Le visage*. Ces fards sont caractérisés par une base grasse (animale ou végétale) en mélange avec de l'hématite (d'où la coloration rouge du cosmétique) et peut-être une gommerésine. L'analyse de cosmétique provenant de deux larges jarres retrouvées dans la tombe de trois princesses de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie a montré la présence d'un corps gras (huile ou graisse) en mélange avec de la chaux et peut-être de la craie. Ce matériel a été identifié comme étant une crème démaquillante.

Les parfums dans l'Egypte ancienne sont essentiellement composés de graisses animales et d'huiles végétales parfumées. On parle d'onguent ou encore de pommade. Ces parfums pouvaient être appliqués sur la peau et les cheveux. Dans le but de les rendre plus plaisants et de masquer les odeurs désagréables provenant du rancissement des corps gras, des substances parfumées y étaient ajoutées. Les substances parfumées utilisées étaient d'origine végétale. Parmi celles employées, on peut citer les fleurs, les feuilles, les fruits, le bois, l'écorce, etc.

Il est important de noter que certaines huiles végétales (essentiellement non-siccatives) étaient tout particulièrement utilisées pour confectionner les onguents parfumés. Parmi ces huiles non-siccatives, on peut citer : - *L'huile d'amande*. A l'époque, les amandes étaient rares. Elles ont été retrouvées dans plusieurs tombes de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie comme celle de Toutankhamon.

- *L'huile de moringa (ou huile ben ou bak)*. Elle est extraite des noix de *Moringa pterygosperma* et *Moringa aptera*. Cette huile présente de nombreuses propriétés (inodore, réceptive aux substances parfumées et bonne conservation) qui ont contribué à son utilisation dans le domaine de la parfumerie.

- *L'huile d'olive*. Des peintures murales de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie montrent des petits oliviers. Il n'est pas impossible que cette huile soit importée de Syrie.

De nombreuses représentations ont été retrouvées dans les tombes montrant la préparation des parfums (El-Shimy, 2002). Comme par exemple dans la tombe d'Amenmès (TT 89), où à gauche, on voit deux hommes en train de filtrer un liquide dans une large poterie posée sur le sol. Cette poterie est ensuite amenée sur un poêle (en dessous) où le contenu est remué par un assistant (Figure 4.3).



Figure 4.3 : Représentation montrant la préparation des substances parfumées - Tombe thébaine d'Amenmès (TT89), datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie (http://egyptomusee.over-blog.com).

Malheureusement, les parfums archéologiques ne diffusent plus d'odeurs aujourd'hui, on a parlé de chimie de l'évanescent (Garnier and Frère, 2008). Leur analyse est donc délicate car les molécules volatiles constitutives des parfums ne sont pas conservées au cours du temps. A l'heure actuelle, d'un point de vue chimique, la nature des parfums archéologiques est très mal-connue. Les études du contenu des vases n'étant pas assez nombreuses et demeurant ponctuelles, ne permettent pas d'avoir une approche pertinente de l'art des parfums. Les principaux problèmes rencontrés lors de l'analyse de parfums anciens sont les suivants :

- Les parfums sont caractérisés par une fraction volatile importante. Les « notes de tête », constituées de molécules olfactives, sont perçues en premier. Ces molécules disparaissent rapidement en raison de leur diffusion dans l'atmosphère. Elles ne sont donc plus présentes dans les échantillons archéologiques.

- Les constituants des parfums ainsi que leur base proviennent de produits naturels dont la structure moléculaire est souvent complexe et mal-connue.

- Les produits constitutifs des parfums sont sensibles aux phénomènes de dégradation pouvant être anthropiques et/ou liés à l'enfouissement. En se dégradant, leur empreinte moléculaire est modifiée.

#### I.2.2) Techniques de préparation

Ainsi, les égyptiens pour lesquels l'hygiène du corps occupait une place très importante étaient connus pour l'utilisation de parfums. Les matériaux parfumés pouvaient être sous plusieurs formes : pressés, ébouillantés, séchés, en poudre ou encore macérés dans une graisse (Fortineau, 2004).

Les techniques utilisées à l'époque pour préparer les onguents parfumés étaient l'enfleurage et la macération (Lucas and Harris, 1962b). Ces deux techniques reposent sur la propriété des corps gras (graisses animales et surtout huiles végétales) pour capter les principes odorants à partir des parties florales et foliacées des végétaux, mais aussi à partir d'écorces pulvérisées, de résines, de baumes et de fruits (Nicolas-Duval, 2008). Il est important de noter que les égyptiens n'utilisaient pas de substances aromatiques d'origine animale.

- *L'enfleurage*. Cette technique (*cf*. Chapitre 2) consiste à placer des fleurs ou des pétales sur des couches de graisse animale ou d'huile végétale.

- La macération. Les fleurs ou les pétales sont laissées à macérer dans des huiles végétales pouvant être bouillantes. Les huiles sont ensuite pressées ou tordues dans des sacs afin d'éliminer les résidus de végétaux.

#### I.2.3) Les cônes d'onguents (Cherpion, 1994)

Sur de nombreuses représentations de tombeaux (peintures et bas-reliefs) du Nouvel Empire de l'Egypte ancienne, soit de -1500 à -1000 av. J.-C. (XVIII<sup>ème</sup>, XIX<sup>ème</sup> et XX<sup>ème</sup> dynasties), des cônes sont représentés sur les têtes des personnes pouvant être des invités du banquet funéraire ou des défunts (Figure 4.4). Il s'agirait de bloc de suif imprégné d'aromates, posé sur la perruque et utilisé contre l'effet desséchant du soleil. En fondant sous l'effet de la chaleur, le cône libérerait ses effluves. Deux interprétations existent concernant la nature de ces cônes d'onguents. La première est matérialiste : le cône serait réellement fixé sur les têtes des personnes, ce qui d'un point de vue technique semble très peu probable. La seconde, proposée par Bernard Bruyère et rejointe par Nadine Cherpion est plus symbolique. Cette interprétation est plus probable que la précédente. Le cône symboliserait la renaissance et servirait à concrétiser la notion très abstraite de l'onction, souvent associée à l'idée de parfum.



Figure 4.4 : Photographie d'une peinture murale représentant un portrait d'une dame - Tombeau de Menna (XVIII<sup>ème</sup> dynastie) (Cherpion, 1994).

Chez le peuple égyptien, les onguents jouaient un rôle important et tout particulièrement lors de l'onction sur les bras et les têtes. D'après les représentations, ces onctions étaient appliquées par les servantes et les servants sur les convives (Figure 4.5).



Figure 4.5 : Représentation de l'onction, présente dans la tombe de Nebenmaât (TT 219), datée du Nouvel Empire (XIX<sup>ème</sup> dynastie), située à Deir el-Médineh ; cliché IFAO 73-2360, (Cherpion, 1994).

*Conclusion*. Les onguents parfumés utilisés comme cosmétique et notamment pour l'onction étaient à base de graisse animale ou d'huile végétale. Ils étaient fabriqués grâce aux techniques d'enfleurage et de macération. La perte des molécules volatiles caractéristiques des parfums, ainsi que la présence d'une base lipidique et de traces de cire végétale dans nos échantillons de Deir el-Médineh semblent donc tout à fait cohérente avec l'hypothèse des parfums.

#### I.3) Les remèdes et les onguents médicaux

#### I.3.1) Les connaissances médicales

Les Egyptiens attribuaient les maladies à la déesse à tête de lionne et corps de femme appelée Sekhmet. Les remèdes étaient préparés par les médecins et les pharmaciens.

Des recettes de remèdes ont été retrouvées sur de nombreux papyrus comme le papyrus Ebers, le papyrus d'Edwin Smith ou le papyrus de Kahun (Figure 4.6). Le papyrus Ebers et le papyrus d'Edwin Smith ont été découverts à Louxor (Thèbes) en 1862 par Edwin Smith. Le papyrus Ebers a été par la suite acheté par l'égyptologue allemand Georg Moritz Ebers qui lui a donné son nom. Le papyrus d'Edwin Smith est le document connu le plus ancien traitant de la chirurgie. Ce document écrit durant le Nouvel Empire vers le XVII<sup>ème</sup> siècle av. J.-C. recense 48 cas de blessures et lésions, ainsi que les moyens de les soigner. Le papyrus Ebers (20 mètres de long et 30 centimètres de large), quant à lui, est le plus ancien des traités scientifiques. Il contient des notions d'anatomie, un catalogue de maladies appartenant à plusieurs spécialités de la médecine telles que l'ophtalmologie, la gynécologie, la gastro-entérologie, etc., les traitements correspondants, ainsi que 700 recettes de remèdes. Ce document aurait été rédigé au XVI<sup>ème</sup> siècle av. J.-C., sous le règne d'Amenhotep I<sup>er</sup>.



**(a)** 

(b)

Figure 4.6 : Photographies de papyrus médicaux; (a) une page du papyrus Ebers; (b) planche vi et vii du papyrus Edwin Smith (www.egypte-ancienne.fr).

#### I.3.2) Quelques exemples de recettes

La traduction de ces papyrus et tout particulièrement celle du papyrus Ebers par Thierry Bardinet (Bardinet, 1995), a montré que les recettes de remèdes étaient relativement complexes. Un grand nombre d'ingrédients sont souvent cités et la traduction extrêmement délicate de certains termes a révélé des incertitudes quant à l'identification précise des substances utilisées.

Voici quelques exemples de recettes traduites par Bardinet, pour les soins capillaires, et pour les onguents protecteurs :

- Eb. 437bis. Remède pour chasser la substance-khensyt qui est dans la tête : graine de ricin : 1 ; graisse : 1 ; huile de moringa : 1. Ce sera préparé en une masse homogène. Enduire avec (cela), chaque jour.

- Eb. 441. Miel : 1 ; vin de dattes : 1 ; chenefet : 1. Enduire avec cela.

- Eb. 443. Peau d'hippopotame bouillie : 1 ; graisse/huile : 1 ; partie-chepenn(ou) (de la plante-chepen) : 1 ; plante-djaret : 1. Ce sera préparé en une masse homogène. Enduire avec cela.

- Eb 242bis. (Premier) remède préparé par Rê pour lui-même : miel entre deux températures : 1 ; cire : 1 ; partie-shepa de la résine de térébinthe : 1 ; graines de la plante-sar : 1 ; plante-djaret : 1 ; valériane (?) : 1 ; partie-mout de souchet comestible : 1 ; graines de la plante-djas : 1 ; plante-ibou : 1 ; bryone(?) : 1 ; khentet de résine de térébinthe : 1 ; minium : 1 ; graines de coriandre : 1 ; partie-shepa du genévrier : 1 ; partie-shepa du pin : 1 ; pâte, fraîche. Ce sera préparé en une masse homogène. Panser avec cela l'endroit atteint. C'est un moyen de chasser l'action d'un dieu, d'un mort, d'une morte, d'un oukhedou mâle ou femelle en n'importe quel endroit du corps d'un homme jusqu'à ce qu'il aille parfaitement bien.

*Conclusion*. La quasi-majorité des remèdes décrits sont à base de corps gras du type huile végétale ou graisse animale. Des substances végétales y sont souvent ajoutées, en plus de nombreux autres ingrédients comme le miel, le vin, des graines, etc. Les recettes sont le plus souvent complexes, et de nombreux problèmes de traduction concernant la nature précise de certains ingrédients ont été constatés. Il est également probable que ces recettes n'aient pas été scrupuleusement suivies mais plutôt réalisées en fonction des ingrédients qui étaient à disposition.

#### I.3.3) Cas particulier de l'opium

La présence et l'utilisation de l'opium durant la XVIII<sup>ème</sup> dynastie est discutée depuis longtemps. En effet, la seule et unique mention d'analyse chimique révélant la présence d'opium dans des échantillons archéologiques égyptiens date de 1925, par le Dr. Irene Muzio, lors de l'analyse d'un échantillon provenant d'une poterie retrouvée dans la tombe de Kha (Muzio, 1925). Ces résultats ont par la suite été remis en question et des analyses récentes ont montré qu'il n'y avait pas d'opium dans les échantillons provenant de cette tombe (Bisset *et al.*, 1994).

Kha portait la fonction d'architecte royal en chef. Sa tombe (ainsi que celle de sa femme) a été retrouvée intacte en 1903 par l'égyptologue italien Ernesto Schiaparelli (Schiaparelli, 1927). Cette tombe traduit parfaitement la vie quotidienne ainsi que la culture des Egyptiens de la classe supérieure vivant vers 1400 av. J.-C. Des provisions abondantes d'huiles ont été découvertes dans de nombreux vases de tailles différentes, dont certains étaient fermés voire même scellés. Les inscriptions égyptiennes de l'Ancien Empire font référence à sept huiles saintes (Figure 4.7). Leur nature n'est pas connue précisément, mais il semble s'agir d'huiles végétales sans doute destinées à un usage médical. Ces huiles ont été intégrées dans les rituels religieux pour oindre les morts permettant ainsi leur retour à la vie et pour servir de provisions pour la vie dans l'au-delà (Bisset *et al.*, 1994).



Figure 4.7 : Photographie d'un bas-relief provenant de la tombe de Basa, située près de Louxor, daté de la XXVI<sup>ème</sup> dynastie, et représentant le transport des sept huiles saintes (www.cnrs.fr/cw/dossiers/doschim/decouv/parfums/Parfums.pdf).

Les analyses chimiques effectuées en 1925 par le docteur Irene Muzio avaient mis en évidence la présence de fer et surtout celle d'opium. Après extraction des alcaloïdes, le résidu obtenu avait ensuite été injecté à une grenouille puis à une souris. Les effets observés étaient similaires à ceux provoqués par la morphine contenue dans le pavot (Muzio, 1925).

Cependant, des analyses plus récentes des échantillons provenant de la même tombe, avec des techniques actuelles comme la GC-MS n'ont pas confirmé ces résultats (Bisset *et al.*, 1994). La poterie décrite par Muzio, au centre dans la rangée du bas (Figure 4.8), est scellée et ne semble pas avoir été ouverte. Six autres échantillons ouverts provenant de cette tombe ont alors été analysés. Des traces de morphine (marqueur de la présence d'opium) et d'autres alcaloïdes comme la codéine, la thébaine et la hyoscine ont particulièrement été recherchés mais n'ont pas été détectés dans ces échantillons.



Figure 4.8 : Photographie de la collection de 7 vases retrouvés dans la tombe intacte de Kha (architecte royal en chef), datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie (d'après Schiaparelli, 1927:155, Fig. 138) (Bisset *et al.*, 1994).

A l'heure actuelle, il n'y a aucune preuve chimique, linguistique ou botanique permettant d'affirmer que le pavot à opium (*Papaver somniferum* L.) et l'opium étaient connus en Egypte durant la XVIII<sup>ème</sup> dynastie (Bisset *et al.*, 1994). C'est pour cette raison que l'opium n'a pas été recherché dans les échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.

#### I.4) Conclusion

Cette famille homogène d'échantillons à base de corps gras (huile végétale siccative ou semi-siccative, graisse animale) semble effectivement avoir une fonctionnalité particulière pouvant être en relation avec celle de la population occupant la nécropole. Malheureusement, les composés présents dans ces échantillons sont ubiquistes et la nature de la substance végétale initialement présente dans le mélange n'a pas pu être précisée. Ces poteries semblent donc contenir des onguents, qui auraient pu être utilisés en tant que cosmétiques parfumés ou non, mais également en tant que remèdes. Ces deux hypothèses restent les plus probables.

#### **II) CAS DES POTERIES AVEC UNE TYPOLOGIE ET UN CONTENU PARTICULIERS**

## II.1) Identification des substances naturelles présentes dans les échantillons à base de sucres

Les résultats obtenus en GC-MS ont révélé que les trois échantillons de typologie particulière (E16459, E14593 et E16489) contiennent des sucres (*cf.* Chapitre 2). La présence de miel, ainsi que celle de moût et de filtrat provenant de boissons fermentées ont été constatées.

#### II.1.1) Cas de l'échantillon E16459

Les analyses en GC-MS sur cet échantillon provenant d'un vase à deux anses ont révélé qu'il était uniquement constitué de sucres et tout particulièrement d'hexoses. Des analyses réalisées en 1978 par les Laboratoires des Musées de France sur cet échantillon avaient conduit le chimiste à conclure à la présence d'un miel. Nos résultats ont confirmé cette conclusion. En effet, le profil obtenu après méthanolyse sur cet échantillon était identique à celui d'un miel de référence.

#### II.1.2) Cas de l'échantillon E14593

Comme pour l'échantillon précédent, l'analyse moléculaire par GC-MS a révélé qu'il était uniquement composé de sucres, dont les hexoses et les pentoses étaient majoritaires. Le profil obtenu après la réaction de méthanolyse était totalement différent de celui correspondant au miel. De plus, le test à l'iode a permis de mettre en évidence la présence d'amidon, indicateur de l'utilisation de céréales. La typologie particulière de ce vase à offrande semble indiquer qu'il aurait pu contenir un moût ou un filtrat provenant d'une boisson fermentée. En raison de la présence de céréales, la bière est l'hypothèse la plus probable.

#### II.1.3) Cas de l'échantillon E16489

Cet échantillon, provenant d'un vase cigare, est plus complexe que les deux précédents. L'analyse par GC-MS a montré la présence de sucres et surtout celle d'hexoses. Contrairement aux deux échantillons précédents, ils sont présents en faible quantité. L'absence de TAG, de DAG, de MAG, ainsi que la présence de FA et de lactones montrent qu'un corps gras dégradé est présent. La forte quantité de diacides et des acides 9,10dihydroxyoctadécanoïques indiquent que ce corps gras est probablement une huile végétale siccative ou semi-siccative. La présence de composés triterpéniques, de co-élutions d'esters lourds, ainsi que la distribution des *n*-alcanes marquée par une prédominance impaire montrent qu'une substance végétale a été mélangée à cette huile. D'après Geneviève Pierrat-Bonnefois, la typologie particulière de la poterie serait cohérente avec la présence d'un filtrat de boisson fermentée. Sur la base des résultats obtenus, cette hypothèse n'a pu être ni infirmée, ni confirmée.

#### II.2) Le miel dans l'Egypte ancienne

Dans l'Egypte ancienne, l'apiculture était une industrie très importante. Le miel était la seule source de sucre connue. Très fréquemment mentionné dans les anciens textes égyptiens, le miel était destiné à de nombreux usages, tels que : confection de gâteaux, de sucreries, de remèdes et offrande pour les morts (Lucas and Harris, 1962a). Quatre représentations de l'apiculture sont aujourd'hui connues. La récupération du miel est tout particulièrement représentée dans la tombe de Rekhmirê (tombe n°100), maître de Thèbes et vizir de Thoutmosis II et Aménophis III durant la XVIII<sup>ème</sup> dynastie (vers 1450 av. J.-C). Cette tombe a été fouillée par Norman Garis Davies en 1944. Les peintures murales montrent la préparation du miel dans des pots et sa conservation dans des jarres (Figure 4.9, **a**). Sur une autre représentation, on peut voir le mode de récupération des gâteaux de miel, effectué à la main pendant que les ruches sont enfumées pour tenir les abeilles tranquilles (Figure 4.9, **b**).



Figure 4.9 : Peintures murales de la tombe de Rekhmirê (n°100), située sur le rive ouest de Louxor, datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie et montrant la récupération du miel (Davies, 1944).

*Conclusion*. Les nombreuses utilisations du miel (pâtisserie, confiserie, offrandes pour les morts, ingrédient dans les remèdes, etc.) ne nous permettent pas de conclure sur celles du miel retrouvé dans la nécropole. S'agit-il d'une offrande alimentaire ou est-ce un ingrédient que la population de la nécropole avait l'habitude d'utiliser pour confectionner des remèdes ?

#### II.3) Les boissons dans l'Egypte ancienne

#### II.3.1) La bière (Lucas and Harris, 1962a)

Dans l'Egypte ancienne, la bière était une boisson pouvant servir d'offrande divine et funéraire, et également entrer dans la composition de nombreux remèdes. Des substances parfumées pouvaient y être ajoutées dans le but de l'aromatiser, comme par exemple des

dattes. L'analyse de résidus desséchés provenant de jarres à bière retrouvées à Deir el-Médineh avait révélé la présence de grains d'amidon provenant d'orge ou de blé amidonnier.

Il existe peu d'information sur la préparation de la bière en Egypte ancienne. On peut supposer que le procédé utilisé était ressemblant à l'actuel.

La bière moderne est une infusion de malt, aromatisée par l'amertume du houblon et fermentée par des levures. Quand les graines d'orge germent, elles libèrent une enzyme qui transforme une partie de l'amidon en maltose (diholoside de glucose), appelé malt. Le brassage de la bière se déroule en trois étapes :

- *La macération*. Les grains sont écrasés et plongés dans l'eau chaude dans le but de terminer le maltage.

- *L'aromatisation*. La solution obtenue est chauffée en présence de houblon.

- *La fermentation*. Durant cette étape, le maltose est transformé en dextrose (ou glucose) sous l'action de levures et d'enzymes tel que la maltase, puis convertit en alcool et en CO<sub>2</sub>.

*Conclusion*. Les nombreuses utilisations de la bière dans l'Egypte ancienne ne nous permettent malheureusement pas de conclure sur la fonctionnalité du moût de bière retrouvé dans le cimetière. S'agit-il d'une offrande alimentaire symbolique destinée aux défunts pour leur vie dans l'au-delà ?

# II.3.2) Le vin et les autres boissons fermentées à base de fruits (Lucas and Harris, 1962a)

Dans l'Egypte ancienne, le vin était préparé à partir des jus de fruits ou des grappes de raisins (blanc ou noir) fraîches qui ont fermenté. Il existait également du vin de dattes, de palme et de grenades.

*Raisin*. Le vin obtenu à partir du raisin avait de nombreuses utilisations. Il pouvait servir de boisson, d'offrandes divines et funéraires, de cadeaux, ainsi que d'ingrédient pour les remèdes. Pour réaliser cette boisson, les grappes étaient écrasées puis le jus était séparé des peaux pour ensuite fermenter sous l'action des levures. Il existe de nombreuses représentations des vendanges. L'une d'entre elles met en scène deux paysans qui vendangent tandis que d'autres foulent le raisin au pied, ainsi que la conservation du moût dans des jarres

(Figure 4.10). Le vin pouvait également être parfumé avec un peu d'alcool (produit alcoolisé mais pas distillé) de dattes ou de miel.

Les vins obtenus à partir d'autres fruits que le raisin sont uniquement mentionnés dans la littérature mais ne sont jamais décrits dans les détails.

*Palme*. Le vin de palme était obtenu à partir de la sève du palmier dattier. Il était utilisé durant la momification pour rincer la cavité abdominale.

*Datte*. Le vin de datte était quant à lui préparé à partir d'un certain type de dattes qui après macération dans de l'eau étaient pressées. Le liquide obtenu subissait la fermentation.

Grenades. Il y a très peu d'informations sur le vin de grenades.

*Conclusion*. Il existait dans l'Egypte ancienne diverses boissons fermentées, fabriquées à partir de nombreux fruits. Leur présence dans la nécropole semble avoir plus probablement une fonction symbolique destinée comme la bière à nourrir les défunts pour leur vie dans l'audelà.



Figure 4.10 : Représentation des vendanges, provenant de la tombe de Nakht (TT 52), située sur la rive ouest du Nil, datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie 1400 av. J.-C, sous le règne de Thoutmosis IV (http://planet-terre.ens-lyon.fr).

#### **II.4)** Conclusion

Ces trois poteries qui ne sont pas représentatives de l'ensemble des poteries ont des typologies particulières et différentes de celles des poteries dont le contenu était caractérisé par une base lipidique. Il semble que leur fonction ne soit pas liée à une nature particulière, professionnelle de la population retrouvée dans la nécropole de Deir el-Médineh. Ainsi, les moûts ou filtrats de boissons fermentées comme la bière et le vin, retrouvés dans la nécropole, ont très certainement une fonction alimentaire symbolique en étant destinées aux défunts pour leur vie dans l'au-delà, comme cela était le cas dans tous les cimetières de cette époque. Dans le cas particulier du miel, la même hypothèse peut être formulée mais il est également possible qu'il s'agisse d'un ingrédient pour la confection de remède. Dans ce cas, la présence du miel pourrait être en relation directe avec une fonctionnalité particulière des gens occupant la nécropole, selon l'hypothèse de G. Pierrat Bonnefois.

### **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

Dans le cadre de ce travail, vingt trois échantillons organiques archéologiques, provenant d'un cimetière situé à l'Est du village de Deir el-Médineh, et datés de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie ont été caractérisés pour la première fois d'un point de vue moléculaire (GC-MS, LC-MS) et isotopique (GC-C-IRMS). La nature énigmatique de cette nécropole, rendue unique par son nombre exceptionnel de poteries, ainsi que l'origine de ses occupants divise la communauté égyptologique. L'intérêt de cette étude était donc d'apporter des informations aux égyptologues sur les contenus de ces nombreuses poteries et de lever le voile sur leurs fonctionnalités et sur la nature du cimetière.

Les échantillons que nous avons eu la chance de pouvoir analyser, ont été prélevés au Musée du Louvre, parmi une collection exceptionnelle de poteries. L'autre aspect particulièrement inédit de ces échantillons est qu'ils proviennent de pots qui étaient encore plein de matière organique et non de tessons, nous permettant ainsi de prélever dans la masse.

Les principales difficultés que nous avons rencontrées au cours de cette étude étaient liées d'une part au fait qu'au moment des analyses nous ignorions tout des substances naturelles présentes : origine, mode de préparation, etc. Nous n'avions donc aucune idée des molécules que nous étions susceptibles de devoir identifier par spectrométrie de masse. D'autre part, l'état de dégradation très avancé des différents échantillons ne nous a pas permis de faire des corrélations avec les molécules présentes dans des substances naturelles.

L'étude moléculaire (GC-MS) des différents échantillons a montré la présence de deux familles. La première représente la quasi-totalité des échantillons. Elle est caractérisée par une base lipidique, alors que la seconde (seulement trois échantillons) est à base de sucres.

#### Caractérisation des échantillons à base lipidique & fonctionnalités

Dans le cas de la famille à base lipidique, les résultats moléculaires (GC-MS, LC-MS sur les triglycérides) et isotopiques (GC-C-IRMS sur les acides palmitique et stéarique) ont révélé la présence de corps gras très dégradés tels que des huiles végétales siccatives ou semisiccatives et des graisses animales provenant le plus souvent de ruminants.

Nous avons ainsi pu constater que dans les poteries contenant des huiles végétales (siccatives ou semi-siccatives) pures (cas des flacons et bouteilles cananéennes) ou en mélange avec une substance végétale (pots), la matière organique est dans un état de

dégradation très avancé. Les triglycérides y sont totalement hydrolysés en acides gras libres et les acides gras insaturés et polyinsaturés (caractéristiques des huiles végétales) sont complètement oxydés en diacides et dihydroxyacides.

Pour les poteries contenant une graisse animale qui est également en mélange avec une substance végétale, les analyses en GC-MS des acides gras ainsi que les profils obtenus correspondant à la distribution des triglycérides par LC-APCI-MS indiquent dans la quasitotalité des cas la présence d'une graisse de ruminant du type bovin ou ovin. Des mesures isotopiques du carbone ont été réalisées par GC-C-IRMS sur les acides palmitique et stéarique de la plupart des échantillons. Nous avons ainsi pu constater que les valeurs sont très homogènes et sont comprises dans la zone extrêmement large correspondant aux huiles végétales de plante en C<sub>3</sub>, ainsi qu'aux mélanges entre des graisses porcines et de ruminants (d'après le modèle de l'équipe d'Evershed). Dans le cas de notre étude, il semble évident que ce modèle très utilisé dans la littérature ne soit pas adapté (zones géographiques trop distinctes, alimentations différentes ?). L'absence de modèle dédié à l'Egypte ne nous a pas permis de comparer efficacement nos valeurs. Au cours de ces travaux, des mesures isotopiques sur les diacides et les lactones (tous deux des produits de dégradation des triglycérides) ont également été réalisées. Ces résultats, très novateurs, n'ont pas encore été décrits dans la littérature (à l'exception d'une étude très vague sur les diacides). Il serait extrêmement intéressant de réaliser ce type de mesure lors de simulation en laboratoire de dégradation d'huile végétale. Des variations de compositions isotopiques entre les acides gras insaturés (précurseurs) et les lactones et diacides (produits de dégradation) pourraient être mises en évidence et peut-être jouer un rôle déterminant dans l'identification de corps gras archéologiques.

La substance végétale présente dans ces échantillons a presque totalement disparu. Au niveau moléculaire, seules les cires cuticulaires sont aujourd'hui détectées à l'état de trace (*n*-alcanes, esters lourds). Ces cires sont les derniers vestiges de la substance végétale initialement présente et mélangée avec le corps gras. L'absence de biomarqueurs spécifiques n'a pas permis son identification, mais l'absence de structures terpéniques nous permet d'exclure les résines végétales.

L'abondance anormale de ces poteries pourrait être l'indice d'une fonction particulière qui serait à associer à la nature de la population de la nécropole. La base de corps gras est tout à fait cohérente avec celle des onguents. D'après les informations fournies par les égyptologues, nous pouvons proposer deux hypothèses quant à l'utilisation de ces poteries. La première est

celle des cosmétiques et des onguents parfumés. La disparition des molécules volatiles, caractéristiques des parfums, ainsi que la présence de cires végétales seraient cohérentes avec les pratiques anciennes d'enfleurage et de macération utilisées en parfumerie. Il serait d'ailleurs très intéressant de réaliser des essais d'enfleurage et de macération au laboratoire, car ces pratiques ne sont plus utilisées aujourd'hui. Elles nous permettraient ainsi de déterminer le cortège moléculaire en résultant. Ces onguents ont pu être destinés à l'onction. D'après les interprétations des représentations murales retrouvées dans certaines tombes contemporaines à la nécropole étudiée, les servantes appliquaient des onguents parfumés sur les convives. La nécropole pourrait donc être occupée par des servantes (d'où le nombre important de femmes), travaillant au contact de gens aisés, ce qui expliquerait la présence d'objets de luxe. La deuxième hypothèse est celle des onguents médicaux. Les nombreuses recettes décrites dans la littérature sont le plus souvent à base de corps gras. De nombreuses substances végétales y étaient ajoutées en fonction des différents maux à soigner. Ces deux hypothèses expliqueraient les nombreuses particularités de la nécropole.

#### Caractérisation des échantillons à base de sucres & fonctionnalités

Dans le cas de la famille à base de sucres, la complexité liée à l'interprétation des résultats moléculaires obtenus en GC-MS, telles que la similitude des spectres de masse des sucres appartenant à la même famille (hexoses, pentoses), ainsi que leur temps de rétention très proche, a rendu extrêmement délicate l'identification des substances naturelles présentes. Malgré des essais de co-injection avec des sucres de référence, très peu concluants, réalisés sur la famille des hexoses, afin de résoudre ces problèmes d'identification, nous avons pu proposer des hypothèses quant à la nature des substances naturelles présentes. En corrélation avec un miel actuel, nous avons pu mettre en évidence la présence d'un miel dans un des échantillons archéologiques. Pour les deux autres, très hétérogènes, l'hypothèse de filtrats ou moûts de boissons semble être la plus probable. La présence d'amidon pour l'un de ces filtrats privilégie une boisson à base de céréale telle que la bière. Pour le second filtrat, une huile végétale siccative ou semi-siccative a été identifiée. Il s'agit d'un échantillon particulièrement complexe dont la nature précise n'a pas pu être déterminée. Des essais en LC-MS pourraient être réalisés dans ces échantillons afin de vérifier la présence des acides syringique et tartrique, biomarqueurs du vin.

Les typologies particulières de ces trois poteries semblent indiquer une toute autre fonctionnalité que celle décrite précédemment. Ces poteries ont probablement une fonction alimentaire symbolique en étant destinées aux défunts pour leur vie dans l'au-delà, comme cela était le cas dans tous les cimetières contemporains à la nécropole de Deir el-Médineh.
### PARTIE EXPERIMENTALE

#### I) **OBSERVATION DES ECHANTILLONS**

Les échantillons sont observés à l'œil nu, puis à la loupe binoculaire Scientific Optika (oculaire  $10 \times$ ; agrandissement de  $2 \times$  à  $4 \times$ ) afin de préciser les observations.

#### **II)** ANALYSES GEOCHIMIQUES

#### II.1) Précautions particulières

Ces précautions sont rendues nécessaires dans le but d'éviter toute contamination organique de nos échantillons. Elles sont d'autant plus importantes que le matériel, d'une valeur inestimable n'est disponible qu'en très faible quantité. Les précautions prises sont les suivantes :

Tout contact avec des matières plastiques est évité.

Tous les solvants commerciaux utilisés sont redistillés.

➢ Le coton, le sable, la silice et la célite sont extraits durant trois jours au dichlorométhane dans un soxhlet. Une fois la silice sèche, elle est réactivée dans une étuve à 120°C, pendant 12 heures.

➢ Toute la verrerie est lavée au détergent, rincée abondamment à l'eau, avant d'être séchée à l'acétone puis rincée au dichlorométhane redistillé.

Les plaques de silice utilisées pour les chromatographies sur couche mince sont lavées à l'acétate d'éthyle, puis séchées à température ambiante pendant au moins 48 heures. Elles sont ensuite réactivées pendant une nuit à l'étuve à 120°C.

➢ Les fractions obtenues sont conservées à sec (sans solvant) et à froid (-18°C), sous gaz inerte.

#### II.2) Solubilisation des échantillons et préparation des extraits organiques

La plupart des échantillons analysés était entièrement soluble dans le dichlorométhane (DCM) ou dans le mélange dichlorométhane/méthanol (60/40 v/v). Dans le cas contraire, nous avons réalisé des extraits organiques. Pour cela, les échantillons sont broyés dans un mortier en agate (préalablement lavé comme la verrerie), puis sont extraits durant 5 minutes dans un

bain à ultrasons. Ces extraits sont réalisés au moins trois fois avec un mélange dichlorométhane/méthanol (60/40 v/v) puis au moins une fois avec un mélange dichlorométhane/acétone, ou dichlorométhane/acétate d'éthyle (50/50 v/v). Après chaque extraction, les surnageants sont séparés du résidu solide par décantation ou centrifugation, puis combinés pour constituer l'extrait organique total après évaporation des solvants d'extraction sous pression réduite.

#### II.3) Fractionnement des échantillons et des extraits organiques

Le protocole analytique mis en œuvre pour l'étude de ces échantillons complexes est schématisé dans la Figure E.1 (Charrié-Duhaut *et al.*, 2007).

Les composés sont séparés en fonction de leur polarité grâce aux techniques classiques de chromatographie. Pour cela, l'échantillon ou l'extrait organique est solubilisé dans un minimum de dichlorométhane ou du mélange dichlorométhane/méthanol (60/40), puis est fractionné par chromatographie liquide après dépôt sur colonne de silice ou CC (silice 60 de granulométrie 40-63 µm, Merck), préalablement conditionnée au cyclohexane.

La fraction **F1** (peu polaire) est éluée au cyclohexane. La fraction **F2** (polaire) est éluée au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 1/1. Et enfin, la fraction **F3** (très polaire, contenant les composés polyfonctionnalisés) est éluée avec le mélange dichlorométhane/méthanol 3/2.



Figure E.1 : Schéma du protocole analytique.

#### **III) TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES**

#### III.1) Chromatographie sur couche mince (CCM)

Elles ont été réalisées sur des plaques de gel de silice 60  $F_{254}$  de 0,5 mm d'épaisseur (Merck).

Les fractions F1 et F2 sont déposées sur des plaques de silice, puis sont respectivement éluées au cyclohexane et au DCM. Des produits de référence sont déposés dans les marges de la plaque, permettant ainsi de délimiter les zones de rétention frontale, et d'aider au

fractionnement (Figure E.2). Les références utilisées pour la fraction F1 sont le soufre élémentaire et le dibenzanthracène (DBA), et pour la fraction F2, il s'agit de la friedeline et du lupéol. Les zones de rétention frontales sont les suivantes :

- Rf = 0,85-1 : hydrocarbures saturés (référence : soufre élémentaire) ; éluant : cyclohexane
- Rf = 0,1-0,85 : hydrocarbures aromatiques (référence : dibenzanthracène) ; éluant : cyclohexane
- Rf = 0.8-1 : esters ; éluant : DCM
- Rf = 0,4-0,8 : cétones (référence : friedeline) ; éluant : DCM
- Rf = 0,1-0,4 : alcools (référence : lupéol) ; éluant : DCM
- Rf = 0-0,1 : acides ; éluant : DCM



Figure E.2 : Schéma du fractionnement des fractions F1 (élution au cyclohexane) et F2 (élution au dichlorométhane) par CCM.

#### III.2) Chromatographie en phase gazeuse (GC-FID)

Ces analyses ont été effectuées sur un appareil HEWLETT-PACKARD HP 6890 *series*, équipé d'un injecteur "on-column" et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). L'appareil est piloté par un PC, muni du logiciel HP GC ChemStation.

#### **Conditions d'utilisation** :

✓ Programme de température de la colonne :

- Programme A : 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-300°C (4°C/min), isotherme à 300°C (30 min).

- Programme B : 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-325°C (4°C/min), isotherme à 325°C (40 min).

Le programme A est classiquement utilisé, à l'exception des fractions esters où la présence de composés lourds nécessitait une montée en température plus importante et une isotherme prolongée.

- ✓ Colonne : capillaire en quartz HP-5 (phase de diméthylsiloxane comportant 5 % de groupements phényles) ; 30 m x 0,32 mm (diamètre interne) x 0,25 µm (épaisseur du film).
- ✓ Température de l'injecteur : asservie au programme de température de la colonne.
- ✓ Température du détecteur : 300°C.
- ✓ Gaz vecteur : hydrogène, régulé en débit constant de 2,5 mL/min.

Les expériences de coinjections en chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées sur deux colonnes capillaires en quartz et caractérisées par des phases différentes, du type :

- HP-5 (décrite ci-dessus).
- DB-17-HT (phase de diméthylsiloxane comportant 50 % de groupements phényles), dont les caractéristiques sont : 30 m x 0,25 mm (diamètre interne) x 0,15 μm (épaisseur du film).

#### III.3) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

#### III.3.1) GC-MS équipé d'un analyseur triple quadripôle

Les spectres de masse ont été obtenus par impact électronique ou par ionisation chimique par couplage GC-MS-MS ou par introduction directe. L'appareillage utilisé est un triple quadripôle Thermo Fisher TSQ Quantum couplé à un chromatographe en phase gazeuse Trace GC Ultra, et équipé d'un injecteur du type "PTV en mode on-column". Les injections sont automatisées (Triplus), et le tout est piloté par un ordinateur muni du logiciel Xcalibur® (Thermo Fisher Scientific Inc.).

#### **Conditions d'utilisation** :

- ✓ Colonne capillaire en quartz : HP-5MS 30 m x 0,32 mm (diamètre interne) x 0,25µm (épaisseur du film)
- ✓ Programmation de l'injecteur : de 35°C à 300°C (en programmation très rapide)
- ✓ Programme de température de la colonne :

- Programme A : 40°C (1 min), 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-300°C (4°C/min), isotherme à 300°C (30 min)

- Programme B : 40°C (1 min), 40°C-100°C (10°C/min), 100°C-325°C (4°C/min), isotherme à 325°C (40 min).

Le programme A est classiquement utilisé, à l'exception des fractions esters où la présence de composés lourds nécessitait une montée en température et une isotherme plus conséquente.

- ✓ Température de la source : 210°C pour le programme A, et 220°C pour le programme B.
- ✓ Gaz vecteur : hélium, débit constant de 1,5 mL/min.
- ✓ Gamme de masse : m/z 50 à 800 u.m.a.
- ✓ Energie d'ionisation, IE : 70 eV.
- ✓ CI, gaz réactant : isobutane ou ammoniac.

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

#### III.3.2) GC-MS équipé d'un analyseur temps de vol (TOF)

Certaines de nos analyses ont été réalisées sur un spectromètre de masse muni d'un analyseur TOF, permettant de mesurer des masses exactes. L'appareillage utilisé est un système JEOL AccuToF GCv équipé d'un GC Agilent Technologies 7890 et d'un injecteur Split/Splitless fonctionnant en mode split.

#### **Conditions d'utilisation** :

- ✓ Colonne capillaire en quartz : DB-5 15 m x 0,25 mm (diamètre interne) x 0,25 µm (épaisseur du film)
- ✓ Programmation de l'injecteur : 280°C
- ✓ Programme de température 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 mL/min

#### III.4) Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

Les analyses ont été réalisées sur une chaîne HPLC Agilent Technologies 1200 RRLC, couplée à un spectromètre de masse Agilent Technologies 6520 Accurate mass QToF, équipé d'une source APCI.

#### **Conditions d'utilisation** :

- ✓ Colonne en phase inverse : C18 Supelco Discovery 25 cm x 2,1 mm x 5 µm
- ✓ Phase mobile : gradient de méthanol et isopropanol (proportion d'isopropanol de 30 % à 50 % en 10 minutes) avec un débit 0,6 mL/min
- ✓ Température de vaporisation : 400°C
- ✓ Température du capillaire : 300°C
- ✓ Décharge corona : 6 µA
- ✓ Gamme de masse : 400 à 1200 u.m.a

#### III.5) Analyses isotopiques

# III.5.1) Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse avec mesure du rapport isotopique (GC-C-IRMS)

Les signatures isotopiques, mesurées à l'Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, ont été réalisées avec un système Thermo Delta V Advantage (Thermo Scientific) couplé à un Thermo Trace GC Ultra (Thermo Scientific), avec à l'interface un GC Isolink muni d'un four de combustion et d'un système de dilution ConFlo IV. Le GC est équipé d'un injecteur Split/Splitless, fonctionnant en mode splitless et d'un échantillonneur automatique Triplus (Thermo Scientific). Les exploitations sont réalisées via le logiciel Isodat 3.

#### **Conditions d'utilisation** :

- Colonne capillaire en quartz : DB-5 30 m x 0,25 mm (diamètre interne) x 0,25 μm (épaisseur du film)
- ✓ Programmation de l'injecteur : 280°C
- ✓ Programme de température 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 mL/min
- ✓ Four de combustion : chauffé à 1030°C, reconditionné toutes les vingt injections en faisant passer à travers le four un flux d'O₂

Les rapports isotopiques  ${}^{13}C/{}^{12}C$  sont déterminés par comparaison avec un standard de référence international appelé V-PDB (Vienna Pee Dee Belemnite). L'unité de mesure est le Delta ( $\delta^{13}C$ ), et se calcule d'après la formule suivante :

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

Le CO<sub>2</sub> de référence a été calibré avec un mélange de *n*-alcanes (n-C<sub>16</sub> au n-C<sub>30</sub>), dont les compositions isotopiques (déterminées individuellement en offline) s'échelonnent entre -28,61 et -33,34 ‰/V-PDB (Arndt Schimmelmann, Indiana University). Ce mélange d'alcanes est injecté toutes les cinq injections afin de vérifier la stabilité de l'appareil.

Chaque échantillon a été injecté deux fois et les signatures isotopiques de chaque composé ont été évaluées par rapport au CO<sub>2</sub> de référence et sont exprimées en pour mille par rapport au V-PDB.

#### III.5.2) Mesures isotopiques sur les fractions F3

Ces analyses isotopiques ont été réalisées au Service Central d'Analyse du CNRS situé à Vernaison, sur les fractions **F3**, via un analyseur élémentaire relié à un spectromètre de masse isotopique. Pour cela, quelques milligrammes d'un prélèvement homogène sont soumis à une combustion totale à 1050°C, sous courant d'un mélange d'oxygène et d'hélium. Le carbone

est transformé en dioxyde de carbone qui est ensuite séparé des autres produits de combustion sur une colonne chromatographique. L'étalonnage de l'analyseur est effectué à l'aide d'un gaz servant d'étalon interne (il provient d'une bouteille de dioxyde de carbone), préalablement analysé afin de connaitre sa valeur isotopique à l'aide de substances de référence certifiées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (IAEA).

La précision de ces mesures pour les substances naturelles est de 0,30 ‰ / V-PDB sur le  $\delta^{13}C.$ 

#### III.6) Spectrométrie par fluorescence X

Ces analyses ont été réalisées au Laboratoire de Chimie Analytique et Sciences Séparatives (UMR 7178 du CNRS) de Strasbourg. Cette technique a été utilisée afin de vérifier la présence ou non de métaux dans les échantillons (E16432, E16427, SN1). Ces derniers ont été déposés sur des feuilles de polyester et ont été analysés avec un spectromètre de fluorescence X à dispersion de longueur d'onde (modèle SRS 303 de Siemens ; le tube X ayant une anode en Rhodium). Les conditions d'acquisition sont les suivantes : Voltage : 50 kV ; Intensité : 50 mA ; Pas : 0,1 en 2 theta ; Cristal analyseur : LIF.

#### III.7) Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Ces analyses ont été réalisées au Laboratoire d'Ingénierie des Polymères pour les Hautes Technologies de Strasbourg. Cette technique basée sur la mesure des différences d'échange de chaleur entre un échantillon à analyser et une référence (ici l'air), a été utilisée pour déterminer la température de fusion de deux échantillons archéologiques (E16458 et E16449). Ces mesures ont été effectuées sur l'appareil DSC Q200 (TA Instrument), à partir d'environ 2 mg d'échantillon.

La première phase qui consiste à chauffer l'échantillon (de 30 à 80°C) permet de détruire la structure cristalline (Yilmaz and Karakaya, 2009). La seconde phase (b) consiste à refroidir l'échantillon (de 80 à 30°C). Et c'est grâce à la troisième et dernière phase (montée en température de 30 à 80°C), que l'on peut déterminer la température de fusion de l'échantillon (Figure E.3).



Figure E.3 : Thermogrammes obtenus pour deux échantillons archéologiques de Deir el-Médineh.

#### **IV) DERIVATIONS**

Elles sont rendues nécessaires sur les fractions contenant des composés polaires portant des fonctions hydroxyles et ou carboxyles. Elles permettent d'améliorer leur comportement chromatographique vis-à-vis des colonnes apolaires utilisées en routine au laboratoire. Les dérivations permettent de faciliter la séparation des mélanges en diminuant la polarité des composés et en augmentant leur volatilité.

#### IV.1) Acétylation

500  $\mu$ L de pyridine et 500  $\mu$ L d'anhydride acétique sont ajoutés aux fractions sèches des alcools et F3 (Figure E.4). Le mélange réactionnel est placé à 60°C durant 2 heures (Innes *et al.*, 1997). Les réactifs sont ensuite éliminés par évaporation à sec sous flux d'azote. Puis la fraction des alcools est purifiée sur une petite colonne chromatographique (éluée avec le mélange DCM/AcOEt 1/1), avant d'être injectée en GC-MS. Pour la fraction F3, on ajoute 1 mL de méthanol. Après 1 heure à température ambiante, le méthanol est évaporé (sous flux d'azote), permettant ainsi de poursuivre les réactions de dérivation. Le méthanol est ajouté afin de transformer l'anhydride mixte en ester méthylique (forme qui sera analysable en GC-MS).





#### IV.2) Méthylation

#### IV.2.1) Avec le diazométhane

500  $\mu$ L d'une solution éthérée de diazométhane (Figure E.5) sont ajoutés aux fractions sèches des acides et à celles des composés polyfonctionnalisés (F3) préalablement acétylées (Figure E.6), durant 2 heures à température ambiante. Les milieux réactionnels sont ensuite évaporés à sec sous flux d'azote. La fraction F3 est ensuite purifiée sur une petite colonne chromatographique (éluée avec le mélange DCM/AcOEt 1/1). Ces fractions peuvent ensuite être injectées en GC-MS.



Figure E.5 : Synthèse du diazométhane à partir du diazald.

$$\begin{array}{c} O \\ R - \overset{O}{\overset{-}{\cup}} - \overset{O}{\overset{-}{\cup}} \overset{O}{\overset{+}{+}} + H_2 C = N^+ \stackrel{O}{=} N^- \xrightarrow{O} R^- \overset{O}{\overset{-}{\cup}} - O^- + H_3 C \stackrel{O}{\overset{-}{-}} N^+ \equiv N \xrightarrow{O} R^- \overset{O}{\overset{-}{\cup}} - OCH_3 + N_2 \end{array}$$

Figure E.6 : Réaction de méthylation des fonctions carboxyles.

#### IV.2.2) Avec le BF3/MeOH

200  $\mu$ L de dichlorométhane et 200  $\mu$ L de BF3/MeOH (provenant ici du *lot 25H50361*, dont la valeur du  $\delta^{13}$ C a été préalablement déterminée à **-58,7 ‰/ V-PDB**) sont ajoutés aux fractions sèches des acides et des composés polyfonctionnalisés (Figure E.7). Après 1 heure 30 à 60°C, trois extractions successives au dichlorométhane sont réalisées. Les extraits sont ensuite évaporés sous pression réduite, avant d'être purifiés sur une petite colonne chromatographique (élution au DCM), et injectés en GC-FID puis en GC-C-IRMS.



Figure E.7 : Réaction de méthylation des fonctions carboxyles par le BF<sub>3</sub>/MeOH.

#### IV.3) Triméthylsilylation

100  $\mu$ L de N,O-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA) et 100  $\mu$ L de pyridine sont ajoutés aux fractions F3 sèches (Figure E.8), puis les fractions sont placées à 60°C pendant 2 heures, avant d'être évaporées sous flux d'azote et injectées en GC-MS (BSTFA product specification, 1997).

$$\begin{array}{cccc} & & & & & & CH_3 \\ R-OH + & CH_3 - & Si-X & \longrightarrow & R-O-Si-CH_3 + HX & X = F_3C-C=N-Si(CH_3)_3 \\ & & & CH_3 & & O \\ & & & & CH_3 & & O \\ & & & & & O \\ & & & & & & SSTFA \end{array}$$

Figure E.8 : Réaction de triméthylsilylation des fonctions hydroxyles (et carboxyles).

#### V) METHANOLYSE ACIDE

500  $\mu$ L d'une solution de méthanol chlorhydrique (préparée en ajoutant 0,4 mL de chlorure d'acyle à 15 mL de méthanol anhydre) sont ajoutés à 1,5 mg d'échantillon brut (Bleton *et al.*, 1996). Après 24 heures à 80°C, la solution est évaporée à sec sous flux d'azote puis acétylée et analysée en GC-MS.

### VI) DEGRADATION AVEC L'HYDRURE DE LITHIUM ALUMINIUM (LIAIH<sub>4</sub> OU LAH)

Un large excès de LAH (lavé trois fois au cyclohexane puis mis en suspension dans l'éther préalablement testé aux peroxydes) est ajouté à la fraction sèche contenant les triglycérides (Figure E.9). Après 1 heure à température ambiante, le mélange réactionnel est versé sur du méthanol et filtré sur célite avant d'être évaporé sous pression réduite. Puis celui-ci est repris dans du DCM, et extrait trois fois avec de l'eau bidistillée, avant d'être acétylé et injecté en GC-MS.



Figure E.9 : Coupure des triglycérides par le LiAlH<sub>4</sub>.

### VII) DETECTION DE L'AMIDON AVEC LA SOLUTION DE LUGOL

La solution de Lugol est composée de diiode  $(I_2)$  et d'iodure de potassium (KI) en solution dans l'eau. Pour préparer un litre de solution, il faut 17 g d'iodure de potassium et 5 g de diiode. Ce test permet de mettre en évidence la présence d'amidon via une coloration violette (foncée) ou bleu nuit (Figure E.10), et celle de glycogène via une coloration brun acajou.



Figure E.10 : Photos de la solution de Lugol et du changement de coloration sur une biscotte montrant la présence d'amidon.

Le glycogène et l'amidon sont des polyosides de glucose consistant en un enchaînement linéaire de molécules de glucose. Comme les dimensions des molécules de diiode I<sub>2</sub> correspondent à celles des intervalles entre ces sous-unités de glucose successives, elles s'insèrent dans ceux-ci le long des molécules linéaires du polyoside. Ici, il ne s'agit pas d'une liaison chimique mais d'une fixation par des forces physiques d'adsorption. Il se forme alors un réseau, dans lequel une partie de la lumière est absorbée, et celle qui n'est pas absorbée en ressort modifiée, d'où une coloration (Borel, 1997).

#### **VIII) EXPERIENCES DE SIMULATIONS**

#### VIII.1) Simulation d'altération photochimique

#### VIII.1.1) Protocole

Des huiles végétales contemporaines de première pression à froid modernes (olive, colza, sésame, lin, ricin et palme), achetées dans le commerce ont été placées dans des tubes en quartz, puis soumises à des irradiations lumineuses à l'aide d'une lampe à spectre lumière du jour (lampe Daylight-580OK, Powerstar HQI-TS 1000W), placée à 50 cm des échantillons. L'exposition a durée plus de 1000 heures, au contact de l'air et à température ambiante.

#### VIII.1.2) Analyses

Les huiles sont ensuite fractionnées par CCM (élution au dichlorométhane), en utilisant les produits de références (friedeline et lupéol) pour permettre la séparation de la fraction F1 et esters de celles des triglycérides, des alcools et de la fraction renfermant les acides et les composés polyfonctionnalisés (Figure E.11). La fraction contenant les triglycérides est dégradée avec le LAH, avant d'être dérivée comme les fractions alcools, acides et composés polyfonctionnalisés, puis injectée en GC-MS.

Remarque : les huiles fraîches (qui n'ont pas été exposées à cette source lumineuse), ont également été analysées.



Figure E.11 : Schéma de fractionnement des huiles par CCM (élution au dichlorométhane).

#### VIII.2) Simulation d'altération thermique

#### VIII.2.1) Protocole

200 mg d'huile d'olive ont été chauffés de manière homogène dans un bain de sable, à 185°C pendant 72 heures.

#### VIII.2.2) Analyses

Après refroidissement, l'huile est fractionnée par CCM (éluée au dichlorométhane et séparée comme décrit précédemment). Les fractions obtenues sont ensuite injectées en GC-MS.

### **Références Bibliographiques**

#### Agozzino P., Avellone G., Donato I.D. and Filizzola F. (2007)

Identification of organic compunds in fictile unguentaria from two sicilian necropolis of greek age (5th century, B.C.) by GC-MS analysis. *Annili di Chimica*, **97**, p. 859-865.

## Al-Farsi M., Alasalvar C., Al-Abid M., Al-Shoaily K., Al-Amry M. and Al-Rawahy F. (2007)

Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*, **104**, p. 943-947.

#### Al-Rashood K.A., Abou-Shaaban R.R.A., Abdel-Moety E.M. and Rauf A. (1996)

Compositional and Thermal Characterization of Genuine and Randomized Lard: A Comparative Study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73**, p. 303-309.

#### Alewijn M., Smit B.A., Sliwinski E.L. and Wouters J.T.M. (2007)

The formation mechanism of lactones in Gouda cheese. *International Dairy Journal*, **17**, p. 59-66.

#### Baeten J., Romanus K., Degryse P., De Clercq W., Poelman H., Verbeke K., Luypaerts A., Walton M., Jacobs P., De Vos D. and Waelkens M. (2010)

Application of a multi-analytical toolset to a 16th century ointment: Identification as lead plaster mixed with beeswax. *Microchemical Journal*, **95**, p. 227-234.

#### **Bardinet T.** (1995)

Les papyrus médicaux de l'Egypte pharaonique. Fayard (Eds.), Paris.

#### Bi X., Sheng G., Liu X., Li C. and Fu J. (2005)

Molecular and carbon and hydrogen isotopic composition on *n*-alkanes in plant leaf waxes. *Organic Geochemistry*, **36**, p. 1405-1417.

### Bisset N.G., Bruhn J.G., Curto S., Holmstedt B., Nyman U. and Zenk M.H. (1994)

Was opium known in 18th dynasty ancient Egypt? An examination of materials from the tomb of the chief royal architect Kha. *Journal of Ethnopharmacology*, **41**, p. 99-114.

#### Bleton J., Mejanelle P., Sansoulet J., Goursaud S. and Tchapla A. (1996)

Characterization of neutral sugars and uronic acids after methanolysis and trimethylsilylation for recognition of plant gums. *Journal of Chromatography A*, **720**, p. 27-49.

#### **Borel J.C.** (1997)

Biochimie Dynamique. Maloine (Eds.), Paris.

#### Brand W.A. (1996)

High Precision Isotope Ratio Monitoring Techniques in Mass Spectrometry. *Journal of mass spectrometry*, **31**, p. 225-235.

#### Bruyère B. and Lucas A. (1937)

Fouilles de l'Institut Français d'Archéologie orientale du Caire - XV. Fouilles de Deir el-Médineh (1934-1935). Le Caire, p. 90-92.

#### Buckley S.A., Stott A.W. and Evershed R.P. (1999)

Studies of organic residues from ancient Egyptian mummies using high temperature-gas chromatography-mass spectrometry and sequential thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst*, **124**, p. 443-452.

#### Buckley S.A. and Evershed R.P. (2001)

Organic chemistry of embalming agents in Pharaonic and Graeco-Roman mummies. *Nature*, **413**, p. 837-841.

#### Budzikiewicz H., Djerassi C. and Williams D.H. (1964)

Structure elucidation of natural products by mass spectrometry. Volume II: Steroids, terpenoids, sugar, and miscellaneous classes. Holden-Day (Eds.), San Francisco.

#### Budzikiewicz H., Djerassi C. and Williams D.H. (1967)

Mass Spectrometry of Organic Compounds. Holden-Day (Eds.), San Francisco.

#### Byrdwell W.C. and Emken E.A. (1995)

Analysis of Triglycerides Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Lipids*, **30**, p. 173-175.

#### Byrdwell W.C., Emken E.A., Neff W.E. and Adlof R.O. (1996)

Quantitative Analysis of Triglycerides Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry. *Lipids*, **31**, p. 919-935.

#### **Byrdwell W.C.** (2001)

Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry for Analysis of Lipids. *Lipids*, **36**, p. 327-346.

#### Cai S. and Syage J.A. (2006)

Comparison of Atmospheric Pressure Photoionization, Atmospheric Pressure Chemical Ionization, and Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Analysis of Lipids. *Analytical Chemistry*, **78**, p. 1191-1199.

#### Chapman A.C. and Plenderleith H.J. (1926)

CCCXLII.-Examination of an Ancient Egyptian (Tut-ankh-Amen) Cosmetic. *Journal of the Chemical Society*, p. 2614-2619.

### Charrié-Duhaut A., Connan J., Rouquette N., Adam P., Barbotin C., Rozières M.F., Tchapla 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.

### Charters S., Evershed R.P., Goad L.J., Leyden A., Blinkhorn P.W. and Denham V. (1993)

Quantification and distribution of lipid in archaeological ceramics: implications for sampling potsherds for organic residue analysis and the classification of vessel use. *Archaeometry*, **35**, p. 211-223.

#### Charters S., Evershed R.P., Blinkhorn P.W. and Denham V. (1995)

Evidence for the mixing of fats and waxes in archaeological ceramics. *Archaeometry*, **37**, p. 113-127.

#### Chen C.W., Chong C.L., Ghazali H.M. and Lai O.M. (2007)

Interpretation of triacylglycerol profiles of palm oil, palm kernel oil and their binary blends *Food Chemistry*, **100**, p. 178-191.

#### **Cherpion N.** (1994)

Le "cône d'onguent", gage de survie. Le Bulletin de l'Institut français d'archéologie orientale, 94, p. 79-106.

#### Chikaraishi Y., Naraoka H. and Poulson S.R. (2004)

Hydrogen and carbon isotopic fractionations of lipid biosynthesis among terrestrial (C3, C4 and CAM) and aquatic plants. *Phytochemistry*, **65**, p. 1369-1381.

#### Chikaraishi Y. and Naraoka H. (2007)

 $\delta^{13}$ C and  $\delta$ D relationships among three *n*-alkyl compound classes (*n*-alkanoic acid, *n*-alkane and *n*-alkanol) of terrestrial higher plants. *Organic Geochemistry*, **38**, p. 198-215.

#### Christopoulou E., Lazaraki M., Komaitis M. and Kaselimis K. (2004)

Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chemistry*, **84**, p. 463-474.

#### Colinart S., Grappin-Wsevolojsky S. and Matray C. (1999)

La cire punique: étude critique des recettes antiques et de leur interprétation. Congrès ICOM-CC, Lyon, 28 août - 6 septembre, p. 213-220.

#### Collister J.W., Rieley G., Stern B., Eglinton G. and Fry B. (1994)

Compound-specific  $\delta^{13}$ C analysis of leaf lipids from plants with differing carbon dioxide metabolisms. *Organic Geochemistry*, **21**, p. 619-627.

#### Colombini M.P., Modugno F., Silvano F. and Onor M. (2000)

Characterization of the balm of an egyptian mummy from the seventh century B.C. *Studies in conservation*, **45**, p. 19-29.

#### Colombini M.P., Giachi G., Modugno F. and Ribechini E. (2005a)

Characterisation of organic residues in pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt). *Microchemical Journal*, **79**, p. 83-90.

#### Colombini M.P., Modugno F. and Ribechini E. (2005b)

Organic mass spectrometry in archaeology: evidence for Brassicaceae seed oil in Egyptian ceramic lamps. *Journal of mass spectrometry*, **40**, p. 890-898.

#### Colombini M.P., Giachi G., Iozzo M. and Ribechini E. (2009)

An Etruscan Ointment From Chiusi (Tuscany, Italy): It's Chemical Characterization. *Journal of Archaeological Science*, **37**, p. 1488-1495.

#### Colombini M.P. and Modugno F. (2009)

Organic mass spectrometry in art and archaeology - I. Organic materials in art and archaeology. Wiley (Eds.), New York, p. 3-36.

#### Condamin J., Formanti F., Metais M.O., Michel M. and Blond P. (1976)

The application of gas chromatography to the tracing of oil in ancient amphorae. *Archaeometry*, **18**, p. 195-201.

## Copley M.S., Rose P.J., Clapham A., Edwards D.N., Horton M.C. and Evershed R.P. (2001a)

Processing palm fruits in the Nile Valley - biomolecular evidence from Qasr Ibrim. *Antiquity*, **75**, p. 538-542.

#### **Copley M.S., Rose P.J., Clapham A., Edwards D.N., Horton M.C. and Evershed R.P.** (2001b)

Detection of palm fruit lipids in archaeological pottery from Qasr Ibrim, Egyptian Nubia. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **268**, p. 593-597.

### Copley M.S., Bertan R., Dudd S.N., Docherty G., Mukherjee A.J., Straker V., Payne S. and Evershed R.P. (2003)

Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *Proceedings of the National Academy of the United States of America*, **100**, p. 1524-1529.

### Copley M.S., Berstan R., Dudd S.N., Straker V., Payne S. and Evershed R.P. (2005a)

Dairying in antiquity. I. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Iron Age. *Journal of Archaeological Science*, **32**, p. 485-503.

## Copley M.S., Berstan R., Mukherjee A.J., Dudd S.N., Straker V., Payne S. and Evershed R.P. (2005b)

Dairying in antiquity. III. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Neolithic. *Journal of Archaeological Science*, **32**, p. 523-546.

#### Copley M.S., Berstan R., Straker V., Payne S. and Evershed R.P. (2005c)

Dairying in antiquity. II. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Bronze Age. *Journal of Archaeological Science*, **32**, p. 505-521.

#### Copley M.S., Bland H.A., Rose P., Horton M. and Evershed R.P. (2005d)

Gas chromatographic, mass spectrometric and stable carbon isotopic investigations of organic residues of plant oils and animal fats employed as illuminants in archaeological lamps from Egypt. *The Analyst*, **130**, p. 860-871.

#### Cotte M., Dumas P., Richard G., Breniaux R. and Walter P. (2005)

New insight on ancient cosmetic preparation by synchrotron-based infrared microscopy. *Analytica Chimica Acta*, **553**, p. 105-110.

### Cotte M., Checroun E., Susini J., Dumas P., Tchoreloff P., Besnard M. and Walter P. (2006)

Kinetics of oil saponification by lead salts in ancient preparations of pharmaceutical lead plasters and painting lead mediums. *Talanta*, **70**, p. 1136-1142.

#### Crnjar E.D., Witchwoot A. and Nawar W.W. (1981)

Thermal oxidation of a series of saturated triacylglycerols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **29**, p. 39-42.

#### Den Dooren De Jong L.E. (1961)

On the formation of adipocere from fats. Contribution to the microbiology of systems containing two liquid phases. *Antonie van Leeuwenhoek*, **27**, p. 337-361.

#### **DeNiro M.J. and Epstein S.** (1977)

Mechanism of Carbon Isotope Fractionation Associated with Lipid Synthesis. *Science*, **197**, p. 261-263.

#### DeNiro M.J. and Epstein S. (1978)

Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **42**, p. 495-506.

#### Dimick P., Patton S., Kinsella J. and Walker N. (1966)

The prevalence of aliphatic delta-lactones or their precursors in animal fats. *Lipids*, **1**, p. 387-390.

#### Dobson G., Christie W.W. and Sebedio J.-L. (1996)

Monocyclic saturated fatty acids formed from oleic acid in heated sunflower oils. *Chemistry* and *Physics of Lipids*, **82**, p. 101-110.

#### Dudd S. and Evershed R.P. (1998)

Direct demonstration of milk as an element of archaeological economies. *Science*, **282**, p. 1478-1481.

#### **Duguay G.** (2007)

Spectrométrie de masse - Résumés de cours et exercices résolus. Ellipses (Eds.), Paris.

#### El-Mallah M.S. and El-Shami S.M. (2009)

Investigation of liquid wax components of egyptian Jojoba seeds. *Journal of Oleo Science*, **10**, p. 543-548.

#### **El-Shimy M.** (2002)

Egyptology at the Dawn of the Twenty-First Century: History, Religion : Proceedings of the Eighth International Congress of Egyptologists, Cairo, 2000 - The preparation and use of perfumes and perfumed substances in ancient Egypt. The American University in Cairo Press, Caire, p. 509-513.

#### Evershed R.P., Heron C. and Goad L.J. (1990)

Analysis of Organic Residues of Archaeological Origin by High-temperature Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analyst*, **115**, p. 1339-1342.

#### Evershed R.P., Heron C. and Goad L.J. (1991)

Epicuticular wax components preserved in potsherds as chemical indicators of leafy vegetables in ancient diets *Antiquity*, **65**, p. 540-544.

#### **Evershed R.P.** (1992)

Chemical composition of a bog body adipocere. Archaeometry, 34, p. 253-265.

#### Evershed R.P., Heron C., Charters S. and Goad L.J. (1992)

The survival of food residues: New methods of analysis, interpretation and application. *Proceedings of the British Academy*, **77**, p. 187-208.

#### Evershed R.P. and Connolly R.C. (1994)

Post-Mortem Transformations of Sterols in Bog Body Tissues. *Journal of Archaeological Science*, **21**, p. 577-583.

## Evershed R.P., Stott A.W., Raven A., Dudd S., Charters S. and Leyden A. (1995)

Formation of long-chain ketones in ancient pottery vessels by pyrolysis of acyl lipids. *Tetrahedron Letters*, **36**, p. 8875-8878.

Evershed R.P., Mottram H.R., Dudd S.N., Charters S., Stott A.W. and Lawrence G.J. (1997a)

New criteria for the identification of animal fats preserved in archaeological pottery. *Naturwissenschaften*, **84**, p. 402-406.

### Evershed R.P., Van Bergen P.F., Peakman T.M., Leigh-Firbank E.C., Horton M.C. and Edwards D. (1997b)

Archaeological frankincense. Nature, 390, p. 667-668.

#### Evershed R.P., Vaughan S.J., Dudd S.N. and Soles J.S. (1997c)

Fuel for thought? Beeswax in lamps and conical cups from late Minoan Crete. *Antiquity*, **71**, p. 979-985.

### Evershed R.P., Dudd S.N., Charters S., Mottram H., Stott A.W., Raven A., Van Bergen P.F. and Bland H.A. (1999)

Lipids as carriers of anthropogenic signals from prehistory. *The Royal Society*, **354**, p. 19-31.

### Evershed R.P., Dudd S.N., Copley M.S., Berstan R., Stott A.W., Mottram H.R., Buckley S.A. and Crossman Z. (2002)

Chemistry of archaeological animal fats. Accounts of chemical research, 35, p. 660-668.

#### Evershed R.P., Dudd S.N., Anderson-Stojanovic V.R. and Gebhard E.R. (2003)

New Chemical Evidence for the Use of Combed Ware Pottery Vessels as Beehives in Ancient Greece. *Journal of Archaeological Science*, **30**, p. 1-12.

## Evershed R.P., Berstan R., Grew F., Copley M.S., Charmant A.J.H., Barham E., Mottram H.R. and Brown G. (2004)

Formulation of a Roman cosmetic. Nature, 432, p. 35-36.

#### **Evershed R.P.** (2008)

Organic residue analysis in archaeology: The archaeological biomarker revolution. *Archaeometry*, **50**, p. 895-924.

#### **Evershed R.P.** (2009)

Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology - V. Compound-specific Stable Isotopes in Organic Residue Analysis in Archaeology. Wiley (Eds.), New York, p. 391-432.

#### Evrard J., Pagès-Xatart-Pares X., Argenson C. and Morin O. (2007)

Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, **42**, p. 1S13-1S23.

#### Fauconnot L., Hau J., Aeschlimann J.-M., Fay L.-B. and Dionisi F. (2004)

Quantitative analysis of triacylglycerol regioisomers in fats and oils using reversed-phase high-performance liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **18**, p. 218-224.

#### Fioriti J.A., Krampl V. and Sims R.J. (1967)

Lactones in Autoxidized Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **44**, p. 534-538.

#### **Fortineau A.-D.** (2004)

Chemistry Perfumes Your Daily Life. Journal of Chemical Education, 81, p. 45-50.

#### **Fourcroy A.** (1790)

Mémoire sur les différents états de cadavres trouvés dans les fouilles du cimetière des innocents en 1786 & 1787. *Annales de chimie*, **5**, p. 154-185.

#### Frénot M., Vierling, E. (2002)

Biochimie des aliments: diététique du sujet bien portant. Doin (Eds.), France.

#### Fritsch C.W. and Deatherage F.E. (1956)

A study of volatile compounds produced by the autoxidation of methyl oleate, oleic acid, and cis-9-octadecene. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **33**, p. 109-113.

#### **Garnier N.** (2003)

Analyse structurale de matériaux organiques conservés dans des céramiques antiques. Apports de la chromatographie et de la spectrométrie de masse. Ph.D. Thesis, Université Pierre et Marie Curie.

#### Garnier N., Richardin P., Cheynier V. and Regert M. (2003)

Characterization of thermally assisted hydrolysis and methylation products of polyphenols from modern and archaeological vine derivatives using gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **493**, p. 137-157.

#### Garnier N. and Frère D. (2008)

Parfums de l'Antiquité: La rose et l'encens en Méditerranée - Une archéologie de l'évanescent. Musée royal de Mariemont, Mariemont, p. 61-71.

#### Gregg M.W., Banning E.B., Gibbs K. and Slater G.F. (2009)

Subsistence practices and pottery use in Neolithic Jordan: molecular and isotopic evidence. *Journal of Archaeological Science*, **36**, p. 937-946.

#### Gregg M.W. and Slater G.F. (2010)

A new method for extraction, isolation and transesterification of free fatty acids from archaeological pottery. *Archaeometry*, **52**, p. 833-854.

#### Grice K. (2005)

Distributions and Stable Carbon Isotopic Compositions of Individual Biological Markers from the Permian Kupferschiefer (Lower Rhine Basin, N.W. Germany). Ph.D. Thesis, University of Bristol.

### Guasch-Jané M.R., Ibern-Gómez M., Andrés-Lacueva C., Jáuregui O. and Lamuela-Raventós R.M. (2004)

Liquid Chromatography with Mass Spectrometry in Tandem Mode Applied for the Identification of Wine Markers in Residues from Ancient Egyptian Vessels. *Analytical Chemistry*, **76**, p. 1672-1677.

### Guasch-Jané M.R., Andrés-Lacueva C., Jáuregui O. and Lamuela-Raventós R.M. (2006a)

First evidence of white wine in ancient Egypt from Tutankhamun's tomb. *Journal of Archaeological Science*, **33**, p. 1075-1080.

### Guasch-Jané M.R., Andrés-Lacueva C., Jáuregui O. and Lamuela-Raventós R.M. (2006b)

The origin of the ancient Egyptian drink Shedeh revealed using LC/MS/MS. *Journal of Archaeological Science*, **33**, p. 98-101.

#### Guilloton M. and Quintard B. (2002)

Biochimie. Dunod (Eds.), Paris.

#### Gülaçar F.O., Buchs A. and Susini A. (1989)

Capillary gas chromatography-mass spectrometry and identification of substituted carboxylic acids in lipids extracted from a 4000-year-old nubian burial. *Journal of Chromatography A*, **479**, p. 61-72.

#### Hairfield H.H. and Hairfield E.M. (1990)

Identification of a Late Bronze Age resin. Analytical Chemistry, 62, p. 41A-45A.

#### Hammer B.T., Fogel M.L. and Hoering T.C. (1998)

Stable carbon isotope ratios of fatty acids in seagrass and redhead ducks. *Chemical Geology*, **152**, p. 29-41.

#### Hayes J.M. (1993)

Factors controlling <sup>13</sup>C contents of sedimentary organic compounds: Principles and evidence. *Marine Geology*, **113**, p. 111-125.

#### Hénon G., Recseg K. and Kovari K. (2001)

Wax Analysis of Vegetable Oils Using Liquid Chromatography on a Double-Absorbent Layer of Silica Gel and Silver Nitrate-Impregnated Silica Gel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **78**, p. 401-410.

#### Heron C., Nemcek N. and Bonfield K.M. (1994)

The chemistry of neolithic beeswax. Naturwissenschaften, 81, p. 266-269.

#### Hites R.A. (1970)

Quantitative Analysis of Triglyceride Mixtures by Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, **42**, p. 1736-1740.

#### Holcapek M., Jandera P., Zderadicka P. and Hrubá L. (2003)

Characterization of triacylglycerol and diacylglycerol composition of plant oils using highperformance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1010**, p. 195-215.

#### 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.

#### Isaksson S., Karlsson C. and Eriksson T. (2010)

Ergosterol (5, 7, 22-ergostatrien-3[beta]-ol) as a potential biomarker for alcohol fermentation in lipid residues from prehistoric pottery. *Journal of Archaeological Science*, **37**, p. 3263-3268.

#### Jakab A., Héberger K. and Forgacs E. (2002)

Comparative analysis of different plant oils by high-performance liquid chromatographyatmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **976**, p. 255-263.

#### Jensen R.G., Ferris A.M. and Lammi-Keefe C.J. (1991)

The composition of milk fat. Journal of Dairy Science, 74, p. 3228-3243.

#### Jurriens G. and Oele J.M. (1965)

Determination of hydroxy-acid triglycerides and lactones in butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **42**, p. 857-861.

#### **Kaneda T.** (1967)

Fatty acids in the genus *Bacillus*. I. Iso- and anteiso-fatty acids as characteristic constituents of lipids in 10 species. *Journal of Bacteriology*, **93**, p. 894-903.

#### Karleskind A. (1996)

Oils and Fats Manual. Volume 1 et 2. Lavoisier (Eds.), Paris.

#### Kimpe K., Jacobs P.A. and Waelkens M. (2001)

Analysis of oil used in late Roman oil lamps with different mass spectrometric techniques revealed the presence of predominantly olive oil together with trace of animal fat. *Journal of Chromatography A*, **937**, p. 87-95.

#### Kimpe K., Jacobs P.A. and Waelkens M. (2002)

Mass spectrometric methods prove the use of beeswax and ruminant fat in late Roman cooking pots. *Journal of Chromatography A*, **968**, p. 151-160.

## Kimpe K., Drybooms C., Schrevens E., Jacobs P.A., Degeest R. and Waelkens M. (2004)

Assessing the relationship between forms and use of different kinds of pottery from the archaeological site Sagalassos (southwest Turkey) with lipid analysis. *Journal of Archaeological Science*, **31**, p. 1503-1510.

#### Kolattukudy K.E. (1969)

Plant waxes. *Lipids*, **5**, p. 259-275.

#### Kolattukudy K.E. (1970)

Biosynthesis of cuticular lipids. Annual Review of Plant Physiology, 21, p. 163-192.

#### Kopecký J. (1992)

Organic Photochemistry: A Visual Approach. John Wiley & Sons (Eds.), New York.

#### Laakso P. (1996)

Analysis of triacylglycerols - Approaching the molecular composition of natural mixtures. *Food Reviews International*, **12**, p. 199-250.

#### Laakso P. (2002)

Mass spectrometry of triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **104**, p. 43-49.

#### Laboratoire de Recherche des Musées de France (1978)

Identification du contenu de divers vases de la XVIIIème dynastie provenant de Deir el-Médineh.

#### Lampi A.M., Juntunen L., Toivo J. and Piironen V. (2002)

Determination of thermo-oxidation products of plant sterols. *Journal of Chromatography B*, 777, p. 83-92.

#### Langenheim J.H. (2003)

Plant resins. Chemistry, Evolution, Ecology and Ethnobotany. Timber Press (Eds.), Portland, Cambridge.

#### Lehninger A.L. (1975)

Biochemistry. Worth Pub. (Eds.), New York.

#### Lísa M. and Holcapek M. (2008)

Triacylglycerols profiling in plant oils important in food industry, dietetics and cosmetics using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1198-1199**, p. 115-130.

#### 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 higher land plant-derived sedimentary organic matter. *Organic Geochemistry*, **26**, p. 137-153.

#### Lucas A. and Harris J.R. (1962a)

Ancient Egyptian Materials And Industries - II. Alcoholic beverages and sugar. Kessinger Publishing (Eds.), Londres, p. 10-27.

#### Lucas A. and Harris J.R. (1962b)

Ancient Egyptian Materials and Industries - IV. Cosmetics, perfumes and incense. Kessinger Publishing (Eds.), Londres, p. 80-98.

#### Lucas A. and Harris J.R. (1962c)

Ancient Egyptian Materials and Industries - XIII. Oils, Fats and Waxes. Kessinger Publishing (Eds.), Londres, p. 327-337.

#### Marchand D. and Rontani J.-F. (2001)

Characterisation of photo-oxidation and autoxidation products of phytoplanktonic monounsaturated fatty acids in marine particulate matter and recent sediments. *Organic Geochemistry*, **32**, p. 287-304.

## Martinetto P., Anne M., Dooryhée E., Drakopoulos M., Dubus M., Salomon J., Simionovici A. and Walter P. (2001)

Synchrotron X-ray micro-beam studies of ancient Egyptian make-up. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, **181**, p. 744-748.

#### Mathe C., Culioli G., Archier P. and Vieillescazes C. (2004)

Characterization of archaeological frankincense by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1023**, p. 277-285.

#### **McGovern P.E.** (1997)

Wine of Egypt's Golden Age: An Archaeochemical Perspective. *Journal of Egyptian Archaeology*, **83**, p. 69-108.

#### **McGovern P.E.** (1998)

Wine for Eternity. How molecular archaeologists identified the contents of vessels found in the tomb of an Egyptian King ? *Archaeology*, **51**, p. 28-32.

#### McGovern P.E., Mirzoian A. and Hall G.R. (2009)

Ancient Egyptian herbal wines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, p. 7361-7366.

#### Meier-Augenstein W. (1999)

Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **842**, p. 351-371.

#### Meier-Augenstein W. (2002)

Stable isotope analysis of fatty acids by gas chromatography-isotope ratio mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **465**, p. 63-79.

#### Melgarejo P., Hernández F., Martínez J.J., Sánchez J. and Salazar D.M. (2003)

Organic acids and sugars from first and second crop fig juices. ISHS Acta Horticulturae 605: II International Symposium on Fig.

#### Melzer E. and Schmidt H.L. (1987)

Carbon Isotope Effects on the Pyruvate Dehydrogenase Reaction and Their Importance for Relative Carbon-13 Depletion in Lipids. *The Journal of Biological Chemistry*, **262**, p. 8159-8164.

#### Michel R.H., McGovern P.E. and Badler V.R. (1992)

Chemical evidence for ancient beer. Nature, 360, p. 24.

#### Michel R.H., McGovern P.E. and Badler V.R. (1993)

The First Wine & Beer. Chemical Detection of Ancient Fermented Beverages. *Analytical Chemistry*, **65**, p. 408A-413A.

#### Mills J.S. and White R. (1994a)

*The Organic Chemistry of Museum Objects - III. Oils and Fats.* Butterworth-Heinemann Ltd (Eds.), Oxford, p. 31-47.

#### Mills J.S. and White R. (1994b)

*The organic chemistry of museum objects - VI. Carbohydrates: sugars and polysaccharides.* Butterworth-Heinemann Ltd (Eds.), Oxford, p. 69-83.

#### Mills J.S. and White R. (1994c)

*The organic chemistry of museum objects. - IV. Natural waxes.* Butterworth-Heinemann Ltd (Eds.), Oxford, p. 49-55.

#### Modugno F., Ribechini E. and Colombini M.P. (2006)

Aromatic resin characterisation by gas chromatography-mass spectrometry Raw and archaeological materials. *Journal of Chromatography A*, **1134**, p. 298-304.

#### Morgan E.D., Cornford C., Pollock D.R.J. and Isaacson P. (1973)

The transformation of fatty material buried in soil. Science and Archaeology, 10, p. 9-10.

#### Morgan E.D., Titus L., Small R.J. and Edwards C. (1984)

Gas chromatographic analysis of fatty material from a Thule midden. *Archaeometry*, **26**, p. 43-48.

#### Mottram H.R. and Evershed R.P. (1996)

Structure Analysis of Triacylglycerol Positional Isomers Using Atmospheric Pressure Chemical Ionisation Mass Spectrometry. *Tetrahedron Letters*, **37**, p. 8593-8596.

#### Mottram H.R., Woodbury S.E. and Evershed R.P. (1997)

Identification of Triacylglycerol Positional Isomers Present in Vegetable Oils by High Performance Liquid Chromatography/ Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **11**, p. 1240-1252.

#### Mottram H.R., Dudd S.N., Lawrence G.J., Stott A.W. and Evershed R.P. (1999)

New chromatographic, mass spectrometric and stable isotope approaches to the classification of degraded animal fats preserved in archaeological pottery. *Journal of Chromatography A*, **833**, p. 209-221.

#### Mottram H.R., Crossman Z.M. and Evershed R.P. (2001)

Regiospecific characterisation of the triacylglycerols in animal fats using high performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *The Analyst*, **126**, p. 1018-1024.

#### Mottram H.R. and Evershed R.P. (2001)

Elucidation of the composition of bovine milk fat triacylglycerols using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **926**, p. 239-253.
#### Mu H. and Sillen H. (2000)

Identification of diacylglycerols and triacylglycerols in a structured lipid sample by atmospheric pressure chemical ionization liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **77**, p. 1049-1059.

#### Muck G.A., Tobias J. and McL. Whitney R. (1963)

Flavor of evaporated milk. I. Identification of some compounds obtained by the petroleum ether solvent partitioning technique from aged evaporated milk. *Journal of Dairy Science*, **46**, p. 774-779.

#### **Muzio I.** (1925)

Su di un olio medicato della tomba di Cha. *Atti della Società Ligustica de Scienze e Lettere,* **4**, p. 249-253.

#### Naves Y.R. (1990)

Technologie et Chimie des Parfums Naturels - Essences Concrètes, Résinoïdes, Huiles et Pommades aux Fleurs. Masson (Eds.), Paris.

#### **Nawar W.W.** (1969)

Thermal Degradation of Lipids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 17, p. 18-21.

#### Newman R. (1998)

Technical report: Organic residues from egyptian blue anhydrite duck flask and other anhydrite vessels. *Metropolitan Museum Journal*, **33**, p. 49-55.

#### Nicolas-Duval B. (2008)

Parfums de l'Antiquité: La rose et l'encens en Méditerranée - La formule des parfums antiques: une affaire de nez ?,. Musée royal de Mariemont (Eds.), Mariemont, p. 53-60.

#### Nitz S., Kollmannsberger H., Weinreich B. and Drawert F. (1991)

Enantiomeric distribution and  ${}^{13}C/{}^{12}C$  isotope ratio determination of  $\gamma$ -lactones: appropriate methods for the differentiation between natural and non-natural flavours? *Journal of Chromatography A*, **557**, p. 187-197.

#### **O'Leary M.H.** (1981)

Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, 20, p. 553-567.

### **Oumeish O.Y.** (2001)

The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art through the medical history of mankind. *Clinics in Dermatology*, **19**, p. 375-386.

# Outram A.K., Stear N.A., Bendrey R., Olsen S., Kasparov A., Zaibert V., Thorpe N. and Evershed R.P. (2009)

The earliest horse harnessing and milking. Science, 323, p. 1332-1335.

### Padovan G.J., De Jong D., Rodrigues L.P. and Marchini J.S. (2003)

Detection of adulteration of commercial honey samples by the  ${}^{13}C/{}^{12}C$  isotopic ratio. *Food Chemistry*, **82**, p. 633-636.

### Pai J.S., Lomanno S.S. and Nawar W.W. (1979)

Effect of heat treatments on the volatile composition of coconut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **56**, p. 494-497.

## Park R. and Epstein S. (1961)

Metabolic fractionation of <sup>13</sup>C & <sup>12</sup>C in plants. *Plant Physiology*, **36**, p. 133-138.

## Passi S., Picardo M., De Luca C., Nazzaro-Porro M., Rossi L. and Rotilio G. (1993)

(1995)

Saturated dicarboxylic acids as products of unsaturated fatty acid oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, **1168**, p. 190-198.

#### Pastorova I., de Koster C.G. and Boon J.J. (1997)

Analytical Study of Free and Ester Bound Benzoic and Cinnamic Acids of Gum Benzoin Resins by GC–MS and HPLC–frit FAB–MS. *Phytochemical Analysis*, **8**, p. 63-73.

#### 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.

## Pierrat-Bonnefois G. (2002)

Deir el-Médineh et la Vallée des Rois, colloque - Cimetière est du village ou cimetière à l'est de Deir el-Médineh. Khéops (Eds.), Paris, p. 49-65.

# Ramsey B.C., Dee M.W., Rowland J.M., Higham T.F.G., Harris S.A., Brock F., Quiles A., Wild E.M., Marcus E.S. and Shortland A.J. (2010)

Radiocarbon-Based Chronology for Dynastic Egypt. Science, 328, p. 1554-1557.

### Regert M. and Rolando C. (1996)

Archéologie des résidus organiques - *De la chimie analytique à l'archéologie: un état de la question. Techne*, **3**, p. 118-128.

### Regert M., Bland H.A., Dudd S.N., Van Bergen P.F. and Evershed R.P. (1998)

Free and bound fatty acid oxidation products in archaeological ceramic vessels. *Proceedings* of the Royal Society of London B, **265**, p. 2027-2032.

### Regert M., Colinart S., Degrand L. and Decavallas O. (2001)

Chemical alteration and use of beeswax through time: accelerated ageing tests and analysis of archaeological samples from various environmental contexts. *Archaeometry*, **43**, p. 549-569.

### **Regert M. and Rolando C.** (2002)

Identification of Archaeological Adhesives Using Direct Inlet Electron Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, **74**, p. 965-975.

## Regert M., Garnier N., Decavallas O., Cren-Olivé C. and Rolando C. (2003)

Structural characterization of lipid constituents from natural substances preserved in archaeological environments. *Measurement Science and Technology*, **14**, p. 1620-1630.

#### Regert M., Langlois J. and Colinart S. (2005)

Characterisation of wax works of art by gas chromatographic procedures. *Journal of Chromatography A*, **1091**, p. 124-136.

## Regert M., Guerra M.-F. and Reiche I. (2006)

Physico-chimie des matériaux du patrimoine culturel. Partie 2. *Techniques de l' Ingénieur*, p. 3781-1 à 11.

## **Regert M.** (2011)

Analytical strategies for discriminating archeological fatty substances from animal origin. *Mass Spectrometry Reviews*, **30**, p. 177-220.

## Rezanka T. and Sigler K. (2009)

Odd-numbered very-long-chain fatty acids from the microbial, animal and plant kingdoms. *Progress in Lipid Research*, **48**, p. 206-238.

### Ribechini E., Modugno F., Baraldi C., Baraldi P. and Colombini M.P. (2008a)

An integrated analytical approach for characterizing an organic residue from an archaeological glass bottle recovered in Pompeii (Naples, Italy) *Talanta*, **74**, p. 555-561.

### Ribechini E., Modugno F., Colombini M.P. and Evershed R.P. (2008b)

Gaz chromatographic and mass spectrometric investigations of organic residues from Roman glass unguentaria. *Journal of Chromatography A*, **1183**, p. 158-169.

### Ribechini E., Colombini M.P., Giachi G., Modugno F. and Pallecchi P. (2009a)

A multi-analytical approach for the characterization of commodities in a ceramic jar from Antinoe (Egypt). *Archaeometry*, **51**, p. 480-494.

### Ribechini E., Orsini S., Silvano F. and Colombini M.P. (2009b)

Py-GC/MS, GC/MS and FTIR investigations on Late Roman Egyptian adhesives from opus sectile : New insights into ancient recipes and technologies. *Analytica Chimica Acta*, **638**, p. 79-87.

## Ribechini E., Pérez-Arantegui J. and Colombini M.P. (2011)

Gas chromatography/mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for the chemical characterisation of modern and archaeological figs (*Ficus carica*). *Journal of Chromatography A*, **1218**, p. 3915-3922.

## Romanus K., Van Neer W., Marinova E., Verbeke K., A. L., Accardo S., Hermans I., Jacobs P., De Vos D. and Waelkens M. (2008)

Brassicaceae seed oil identified as illuminant in Nilotic shells from a first millenium AD Coptic church in Bawit, Egypt. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **390**, p. 783-793.

## Rontani J.-F. and Volkman J.K. (2005)

Lipid characterization of coastal hypersaline cyanobacterial mats from the Camargue (France). *Organic Geochemistry*, **36**, p. 251-272.

#### Sanz M.L., Villamiel M. and Martínez-Castro I. (2004)

Inositols and carbohydrates in different fresh fruit juices. Food Chemistry, 87, p. 325-328.

## Schiaparelli E. (1927)

Relazione sui lavori della Missione Archeologica Italiana in Egitto (Anni 1903-1920) - II. La tomba intatta dell'architetto Cha nella necropoli di tebe. Museo di Antichità (Eds.) Torino, p. 154-158.

## Serpico M. and White R. (2000)

Ancient Egyptian Materials and Technology - XVII. Oil, fat and wax. Cambridge University Press (Eds.), Cambridge, p. 390-429.

## Shiraishi S., Kawakami K. and Widodo S.E. (1996)

Organic acid profiles in the juice of fig fruits. *Faculty of agriculture Kyushu University*, **41**, p. 29-33.

# Shwartz E., Glazer I., Bar-Ya'akov I., Matityahu I., Bar-Ilan I., Holland D. and Amir R. (2009)

Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, **115**, p. 965-973.

## Smith M.B. and March J. (2001)

March's Advanced Organic Chemistry. Wiley-Interscience Publication (Eds.), New York.

## Soliday C.L., Blomquist G.J. and Jackson L.L. (1974)

Cuticular lipids of insects. VI. Cuticular lipids of the grasshoppers *Melanoplus sanguinipes* and *Melanoplus packardii*. *Journal of Lipid Research*, **15**, p. 399-405.

## **Sozio H.** (1956)

Les problèmes de l'enfleurage. Parfums-Cosmétiques-Savons.

## Spangenberg J.E., Jacomet S. and Schibler J. (2006)

Chemical analyses of organic residues in archaeological pottery from Arbon Bleiche 3, Switzerland - evidence for dairying in the late Neolithic. *Journal of Archaeological Science*, **33**, p. 1-13.

## Steele V.J., Stern B. and Stott A.W. (2010)

Olive oil or lard?: Distinguishing plant oils from animal fats in the archaeological record of the eastern Mediterranean using gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **24**, p. 3478-3484.

#### Stern B., Heron C., Tellefsen T. and Serpico M. (2008)

New investigations into the Uluburun resin cargo. *Journal of Archaeological Science*, **35**, p. 2188-2203.

## Stott A.W., Evershed R.P., Jim S., Jones V., Rogers J.M., Tuross N. and Ambrose S. (1999)

Cholesterol as a New Source of Palaeodietary Information: Experimental Approaches and Archaeological Applications. *Journal of Archaeological Science*, **26**, p. 705-716.

#### **Takatori T.** (1996)

Investigations on the mechanism of adipocere formation and its relation to other biochemical reactions. *Forensic Science International*, **80**, p. 49-61.

#### **Takatori T.** (2001)

The mechanism of human adipocere formation. Legal Medicine, 3, p. 193-204.

#### Tava A., Cunico C., Cremona R. and Piccini E. (1996)

Isomeric composition of the ester fraction from epicuticular waxes of Festuca arundinacea Schreb. *Journal of high resolution chromatography*, **19**, p. 43-48.

#### **Tchapla A.** (1998)

La couleur dans la peinture et l'émaillage de l'Egypte Ancienne - Caractérisation par chromatographie gazeuse capillaire. Spectrométrie de masse de substances organiques susceptibles d'être présentes dans les liants. Edipuglia (Eds.), Bari, p. 63-76.

#### Tchapla A., Bleton J., Goursaud S. and Mejanelle P. (1999)

Encyclopédie religieuse de l'Univers végétal. Croyances phytoreligieuses de l'Egypte ancienne - Contribution à la connaissance des substances organiques utilisées en Egypte ancienne : l'apport de techniques physico-chimiques d'analyse. Université Paul Valéry-Montpellier III, Montpellier, p. 445-487.

#### Tchapla A., Méjanelle P., Bleton J. and Goursaud S. (2004)

Characterisation of embalming materials of a mummy of the Ptolemaic era. Comparison with balms from mummies of different eras. *Journal of separation science*, **27**, p. 217-234.

#### Thompson A.H., Richards M.P., Shortland A. and Zakrzewski S.R. (2005)

Isotopic palaeodiet studies of Ancient Egyptian fauna and humans. *Journal of Archaeological Science*, **32**, p. 451-463.

## Tieszen L.L., Boutton T.W., Tesdahl K.G. and Slade N.A. (1983)

Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for  $\delta^{13}$ C analysis of diet. *Oecologia*, **57**, p. 32-37.

## **Tulloch A.P.** (1969)

The Composition of Beeswax and Other Waxes Secreted by Insects. Lipids, 5, p. 247-258.

## Van Bergen P.F., Peakman T.M., Leigh-Firbank E.C. and Evershed R.P. (1997)

Chemical Evidence for Archaeological Frankincense: Boswellic Acids and their Derivatives in Solvent Soluble and Insoluble Fractions of Resin-Like Materials. *Tetrahedron Letters*, **38**, p. 8409-8412.

## Van Der Ven B., Haverkamp Begemann P. and Schogt J.C.M. (1963)

Precursors of methyl ketones in butter. Journal of Lipid Research, 4, p. 91-95.

## Velasco J., Marmesat S., Marquez-Ruiz G. and Doberganes M.C. (2004)

Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **106**, p. 728-735.

## Watanabe K. and Sato Y. (1968)

Studies on the Changes of Meat Fats by Various Processings. Part II. Gas Chromatographic Identification of Aliphatic  $\gamma$ -and  $\delta$ -Lactones Obtained from Beef Fats. *Agricultural and Biological Chemistry*, **32**, p. 191-196.

## Yilmaz M.T. and Karakaya M. (2009)

Differential Scanning Calorimetry Analysis of Goat Fats: Comparison of Chemical Composition and Thermal Properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **83**, p. 877-883.

## Zhang L., Yun Y., Liang Y. and Cao D. (2010)

Discovery of mass spectral characteristics and automatic identification of wax esters from gas chromatography mass spectrometry data. *Journal of Chromatography A*, **1217**, p. 3695-3701.

## ANNEXE I : IDENTIFICATION DES ACIDES 9,10-

## DIHYDROXYOCTADECANOIQUES

L'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque est un biomarqueur de dégradation de l'acide oléique. Il est détecté dans les échantillons archéologiques sous deux formes thréo et erythro et le mécanisme de formation de ces acides est décrit dans le chapitre 1 (Figure 1.18, Figure A.1). La présence de ces composés et des diacides en quantité importante est indicatrice d'huile végétale siccative et semi-siccative très dégradée. Comme les diacides étaient détectés dans les fractions F3 de nos échantillons archéologiques, nous avons alors cherché (dans cette même fraction) les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques. Malheureusement, nous ne disposions pas du spectre de masse de ces composés, qui suite aux réactions de dérivation sont sous forme acétylée et méthylée (cf. Partie expérimentale). Cependant, dans les publications dédiées à l'archéologie moléculaire, ce sont les spectres de masse des dihydroxyacides sous forme triméthylsilylée qui sont décrits (Colombini et al., 2005b; Copley et al., 2005d). En utilisant ce mode de dérivation pour les fractions F3 des échantillons archéologiques de Deir el-Médineh, nous avons mis en évidence la présence de ces acides. Dans ces fractions acétylées et méthylées, les deux composés présents à 40 minutes sur le chromatogramme en phase gazeuse et présentant un spectre de masse identique semblent correspondre aux deux isomères de ce dihydroxyacide (formes *thréo* et *erythro*, dans cet ordre d'élution, Figure A.2) (Copley et al., 2005d). L'absence d'ion moléculaire sur les spectres de masse nous a conduit à utiliser la GC-MS en mode ionisation chimique (ici à l'ammoniac), révélant une masse de 414 u.m.a pour ces deux composés, ce qui est tout à fait cohérent avec l'acide 9,10dihydroxyoctadécanoïque acétylé et méthylé. La molécule de référence a donc été achetée, permettant de confirmer l'identification. Le spectre de masse très atypique nous a amené à utiliser d'autres outils analytiques tels que la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), et la haute résolution dans le but de comprendre le mode de fragmentation.



Figure A.1 : Formes thréo et erythro de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque.



Figure A.2 : Chromatogramme en phase gazeuse de la fraction F3 acétylée et méthylée ; diCxx : diacides, FACxx : *n*-acides.

#### 1) Les réactions de dérivation : acétylation, méthylation & silylation

Dans notre protocole, les réactions de dérivation consistent en une réaction d'acétylation des fonctions alcools et une réaction de méthylation des fonctions acides. Ces réactions ne sont pas beaucoup décrites dans la littérature, contrairement à la triméthylsilylation. Nous avons donc décidé de réaliser ces deux méthodes de dérivation en parallèle (Figure A.3, *cf.* Partie expérimentale). La comparaison des spectres de masse des composés triméthylsilylés de la fraction F3 avec ceux décrits dans la littérature, nous a permis de constater que les acides 9,10-dihydroxyoctadécanoïques étaient bien présents dans nos échantillons.



Figure A.3 : Structures et caractéristiques de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque et de ses dérivés.

Les spectres de masse obtenus en mode impact électronique (70 eV) pour ces différents composés sont décrits dans la Figure A.4.



Figure A.4 : Spectres de masse obtenus en impact électronique (70eV) sur l'acide 9,10-dihydroxyoctadecanoïque, sous forme acétylée & méthylée et sous forme triméthylsilylée.

#### 2) Détermination de la masse moléculaire par ionisation chimique

En comparant le profil de nos fractions F3 avec ceux décrits dans la littérature, les deux composés présents à 40 minutes semblaient correspondre aux formes *thréo* et *erythro* de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque. L'ion moléculaire n'étant pas visible sur le spectre de masse obtenu en impact électronique (70 eV), nous avons alors utilisé l'ionisation chimique à l'ammoniac. Ce mode d'ionisation plus « doux » consiste à ioniser les molécules de l'échantillon par interaction dans la source avec des ions issus d'un gaz réactant (ici l'ammoniac). Il va donc être possible de déterminer l'ion pseudomoléculaire quand celui-ci n'est pas visible en impact éléctronique. Avec l'ammoniac comme gaz réactant, les fragments formés correspondent au [M+H]<sup>+</sup> et au [M+18]<sup>+</sup> (c'est à dire [M+NH<sub>3</sub>+H]<sup>+</sup>). Les deux composés sortant à 40 minutes ont bien une masse moléculaire de 414 u.m.a, la même que celle de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque acétylé et méthylé (Figure A.5). Les deux pertes de 60 u.m.a, correspondent à celles des deux acétates protégeant les deux fonctions alcools. Cependant, à ce stade, la fragmentation atypique de ces deux composés ne nous permettait pas d'être absolument sûrs de l'identification.



Figure A.5 : Spectre de masse obtenu en ionisation chimique avec l'ammoniac sur les composés présents à 40 minutes.

#### 3) Produit de référence et co-injections

L'acide 9,10-dihydroxyoctadecanoïque (numéro CAS 120-87-6) a été acheté chez MP Biomedicals, sans précision sur la forme de l'isomère. Le spectre de masse de la molécule de référence (après les réactions d'acétylation et méthylation) et ceux des composés présents à 40 minutes dans les chromatogrammes en phase gazeuse des fractions F3 sont absolument identiques. L'analogie des spectres de masse confirme la piste de l'acide 9,10dihydroxyoctadecanoique (Figure A.4). Des co-injections du produit de référence et d'une fraction F3 ont permis d'identifier de façon certaine les composés à 40 minutes comme étant les deux isomères de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque, et tout particulièrement le second isomère qui co-élue avec la molécule de référence (*cf.* Partie expérimentale). Dans le but de mieux comprendre la fragmentation, d'autres outils analytiques ont été mis en œuvre.

#### 4) MS/MS

La spectrométrie de masse en tandem ou MS/MS consiste à sélectionner un ion, le fragmenter puis à détecter les fragments ainsi générés. Cette méthode permet grâce à la sélection des ions et l'étude de leur fragmentation d'établir les relations de filiation entre ces différents ions. Dans le cas du mode « parent », l'ion à étudier est sélectionné dans le premier quadripôle puis fragmenté. Le spectre obtenu présente à la fois l'ion parent et ses ions « fils » ou produits. Pour le mode « fils », tous les ions générés capables de donner le fragment sélectionné sont détectés. Les fragments « parents » et « fils » des différents fragments caractéristiques du spectre de masse de l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque (acétylé et méthylé) ont été déterminés. Il a ainsi été constaté que les trois fragments principaux proviennent du même fragment initial à m/z 229. En effet, l'ion parent du fragment m/z 187 et 155.

#### 5) Analyse en haute résolution

La fragmentation particulière de ce composé sous la forme acétylée et méthylée a nécessité la réalisation d'analyse en GC-MS, équipée d'un analyseur TOF, en haute résolution. Cette technique permet de mesurer la masse des fragments et de l'ion moléculaire

avec précision et de proposer des formules brutes. Des hypothèses ont ainsi pu être proposées pour expliquer cette fragmentation, et surtout la nature des trois fragments principaux (Figure A.6).

Masse	Formule brute possible	Nombre d'insaturation
155.10686	$C_9H_{15}O_2$	2.5
187.13555	$C_{10}H_{19}O_3$	1.5
229.14450	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub>	2.5

Figure A.6 : Résultats obtenus en GC-MS haute résolution pour les deux composés sous forme acétylée et méthylée sortant à 40 minutes dans les fractions F3 et étant identifiés comme les acides 9,10dihydroxyoctadécanoïques.

#### 6) Proposition d'un mode de fragmentation

Sur la base des informations obtenues en MS/MS et en GC-MS haute résolution, nous proposons la fragmentation décrite dans la Figure A.8. Le fragment à m/z 229 proviendrait de la rupture homolytique de la liaison C-C entre les deux fonctions alcools protégées sous la forme d'acétate. L'autre fragment résultant de cette coupure à m/z 185 n'est pas visible. La présence de la fonction ester méthylique sur le fragment à m/z 229 peut subir le réarrangement de Mac Lafferty (Figure A.7), se traduisant par une perte d'une masse de 74 u.m.a et entraînant la formation du fragment à m/z 155. La présence de l'autre fragment majoritaire à m/z 187 est plus difficile à expliquer. On constate une différence de 42 entre les fragments à m/z 229 et 187. Elle pourrait évoquer la perte d'une molécule de cétène (CH<sub>2</sub>=C=O) provenant d'un mécanisme à 4 centres, bien connu dans le cas particulier des acétates (Duguay, 2007).



Figure A.7 : Réarrangement de Mac Lafferty d'un ester méthylique (Budzikiewicz et al., 1967).

#### 7) Conclusion

L'achat de la molécule de référence a permis d'identifier avec certitude un biomarqueur de dégradation de l'acide oléique : l'acide 9,10-dihydroxyoctadécanoïque sous la forme des isomères *thréo* et *erythro*. Il nous paraissait important de détailler la fragmentation de ce composé pour des études futures puisqu'elle n'a jamais été décrite pour ce dihydroxyacide acétylé et méthylé. La présence de ce composé dans nos échantillons a joué un rôle décisif dans l'interprétation de nos résultats.



Figure A.8 : Mode de fragmentation proposé pour les acides 9,10-dihydroxyoctadénoïques sous forme acétylée et méthylée.

## LEXIQUE

*Bouteille cananéenne* : flacon effilé du pays de Canaan (occupé par les Cananéens, il désigne l'ensemble de la Syrie-Palestine, ou simplement la bande littorale sur la Méditerranée).

*Baume* : substance résineuse odorante sécrétée par certaines plantes et employée autrefois en pharmacie.

*Chaouabtis* : statuettes funéraires en terre cuite, en pierre, en bronze ou en bois qui forment une partie importante du mobilier funéraire. Ces statuettes désignent les serviteurs funéraires qui devaient répondre à l'appel d'Osiris et remplacer le mort dans les travaux des champs de l'au-delà.

*Désodorisation* : élimine l'odeur désagréable de l'huile ainsi que les substances indésirables (distillation sous vide à température élevée de 180 à 200°C).

*Fard* : composition cosmétique de maquillage destinée à masquer certains défauts de la peau, à rehausser l'éclat du teint ou à en modifier la couleur.

*Gomme-résine (ou gommo-oléorésines)* : exsudat principalement constitué de composés résineux (acides terpéniques) et de gomme (polysaccharides).

*Oléorésine* : matériau sécrété par l'arbre comme moyen de défense contre les agresseurs externes tels que les insectes léthaux. Cet exsudat est principalement constitué de composés résineux (acides diterpéniques pour les conifères et triterpènes pour les feuillus).

*Onguent* : forme pharmaceutique contenant surtout des résines et des corps gras, qui étaient destinée à l'application cutanée.

*Palmiste* : Amande de la graine de palmier, fournissant l'huile de palmiste et un tourteau très nutritif.

*Pommade* : composition molle et onctueuse, faite avec des substances médicamenteuses ou des parfums mêlés à des corps gras.

*Première pression* : consiste à écraser et à presser mécaniquement le grain, l'huile peut subir une dernière étape de désodorisation.

*Première pression à froid* : indique que la graine a été écrasée et pressée mécaniquement et à basse température pour ne subir par la suite aucun autre traitement.

*Vases canopes* : vases contenant les viscères retirés du corps au moment de l'embaumement. Au nombre de quatre, ils étaient clos par les têtes des quatre fils d'Horus (Amsit, Douamoutef, Hapy et Qébehsénouf).

## Etude chimique des substances contenues dans une collection exceptionnelle de poteries provenant de Deir el-Médineh (Egypte) : une population et ses produits

Ces travaux concernent la caractérisation moléculaire et isotopique de vingt trois échantillons organiques archéologiques, qui n'ont jamais été analysés. Ils proviennent d'une nécropole égyptienne située à proximité du village de Deir el-Médineh, datée de la XVIII<sup>ème</sup> dynastie et plus précisément du règne de Thoutmosis III (soit 1500 av. J.-C). Les nombreuses spécificités de cette nécropole et tout particulièrement le nombre exceptionnel de poteries dont la plupart étaient toujours pleines, ont maintenu le mystère autour de la nature et de la fonction des gens qui l'occupaient.

L'étude moléculaire et isotopique de ces échantillons, menée au moyen de techniques chromatographiques et de spectrométrie de masse, nous a permis d'établir la présence de corps gras très dégradés. Des huiles végétales siccatives ou semi-siccatives et des graisses animales, seules ou en mélange avec une substance végétale dont seules les cires cuticulaires ont survécu aux phénomènes d'altération, ont pu être identifiées. En plus de cette famille à base de corps gras, trois échantillons caractérisés par la présence de sucres ont été détectés. L'hypothèse d'offrande alimentaire semble être la plus probable pour ces cas particuliers.

Dans le cas des échantillons caractérisés par la présence de corps gras, la piste des onguents, probablement parfumés, utilisés comme remède ou cosmétique a été proposée. Ils auraient pu être fabriqués selon des pratiques anciennes d'enfleurage et de macération Le principe de ces techniques est d'extraire par l'intermédiaire du corps gras, les substances parfumées issues de fleurs, de feuilles, de résines, etc.

*Mots-clés* : résidu organique archéologique, huile végétale, graisse animale, cire cuticulaire, onguent, enfleurage, GC-MS, LC-APCI-MS, GC-C-IRMS.

## Molecular and isotopic characterization of organic residues in an exceptional collection of potteries from Deir el-Medina (Egypt): a population and its products

In the present study, the molecular and isotopic composition of twenty three never analyzed archaeological organic samples, were investigated by chromatographic and mass spectrometric techniques. Samples came from an Egyptian necropolis, near the village of Deir el-Medina, dating from the XVIII<sup>th</sup> dynasty and more precisely from the reign of Thoutmosis III (approximately 1500 B.C.). The many features of the necropolis, in particular the amazing number of closed and still full containers keep the mystery about the origin and function of the population.

The molecular and isotopic study of these samples, allowed us to establish the presence of highly degraded fatty substances. We identified drying or semi-drying plant oils and animal fats, pure or in association with a completely degraded vegetal substance, characterized by the only presence of residual cuticular waxes. In addition to this family composed of fatty substances, three other samples with presence of carbohydrates were detected. These particular potteries were probably used as symbolic food offerings.

The potteries probably contain unguents, maybe perfumed, used as remedies or cosmetics. For their preparation, ancient practices of maceration and enfleurage, in which fatty material such as animal fat or plant oil were used to extract aromatic and fragrant substances from flowers, leaves, resins, etc.

Keywords: archaeological organic residue, plant oil, animal fat, cuticular wax, enfleurage, unguent, GC-MS, LC-APCI-MS, GC-C-IRMS.