

Sommaire

Liste des figures	5
Liste des tableaux	8
Liste des abréviations	9
Introduction et problématique	11
Chapitre 1. Généralités sur l'Egypte antique et les divers matériaux utilisés dans la formulation de baumes	19
1. L'Egypte ancienne et les pratiques de momification	21
1.1. Les croyances et les rituels	21
1.2. Les pratiques de momification à travers la chronologie	21
2. Etat de l'art : analyse des baumes	23
3. Matériaux principalement utilisés dans la formulation de baumes	24
3.1. Les huiles végétales et les graisses animales : composition chimique et dégradation	25
3.1.1. Les triglycérides et les acides gras	25
3.1.2. Dégradation des acides gras libres	27
3.1.2.1. Autoxydation des acides gras insaturés	29
3.1.2.2. La β oxydation	29
3.1.2.3. Formation des dihydroxyacides	29
3.1.3. Autres marqueurs : les stérols	29
3.2. La cire d'abeille	30
3.3. Les résines	32
3.3.1. Résines diterpéniques	33
3.3.1.1. Chimie des diterpènes	33
3.3.1.2. Dégradation des abiétanes	34
3.3.2. Résines triterpéniques	38
3.3.2.1. Chimie des triterpènes	38
3.4. Le bitume	40
3.5. Les gommes et polysaccharides	42
3.6. Autres	43
3.7. Résumé	44

1. Echantillonnage	67
2. Observation macroscopique et microscopique des échantillons	67
3. Traitement des échantillons	68
3.1. Réactifs et solvants	68
3.3. Protocoles expérimentaux	69
3.3.1. Formation de dérivés triméthylsilylés	69
3.3.2. Ultrasons	70
3.3.3. Extraction au dichlorométhane	70
3.3.4. Extraction en Phase Solide (SPE)	70
3.3.5. Saponification	71
3.3.6. Extraction spécifique des résines diterpéniques	71
4. Techniques analytiques	72
4.1. Infrarouge à transformée de Fourier	72
4.1.1. Principe de l'infrarouge	72
4.1.2. Appareillages	73
4.1.3. Acquisition des données	74
4.1.3.1. Mode transmission avec pastilles de KBr	74
4.1.3.2. Mode transmission avec micro-compression diamant et mapping	74
4.1.3.3. Réflectance totale atténuée (ATR)	75
4.2. Extraction en phase solide (Solid Phase Extraction, angl., SPE)	75
4.3. Chromatographie en Phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse	76
4.3.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse	76
4.3.2. Principe de la spectrométrie de masse	77
4.3.3. Appareillage	79
4.3.4. Gradient de température	79
4.3.4.1. Pour le protocole d'extraction globale et saponification	79
4.3.4.2. Pour le protocole d'extraction spécifique par SPE	80

1. Observation macroscopique des échantillons archéologiques	86
2. Traitement des échantillons amorphes par IR-TF	86
2.1. Choix du module et du détecteur adéquat	86
2.2. Etude des substances naturelles contemporaines par IR-TF	87
2.2.1. Caractérisation des corps gras	88

2.2.2. Caractérisation de la cire d'abeille	88
2.2.3. Caractérisation des résines	89
2.2.4. Caractérisation du bitume	90
2.2.5. Caractérisation de la gomme arabique	91
2.2.6. Récapitulatif des bandes de chaque substance	92
2.3. Application aux échantillons archéologiques	93
2.3.1. Classification Ascendante Hiérarchique	93
2.3.2. Clusters et spectres infrarouge	97
2.3.2.1. Analyse du cluster 1	97
2.3.2.2. Analyse du cluster 2	99
2.3.2.3. Analyse du cluster 3	100
2.3.2.4. Analyse du cluster 4	103
2.3.2.5. Analyse du cluster 5	105
2.3.3. Analyse en Composantes Principales (ACP)	109
3. Traitement des échantillons d'aspect sableux	115
3.1. Observation par microscopie optique à lumière polarisée	115
3.2. Analyse par IR-TF par micro-compression diamant	117
4. Conclusion de l'étude spectroscopique	119

Chapitre 5. Etude par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse **125**

1. Etude des substances naturelles contemporaines	128
1.1. Caractérisation des corps gras	128
1.2. Caractérisation de la cire d'abeille	129
1.3. Caractérisation des résines	131
1.3.1. Résine diterpénique	131
1.3.2. Résine triterpénique	132
1.4. Caractérisation du bitume	133
2. Application aux échantillons archéologiques : approche conventionnelle	135
2.1. Résultats : Composés identifiés par CPG-SM	135
2.1.1. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 1	135
2.1.2. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 2	137
2.1.3. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 3	139
2.1.4. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 4	141
2.1.5. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 5	143
2.2. Discussion : apport de la chromatographie gazeuse	147
2.2.1. Corps gras	147
2.2.2. Cire d'abeille	150
2.2.3. Résines et dégradation des diterpènes : utilisation de traitements statistiques de données	150
2.2.4. Bitume	155
2.2.5. HAP	155
2.3. Conclusion de l'approche conventionnelle	156

3. Développement analytique d'un protocole d'extraction en phase solide	156
3.1. Mise au point du protocole par Extraction en Phase Solide (SPE)	157
3.1.1. Choix de la cartouche	157
3.1.2. Choix du solvant d'extraction	159
3.1.3. Choix des solvants d'élution	160
3.1.4. Théorie de l'élution des différents composés	161
3.2. Application du protocole de SPE sur les échantillons archéologiques	162
3.2.1. Fraction 1	163
3.2.2. Fraction 2	164
3.3. Comparaison de l'extraction conventionnelle à la SPE	165
3.4. Conclusion de l'extraction par SPE	166
4. Conclusion de l'étude chromatographique	167

Conclusion générale et perspectives **177**

Bibliographie **187**

Annexes **199**

Liste des figures

<i>Figure 1: Momie 90001265, Musée des Confluences, Lyon. HELLYCOM® « mourir pour renaitre » Annie Perraud.</i>	21
<i>Figure 2: Frise chronologique de l'Egypte ancienne.</i>	22
<i>Figure 3: Substances utilisées pour la préparation de baumes.</i>	24
<i>Figure 4: Triglycéride.</i>	26
<i>Figure 5: Acide gras.</i>	26
<i>Figure 6: Acide palmitique, C 16:0.</i>	27
<i>Figure 7: Acide oléique, C 18:1.</i>	27
<i>Figure 8: Voies de dégradation possibles des acides gras insaturés.</i>	28
<i>Figure 9: Acide dicarboxylique en C9, acide azélaïque, DC 9.</i>	29
<i>Figure 10: Campestérol.</i>	30
<i>Figure 11: Sitostérol.</i>	30
<i>Figure 12: Cholestérol.</i>	30
<i>Figure 13: Acide gras à 30 atomes de carbones, C 30:0.</i>	31
<i>Figure 14: Résine colophane, Kolophonum hellst, Kremer Pigmente.</i>	33
<i>Figure 15: Abiétane.</i>	33
<i>Figure 16: Pimarane</i>	33
<i>Figure 17: Labdane.</i>	33
<i>Figure 18: Acide sandaracopimarique.</i>	34
<i>Figure 19: Acide communique.</i>	34
<i>Figure 20: Acide agathique.</i>	34
<i>Figure 21: Ferruginol.</i>	34
<i>Figure 22: Acide déhydroabiétique.</i>	34
<i>Figure 23: Acide 7-oxo-déhydroabiétique.</i>	34
<i>Figure 24: Schéma de dégradation des abiétanes. A1=DHA, A2=15-hydroxy-DHA, A3=7-hydroxy-DHA, A4=7-oxo-DHA, A5=3-hydroxy-DHA, A6=7.15-dihydroxy-DHA, A7=15-hydroxy-7-oxo-DHA, A8=18 et 19-norabiétantriène, A9=tétrahydrorétène, A10=rétène, A11=déhydroadéhydroabiétique, A13=déhydroabiétane, A14=simonellite, A15=déhydroabiétate de méthyle.</i>	36
<i>Figure 25: Résine triterpénique, mastic de Chios.</i>	38
<i>Figure 26: Oléanane.</i>	38
<i>Figure 27: Ursane.</i>	38
<i>Figure 28: Lupane.</i>	38
<i>Figure 29: Euphane.</i>	38
<i>Figure 30: Dammarane.</i>	38
<i>Figure 31: Hopane.</i>	38
<i>Figure 32: α-amyrine.</i>	39
<i>Figure 33: β-amyrine.</i>	39
<i>Figure 34: α-boswellique.</i>	39
<i>Figure 35: β-boswellique.</i>	39
<i>Figure 36: Furanoeudesma-1.3-diène.</i>	39
<i>Figure 37: Acide moronique.</i>	40
<i>Figure 38: Acide masticadiénique.</i>	40
<i>Figure 39: Acide isomasticadiénique.</i>	40
<i>Figure 40: Coulée de bitume dans la région de la mer Morte (geology-israel.co.il).</i>	41
<i>Figure 41: Epanchement de bitume dans la région de la mer Morte (geology-israel.co.il).</i>	41
<i>Figure 42: n-alcane en C13.</i>	41
<i>Figure 43: Pristane en C19.</i>	41
<i>Figure 44: Stérane régulier en C27.</i>	41
<i>Figure 45: Diastérane en C27.</i>	41
<i>Figure 46: 17α(H), 21β(H) - hopane (C29).</i>	42

<i>Figure 47: 2α - méthyl - hopane (C30).</i>	42
<i>Figure 48: Gomme arabique.</i>	42
<i>Figure 49: Arabinose.</i>	43
<i>Figure 50: Galactose.</i>	43
<i>Figure 51: Rhamnose.</i>	43
<i>Figure 52: Acide glucuronique.</i>	43
<i>Figure 53: Cannelle de Ceylan.</i>	43
<i>Figure 54: Momie 90001599. Ocre rouge, HELLYCOM® « mourir pour renaitre » Annie Perraud.</i>	44
<i>Figure 55: Schéma récapitulatif des matériaux et molécules pouvant être présents dans des baumes de momification.</i>	45
<i>Figure 56: Localisation des sites de localisation des sites des momies en Haute et Basse Egypte.</i>	50
<i>Figure 57: Répartition des hommes et des femmes en fonction de la provenance géographique.</i>	50
<i>Figure 58: Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'âge.</i>	51
<i>Figure 59: Répartition des hommes et des femmes en fonction de la période historique.</i>	52
<i>Figure 60: Méthodologie de traitement des échantillons.</i>	67
<i>Figure 61: Schéma réactionnel du BSTFA/TMCS sur l'acide 7-oxo-déhydroabiétique.</i>	69
<i>Figure 62: Schéma du prototype PEX3 (Mazzitelli, 2017).</i>	70
<i>Figure 63: Les 3 domaines spectraux du rayonnement infrarouge.</i>	72
<i>Figure 64: Schéma général des différentes étapes de la SPE (M. A. Sandoval Riofrio, 2016).</i>	75
<i>Figure 65: Schéma d'un appareil à chromatographie gazeuse (Azemard, 2015).</i>	76
<i>Figure 66: Schématisation du spectromètre de masse utilisé.</i>	78
<i>Figure 67: Gradient de température du four pour l'extraction globale.</i>	79
<i>Figure 68: Gradient de température du four pour la SPE fraction 1 et 2.</i>	80
<i>Figure 69: Gradient de température du four pour la SPE fraction 3.</i>	80
<i>Figure 70: Observation à la loupe binoculaire X10 de l'échantillon de momie n°2.</i>	86
<i>Figure 71: Observation à la loupe binoculaire X3 de l'échantillon de momie n°30.</i>	86
<i>Figure 72: Spectre infrarouge d'une huile végétale : huile de lin.</i>	88
<i>Figure 73: Spectre infrarouge de la cire d'abeille.</i>	89
<i>Figure 74: Spectres infrarouge d'une résine diterpénique (de pin) et d'une résine triterpénique (Mastic).</i>	90
<i>Figure 75: Spectre infrarouge d'un bitume.</i>	91
<i>Figure 76: Spectre infrarouge de la gomme arabique.</i>	91
<i>Figure 77: Représentation sous forme de dendrogramme des données IR-TF des 61 échantillons de baumes.</i>	96
<i>Figure 78: Dendrogramme du cluster 1 obtenu par CAH.</i>	97
<i>Figure 79: Spectre infrarouge moyenné du cluster 1.</i>	98
<i>Figure 80: Dendrogramme du cluster 2 obtenu par CAH.</i>	99
<i>Figure 81: Spectre infrarouge moyenné du cluster 2.</i>	99
<i>Figure 82: Dendrogramme du cluster 3 obtenu par CAH.</i>	101
<i>Figure 83: Spectre infrarouge moyenné du cluster 3.</i>	101
<i>Figure 84: Superposition des spectres infrarouge de l'échantillon n°48 avant FSD (A) et après FSD (B) et d'une ocre rouge de référence de chez Okhra (C).</i>	102
<i>Figure 85: Dendrogramme du cluster 4 obtenu par CAH</i>	103
<i>Figure 86: Spectre infrarouge moyenné du cluster 4.</i>	104
<i>Figure 87: Comparaison des spectres infrarouge de l'échantillon 37 et de bitume contemporain de chez Artech.</i>	104
<i>Figure 88: Dendrogramme du cluster 5 obtenu par CAH.</i>	105
<i>Figure 89: Spectre infrarouge moyenné du cluster 5.</i>	106
<i>Figure 90: Superposition des spectres moyennés des clusters 3, 4 et 5 de 2000 à 800 cm⁻¹.</i>	108
<i>Figure 91: Loading de la composante 1 de l'ACP.</i>	111
<i>Figure 92: ACP: composantes 1 et 2. Logiciel Unscrambler.</i>	111
<i>Figure 93: Loading de la composante 2.</i>	112
<i>Figure 94: Loading de la composante 3.</i>	113
<i>Figure 95: ACP: composantes 1 et 3. Logiciel Unscrambler.</i>	113
<i>Figure 96: ACP avec PC1 et PC3 en fonction des clusters de la CAH. Logiciel Unscrambler.</i>	114

Figure 97: Observation au microscope optique X40 de l'échantillon 30 (momie 30000306) : (A) sans lumière polarisée, (B) avec lumière polarisée et un angle de 90°, (C) avec lumière polarisée et un angle de 45°.	116
Figure 98: Mosaïque observée au microscope infrarouge représentant les 4 particules isolées suite à l'étude macroscopique : (A) particule blanche, (B) particule orange, (C) particule marron, (D) particule noire.	117
Figure 99: Spectres infrarouge de la particule A et de la particule B.	118
Figure 100: Méthodologie générale de traitement des échantillons.	122
Figure 101: Chromatogramme d'une huile d'olive Puget.	128
Figure 102: Chromatogramme de la cire d'abeille.	130
Figure 103: Chromatogramme d'une résine de pin.	131
Figure 104: Chromatogramme de la résine mastic.	132
Figure 105: Chromatogramme de bitume provenant de la mer Morte.	133
Figure 106: Schéma de fragmentation des hopanes.	134
Figure 107: Schéma de fragmentation des stéranes.	134
Figure 108: Temps de rétention des différentes substances naturelles présentes au sein de baumes.	135
Figure 109 Chromatogramme TIC de la momie 52.	136
Figure 110: Chromatogramme TIC de l'échantillon 20, zone des acides gras entre 12 et 24 minutes.	148
Figure 111: Chromatogramme TIC de la momie 2, zone des acides gras entre 10 et 25 minutes.	149
Figure 112: Chromatogramme TIC de la momie 53, zone des diterpènes entre 24 et 39 minutes.	151
Figure 113: Diagramme biplot des variables et des composantes principales PC1 et PC2.	153
Figure 114: Diagramme biplot des variables et des composantes principales PC1 et PC3.	154
Figure 115: Schématisation d'un arbre de décision pour le choix du greffage des cartouches SPE (Phenomenex).	158
Figure 116: Greffage de la cartouche Strata NH ₂ (Phenomenex).	158
Figure 117: Chromatogrammes TIC de la momie 30 après extraction à l'hexane/THF en différentes proportions.	160
Figure 118: Schématisation du protocole final de SPE mis au point avec les substances majoritairement détectées dans chaque fraction d'élution.	162
Figure 119: Chromatogramme TIC de l'échantillon 34, fraction 1 de la SPE entre 29 et 41 minutes.	163
Figure 120: Chromatogramme de l'échantillon 15 et spectre de masse du déhydroabiétate de méthyle.	164
Figure 121: ACP en fonction du sexe (A), de l'âge (B), de la localisation géographique (C) et de la période historique (D). Logiciel XLStat.	183

Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Liste des acides gras les plus répandus.</i>	26
<i>Tableau 2: Nom usuel et nomenclature des acides gras libres caractéristiques de la cire d'abeille.</i>	31
<i>Tableau 3: Exemples de résines couramment employées en Egypte antique.</i>	32
<i>Tableau 4: Nombre d'individus en fonction de la période.</i>	49
<i>Tableau 5: Informations sur l'ensemble des 61 prélèvements. ©HELYCOM « mourir pour renaitre » Annie Perraud.</i>	53
<i>Tableau 6: liste des réactifs et solvants utilisés.</i>	68
<i>Tableau 7: Substances naturelles de références employées.</i>	69
<i>Tableau 8: Comparaison des capacités des différents détecteurs et modules.</i>	87
<i>Tableau 9: Récapitulatifs des positions des bandes des substances naturelles présentes au sein de baumes.</i>	92
<i>Tableau 10: Variances intra-classe et inter-classes observées sur les différentes CAH.</i>	95
<i>Tableau 11: Composition des échantillons du cluster 1, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.</i>	98
<i>Tableau 12: Composition des échantillons du cluster 2, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.</i>	100
<i>Tableau 13: Composition des échantillons du cluster 3, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.</i>	103
<i>Tableau 14: Composition des échantillons du cluster 4, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.</i>	105
<i>Tableau 15: Composition des échantillons du cluster 5, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.</i>	107
<i>Tableau 16: Référence des 4 échantillons ainsi que les zones de prélèvement.</i>	116
<i>Tableau 17: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans les huiles et graisses végétales.</i>	129
<i>Tableau 18: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans la cire d'abeille. Pics de base sont notés en bleu.</i>	130
<i>Tableau 19: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans une résine de pin.</i>	132
<i>Tableau 20: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans une résine mastic.</i>	133
<i>Tableau 21: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans un bitume archéologique.</i>	134
<i>Tableau 22: Temps de rétention et fragmentation des HAP identifiés par CPG-SM.</i>	136
<i>Tableau 23: Autres substances présentes dans les échantillons du cluster 1.</i>	137
<i>Tableau 24: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 2.</i>	138
<i>Tableau 25: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 3.</i>	140
<i>Tableau 26: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 4.</i>	142
<i>Tableau 27: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 5.</i>	144
<i>Tableau 28: Temps de rétention et fragmentation des acides gras impairs.</i>	148
<i>Tableau 29: Temps de rétention et fragmentation des acides gras dicarboxyliques.</i>	149
<i>Tableau 30: Temps de rétention et fragmentation de l'acide ricinoléique.</i>	149
<i>Tableau 31: Temps de rétention et fragmentation des acides gras de la cire d'abeille.</i>	150
<i>Tableau 32: Pourcentage relatif des molécules diterpéniques identifiées par CPG-SM.</i>	152
<i>Tableau 33: Rapport des aires Phe/Ant et Fluo/Pyr des échantillons 44, 52, 45 et 46.</i>	155
<i>Tableau 34: Comparaison des caractéristiques de l'isopropanol et de l'éthanol.</i>	161
<i>Tableau 35: Comparaison de la méthode conventionnelle à la SPE.</i>	166
<i>Tableau 36: Récapitulatif des substances naturelles identifiées par extraction conventionnelle et SPE. NI : Non identifié ; tr : traces ; + présence ; - : absence.</i>	168
<i>Tableau 37: Composition des baumes des 61 prélèvements.</i>	180

Liste des abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

AcOEt : acétate d'éthyle

ATR : Attenuated Total Reflectance

BSTFA/TMCS : N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide / triméthylchlorosilane

CAH : Classification Ascendante Hiérarchique

CHCl₃ : chloroforme

CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse

DCM : dichlorométhane

DEE : diéthyléther

DHA : acide déhydroabiétique

DHAM : acide déhydroabiétique méthylé

DC : acides dicarboxylique

EtOH : éthanol

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

HCl: acide chlorhydrique

i-PrOH : isopropanol

IR-TF : Infrarouge à Transformée de Fourier

KBr : bromure de potassium

KOH : hydroxyde de potassium

C : acides monocarboxylique

MeOH : méthanol

PC : Principal Component

PTFE : polytétrafluoroéthylène

SPE: Solid Phase Extraction

SNV : Standard Normal Variate

THF : tetrahydrofurane

TIC: Total Ion Chromatogram

TMS: Triméthylsilylation

Introduction et problématique

L'équipe Ingénierie de la Restauration des Patrimoines Naturel et Culturel (IRPNC) de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE), développe ses thématiques de recherche en archéométrie moléculaire en portant un intérêt particulier à l'étude de matériaux du patrimoine artistique et archéologique. Ces divers travaux contribuent à l'amélioration des connaissances chimiques des substances naturelles d'origine végétale ou minérale à l'aide notamment de techniques spectroscopiques et chromatographiques. Ces différents outils analytiques permettent la caractérisation ainsi que l'identification de divers marqueurs chimiques au sein de nombreux objets patrimoniaux tels que les textiles teints, les peintures murales ou de chevalet, les contenus d'amphores, les objets ethniques mais également les baumes de momies animales ou humaines qui font l'objet de cette étude.

Ce projet de recherche est en lien avec le Labex ARCHIMEDE : « Archéologie et Histoire de la Méditerranée et de l'Egypte ancienne » et plus précisément avec le projet Human Egyptian LYon COnfluences Mummies (HELYCOM) - Mourir pour renaître, dont le thème est l'étude des représentations de la mort à travers l'évolution de la momification (étude pluridisciplinaire de la collection de momies humaines du musée des Confluences - Lyon) » porté par Annie Perraud, Docteur en Égyptologie. Cette collaboration scientifique a permis de financer une partie de ces travaux de thèse qui s'inscrivent donc dans le cadre de l'axe scientifique du LabEx (axe 4 : Représentations symboliques : la Mort, les Morts, les Rites). Ce projet collaboratif a pour but de réaliser une étude pluridisciplinaire de 28 momies humaines complètes et 46 têtes de momies, conservées au Centre de Conservation et d'Etude des Collections du musée des Confluences à Lyon et qui n'ont encore jamais été étudiées. Plusieurs objectifs spécifiques sont présentés: (i) déterminer les pratiques de momification telles que l'excérération, l'éviscération thoraco-abdominale, etc., l'utilisation de parures de cartonnage et les rituels funéraires dont ont pu bénéficier les défunt, (ii) réaliser la diagnose sexuelle et effectuer une évaluation de l'âge des divers individus ainsi que l'identification de pathologies, (iii) participer à l'identification des défunt à l'aide de textes éventuels et (iv) déterminer la composition chimique des baumes de momification.

Le but de ce sujet de thèse concerne ce dernier point. À savoir, étudier et caractériser chimiquement un ensemble de baumes provenant de diverses momies humaines d'Egypte ancienne. Le corpus d'échantillons archéologiques étudiés est constitué de 70 prélèvements provenant de 33 têtes et 13 momies complètes. L'objectif de ce travail de recherche est de caractériser, de façon exhaustive, la composition chimique des baumes de l'ensemble des 46 défunt, pour déterminer la nature de chaque matériau employé en se basant sur des protocoles existants, mais également en optimisant ces derniers et en mettant au point un nouveau protocole d'extraction plus spécifique et plus performant en phase solide (SPE).

Les diverses étapes réalisées dans le cadre de ce doctorat sont présentées au sein de ce manuscrit qui est articulé en 5 chapitres. Tout d'abord, la première partie, traitant des travaux bibliographiques effectués, aborde les croyances et rituels omniprésents en Égypte antique ainsi que les pratiques de momification au fil des différentes périodes de cette civilisation. La mort en Égypte était une étape très importante de la vie terrestre, car elle ouvrait la porte vers l'éternité. Pour accéder à la renaissance, le corps du défunt devait être préservé. La momification, décrite principalement par Hérodote, permettait d'interrompre le processus de décomposition du défunt en suivant plusieurs étapes telles que le lavage du corps, l'excérération, l'éviscération, la déshydratation et le bandeletage. Ces étapes ont différé selon les époques et le statut social des individus. Pour éviter que la décomposition du corps ne recommence, un mélange de substances naturelles, appelé baume, était appliqué. Ce mélange avait diverses propriétés : hydrophobe, antibactérien ou bien odoriférant. Certaines substances étaient également utilisées pour leur symbolisme et leur caractère sacré. Au sein de ce premier chapitre est également abordé l'ensemble des substances naturelles susceptibles d'être employées dans la formulation des baumes qui correspondent à un mélange complexe de divers matériaux tels que les huiles végétales, les graisses animales, les résines végétales, le bitume ou la cire d'abeille et même d'autres substances comme le henné ou les épices. Compte-tenu de la richesse moléculaire de ces matériaux, leur identification au sein d'un échantillon archéologique représente un véritable défi analytique. En effet, ils peuvent subir des processus d'oxydation, de dégradation et d'altération, naturellement, au fil du temps, par vieillissement ou dus à des facteurs anthropiques. La connaissance de l'ensemble des molécules présentes au sein de ces substances ainsi que leurs différentes voies

de dégradation permettent d'appréhender les modes de préparation et d'évolution des baumes de momification.

Le deuxième chapitre présente l'ensemble des échantillons de baumes étudiés provenant de momies issues de deux collections du Musée des Confluences (Lyon) : les collections d'Égyptologie et d'Ostéologie, toutes deux sous la responsabilité du Docteur en paléontologie, Monsieur Didier Berthet, Chargé de Collection et Responsable d'Inventaire. Cet ensemble comprend 250 têtes et crânes de momies égyptiennes rapportés à la fin du XIX^e siècle essentiellement par Ernest Chantre, anthropologue, et certaines par Charles-Louis Lortet, directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Lyon. Dans le cadre de ces travaux de doctorat des prélèvements ont été réalisés en juin 2017 sur 46 individus répartis en 13 momies entières, provenant de la collection d'Égyptologie et en février 2017 sur 33 têtes appartenant à la collection d'Ostéologie. L'ensemble des momies considéré n'avait fait l'objet d'aucune étude jusqu'alors. De plus, les baumes prélevés proviennent d'individus de sexes féminin et masculin, de tous âges (allant d'enfants jusqu'à des personnes âgées), de différentes époques (de la période Prédynastique jusqu'à la période Gréco-Romaine) et de localisations géographiques variées (mais principalement de Haute-Egypte). L'ensemble de l'échantillonnage a été réalisé au Musée des Confluences à Lyon par une équipe constituée de Dr. Carole Mathe (directrice de cette thèse), Pr. Cathy Vieillescazes (co-directrice), Dr Annie Perraud, moi-même et sous la supervision du Dr Didier Berthet (Chargé de Collection et Responsable d'Inventaire du musée). La sélection des individus mais également le choix des zones de prélèvements ont été faits sous la tutelle du Dr Annie Perraud. L'échantillonnage a été réalisé sur des parties des individus présentant des traces visibles de baumes, car aucun débandeletage n'a été effectué. De plus, la zone de prélèvement a été choisie préférentiellement sur des lacunes ou zones d'altération.

Le troisième chapitre porte sur l'ensemble des méthodologies et démarches expérimentales appliquées dans cette étude et elle décrit également la théorie des diverses techniques analytiques employées. Y figure uniquement les protocoles finaux et non les différentes étapes de mise au point et/ou optimisation. En ce qui concerne la caractérisation chimique des baumes deux techniques complémentaires ont été utilisées : la spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) ainsi que la Chromatographie Gazeuse couplée à la

Spectrométrie de Masse (CPG-SM). Les résultats obtenus à partir de chacun de ces outils analytiques font l'objet respectivement des deux chapitres suivants.

Le chapitre 4 aborde l'ensemble des résultats obtenus en spectroscopie infrarouge. Tout d'abord, une observation par microscopie optique a été réalisée avec pour but de fournir des informations visuelles sur les échantillons. Cette observation a permis de séparer les échantillons en deux catégories : aspects amorphes (catégorie n°1) et aspects sableux (catégorie n°2). Préalablement à l'étude des baumes par IR-TF, les modes d'acquisition et de détection en infrarouge ont été choisis pour chacune de ces deux catégories. Ensuite une étude des substances naturelles contemporaines a été effectuée afin de déterminer les empreintes spectrales de chacune d'entre elles pour pouvoir mieux les identifier en mélange sur les spectres des baumes. Les échantillons d'aspect amorphe ont été traités par pastille de KBr et les échantillons d'aspect sableux ont été traités par micro-compression diamant, le détecteur utilisé pour ces deux modes IR est le DTGS.

Enfin, compte-tenu du grand nombre de résultats obtenus, un traitement statistique des données, utilisant la classification ascendante hiérarchique, a été appliqué. Ce traitement a permis de regrouper les échantillons par ressemblance au niveau de leur composition *via* la formation d'un dendrogramme constitué de cinq clusters.

Le dernier chapitre traite de l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse qui est une technique d'analyse séparative très sensible. Cette partie a pour but de compléter l'étude par IR-TF et d'affiner l'identification moléculaire de la composition chimique des baumes. La chromatographie a permis de détecter des marqueurs chimiques qui ont un rôle important dans l'identification des matériaux employés ainsi que dans la caractérisation des divers processus d'altération et de dégradation. Tout d'abord, une étude des substances naturelles contemporaines a été effectuée afin de déterminer l'ensemble des paramètres chromatographiques (temps de rétention, spectre de masse) des biomarqueurs pouvant être rencontrés au sein d'échantillons archéologiques. Ensuite, une approche conventionnelle d'extraction, c'est-à-dire utilisant un solvant classique tel que le dichlorométhane, a été réalisée. Ce protocole a permis d'identifier un large panel de composés avec un temps d'expérience minimal et des temps d'analyse courts. L'ensemble des marqueurs résiniques identifiés ont permis de réaliser des analyses en composantes

principales (ACP) afin de déterminer l'état d'altération/dégradation de la résine. Enfin, pour pallier certaines difficultés liées à la composition chimique des baumes étudiés, telles que la détection du bitume et de la cire d'abeille, un protocole d'extraction en phase solide (SPE) a été développé puis appliqué à l'ensemble des échantillons. En fin de ce chapitre, une interprétation plus générale de 13 individus qui ont fait l'objet de plusieurs prélèvements est réalisée.

Pour conclure, un bilan du projet est donné avec un tableau récapitulatif de l'ensemble de la composition des baumes, ainsi que les diverses perspectives possibles de ce sujet de recherche. De plus, des traitements par statistiques des données concernant la composition de ces baumes ont été réalisés par ACP et sont associés avec divers paramètres tels que le sexe, l'âge, la localisation géographique et la période historique des individus.

Chapitre 1.

Généralités sur l’Egypte antique et les divers matériaux utilisés dans la formulation de baumes

Ce chapitre vise tout d’abord à faire connaître les croyances et rituels omniprésents en Egypte antique ainsi que les pratiques de momification au fil des différentes périodes de cette civilisation afin de comprendre la nécessité d’étudier les baumes de momification. Ces derniers sont composés de plusieurs substances naturelles qui seront chacune détaillées chimiquement, en commençant par la formation des molécules constitutives et en terminant par leur dégradation.

1. L'Egypte ancienne et les pratiques de momification

1.1. Les croyances et les rituels

La mort n'était pas une fin en soi mais une composante majeure de la vie, c'est-à-dire un passage entre deux formes d'existence, la vie terrestre et l'éternité dans l'au-delà. Pour que l'esprit du défunt puisse accéder à cette seconde vie, plusieurs conditions étaient nécessaires pour l'accompagner; pour exemple des offrandes de nourriture et de mobilier (Dunand et Lichtenberg 1998), mais aussi un rituel funéraire, appelé momification, pour conserver le corps (Fig. 1). Tandis que le cadavre est condamné à la putréfaction, la momie est un corps devenu inaltérable. Cette pratique faisait partie intégrante de la religion égyptienne (Dunand et Lichtenberg 1991).



Figure 1: Momie 90001265, Musée des Confluences, Lyon.
HELLYCOM® « mourir pour renaitre » Annie Perraud.

1.2. Les pratiques de momification à travers la chronologie

Pendant plus de quatre millénaires, les techniques de momification ont évolué. Dans ce cadre, certains procédés n'ont pas ou peu été modifiés, d'autres ont connu plusieurs changements ou sont réapparus après leur abandon. Les connaissances actuelles sur les procédures de momification sont limitées car celles-ci reposent essentiellement sur l'écriture de deux auteurs grecs anciens, à savoir Hérodote et Diodore de Sicile.

La momification était un procédé long d'une durée de sept décades, soit 70 jours. Durant ce délai, plusieurs séries d'opérations étaient réalisées. Tout d'abord l'excérébration, c'est-à-dire l'élimination du cerveau puis l'éviscération qui consistait à faire une entaille sur le flanc du défunt et retirer les organes à l'exception du cœur (Hérodote, *L'Enquête*, II, 86-88). Le corps était ensuite déshydraté à l'aide de natron (sels de sodium $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$) pendant 30 à 40 jours (Mokhtar, Riad, et Iskander 1973). Ceci étant terminé, le corps était ensuite lavé et recouvert de différentes substances naturelles, l'ensemble appelé baume (Goyon 1975;

Goyon et Josset 1988; Podvin 2009). La description de ce procédé de momification est celui utilisé à partir du Nouvel Empire (environ 1500 à 1000 avant J.-C., Fig. 2). A cette époque, la momification est encore réservée à une classe sociale élevée (Hornung et Lorton 1999; Cockburn, Cockburn, et Reyman 1998).

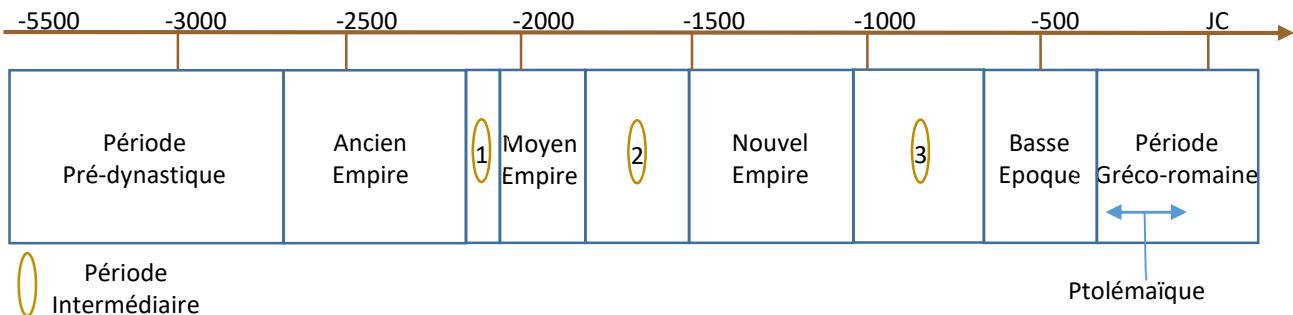


Figure 2: Frise chronologique de l'Egypte ancienne.

Durant les périodes précédentes, l'embaumement était courant mais moins développé comme par exemple dans la période prédynastique où les défunt étaient simplement placés dans le sable du désert. Il s'agissait d'une momification dite naturelle. Durant l'Ancien Empire, la technique d'éviscération et l'application de tissus, qui étaient ensuite imprégnés de baumes, a commencé à être employée (Taylor 2001). Les périodes intermédiaires sont des périodes de troubles politiques et sociaux en Egypte et donc la momification pouvait être peu employée, comme par exemple, pendant la première période intermédiaire ; ce ne fut pas le cas de la Troisième Période Intermédiaire où de nombreuses innovations ont vu le jour (Dunand et Lichtenberg 1998). Pendant le Moyen Empire, c'était encore une pratique réservée à une classe sociale privilégiée (élite). Par contre, les textes funéraires sont apparus sur les cercueils et sarcophages ; ils n'étaient plus réservés à l'entourage royal. L'excérération était au stade d'expérimentation, la technique étant alors mal maîtrisée (Perraud, 2014). Les pratiques de momification ont perduré jusqu'à la fin de la période dynastique de l'Egypte ancienne. L'époque Ptolémaïque et la période romaine, pendant lesquelles la momification s'est généralisée, du fait de sa démocratisation, a permis à un grand nombre de défunt d'accéder à la momification (Dunand et Lichtenberg 1998). L'emploi de baumes dans le processus de momification a été de mise durant des milliers d'années de l'histoire de l'Egypte ancienne. Compte-tenu de l'importance de cette pratique funéraire, l'étude et la caractérisation chimique des baumes prend tout son sens, mais également permet leur remise

en contexte égyptologique. Il est donc intéressant d'étudier chaque substance utilisée dans la formulation du baume.

2. Etat de l'art : analyse des baumes

Diverses techniques analytiques sont employées pour l'analyse chimique de baumes de momies. Il est possible de distinguer deux types d'analyses : celle des matériaux inorganiques, tel que la spectroscopie Raman, la spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie, la diffraction de rayons X etc, et celle des matériaux organiques. Un focus va être fait sur les diverses techniques analytiques possible pour l'identification de la partie organique. Dans la littérature, deux méthodes d'analyses sont principalement utilisées : la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ainsi que la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

Différents modes infrarouges sont cités dans la littérature, il est possible de voir notamment des analyses par pastilles de bromure de potassium avec un détecteur DTGS et des analyses par Réflectance totale atténuée avec un détecteur MCT (l'ensemble de ces techniques est détaillé dans le chapitre 3) (Łucejko et al. 2012; Daher et al. 2013; Ménager, Azemard, et Vieillescazes 2014; Stacey et al. 2018).

L'emploi de la chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse est souvent précédé de traitement préalable des échantillons, tel que des réactions de saponification, des extractions à monosolvant à l'hexane ou au dichlorométhane ou à l'éther diéthylique et des triméthylsilylations (Colombini et al. 2000; Łucejko et al. 2012; Ménager, Azemard, et Vieillescazes 2014; Jacqueline et al. 2016; Goyon, Mathe, et Vieillescazes 2016; Brettell et al. 2017; Łucejko et al. 2017; Jones et al. 2018).

Les substances généralement identifiées sont des huiles végétales, des graisses animales, de la cire d'abeille, de la résine de Conifère, de la résine mastic, de la poix et du bitume. Il est à noter qu'à partir du Nouvel Empire (-1500 BC) des mélanges de toutes ces substances sont identifiés dans les baumes de momies contrairement à la période Prédynastique où les baumes étaient composés principalement de corps gras et de traces de résines (Jones et al. 2018).

3. Matériaux principalement utilisés dans la formulation de baumes

Une grande variété de substances naturelles a été utilisée dans la fabrication de baumes (Fig. 3), telles que les huiles végétales, les graisses animales, les résines, le bitume ou la cire d'abeille et même d'autres additifs tels que le henné ou des épices (Goyon 1972; Nicholson et Shaw 2000; Buckley, Clark, et Evershed 2004; Abdel-Maksoud et El-Amin 2011; Marshall et Lichtenberg 2013). Ces substances possédaient certaines propriétés telles qu'être hydrophobes, antibactériennes ou odoriférantes, mais elles pouvaient aussi avoir un caractère sacré ou être simplement utilisées pour leur esthétisme (Buckley et Evershed 2001; Nicholson et Shaw 2000).

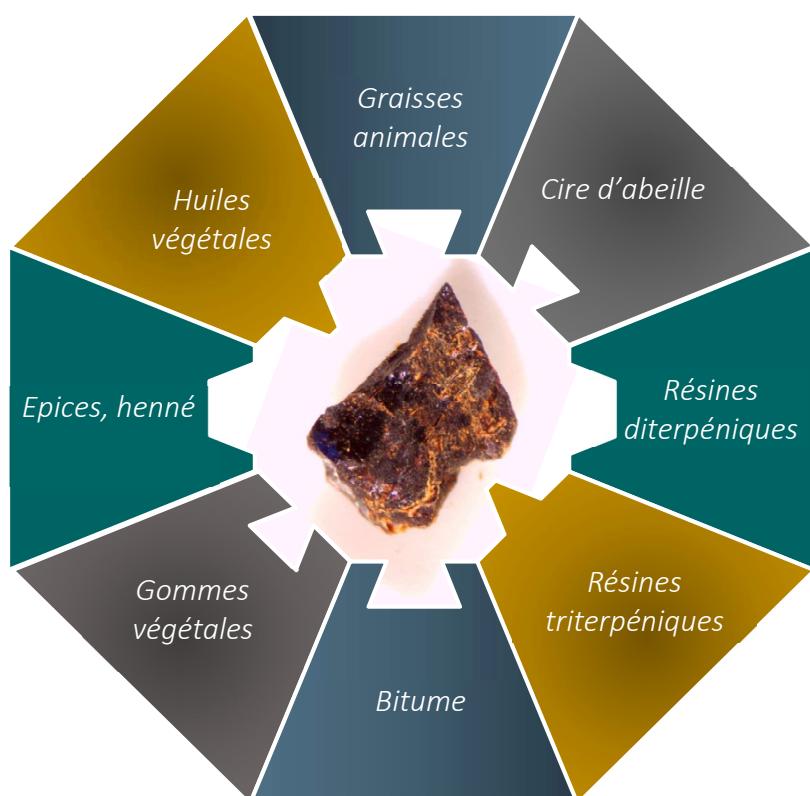


Figure 3: Substances utilisées pour la préparation de baumes.

Chaque matériau utilisé dans la formulation d'un baume est soumis à une succession de réactions chimiques liées à son évolution au cours du temps, depuis son obtention jusqu'au vieillissement du baume mais également il peut subir des réactions liées à la préparation, comme le chauffage. C'est le cas par exemple lors de l'excitation d'une résine végétale qui est dans un premier temps extraite de sa matrice d'origine. Celle-ci peut ensuite être légèrement chauffée pour la rendre plus malléable et favoriser la formulation. Enfin, le passage du baume au travers des siècles entraîne également la poursuite de la vie chimique

de la préparation. Ainsi, afin d'appréhender les modes de préparation et d'usage de chaque ingrédient, il est nécessaire de connaître et comprendre chacune des réactions mises en jeu. (Bailly 2015; Ménager, Azemard et Vieillescizes 2014; Vieillescizes et Coen 1993).

Chacune de ces substances va donc être présentée par la suite, avec sa composition chimique ainsi que ses modes de dégradation possibles.

3.1. Les huiles végétales et les graisses animales : composition chimique et dégradation

Les huiles végétales et graisses animales étaient très souvent employées pour la réalisation de baumes de momification en Égypte ancienne, mais elles étaient aussi utilisées dans d'autres domaines comme par exemple la cuisine, la parfumerie et pour des préparations médicinales (Nicholson et Shaw 2000). Leur utilisation dans les baumes était due à leur propriété de barrière hydrophobe afin de limiter la réhydratation du corps. Il y avait également un côté religieux dans l'emploi de certaines graisses animales. En effet, la nature de la graisse appliquée pouvait indiquer la volonté d'être pris en charge par le dieu associé dans l'au-delà (Dunand et Lichtenberg 2005). L'utilisation d'un ensemble d'huiles végétales telles que l'huile de ricin, de lin, de palme, d'olive, de carthame et d'un large panel de graisses animales telles que la graisse de chèvre, de mouton, d'oie, a été mentionnée (Clark 2006). Les molécules présentes au sein d'huiles végétales et de graisses animales ont de nombreuses similitudes malgré leur état physique différent. En effet, les huiles végétales sont généralement à l'état liquide (à l'exception de l'huile de palme) et les graisses animales sont à l'état solide à température ambiante (Bastien 2011). Ces corps gras sont principalement constitués de mélange de glycérides notamment des triglycérides et d'autres composés minoritaires tels que les stérols.

3.1.1. Les triglycérides et les acides gras

Un triglycéride est constitué de glycérol estérifié avec trois acides gras (Fig. 4). Les acides gras sont des acides carboxyliques à longue chaîne et à nombre pair d'atomes de carbone (Fig. 5) (Bhat, Nagasampagi et Sivakumar 2005). Ils peuvent être saturés ou insaturés. Les acides gras

provenant d'huiles végétales sont généralement de nature saturée et insaturée, tandis que pour les graisses animales ils sont principalement de nature saturée ce qui implique une meilleure fluidité des huiles par rapport aux graisses (Nicholson et Shaw 2000). Pour les acides gras insaturés, la double liaison est la plupart du temps en position *cis*, la position *trans* est très peu représentée hormis dans les produits laitiers ou les graisses animales de ruminants (Bastien 2011).

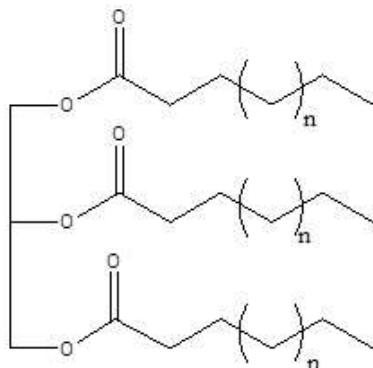


Figure 4: Triglycéride.

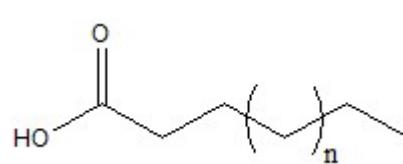


Figure 5: Acide gras.

Les acides gras les plus communs sont, pour les acides gras saturés, les acides myristique, palmitique (Fig. 6) et stéarique et pour les acides gras insaturés, les acides palmitoléique, oléique (Fig. 7), linoléique et linolénique (Tableau 1).

Tableau 1: Liste des acides gras les plus répandus.

Acides	Nombre d'atomes de carbones	Nombre d'insaturations	Nomenclature
Myristique	14	0	C14:0
Palmitique	16	0	C16:0
Palmitoléique	16	1	C16:0 w-7
Stéarique	18	0	C18:0
Oléique	18	1	C18:1 w-9
Linoléique	18	2	C18:2 w-6
Linolénique	18	3	C18:2 w-3/6

Dans la suite du manuscrit les acides gras seront notés comme suit, exemple de l'acide oléique C18 :1 w-9 → C 18 :1, C pour acide monocarboxylique, 18 pour le nombre d'atomes de carbone et :1 pour le nombre d'insaturations et il ne sera pas abordé l'emplacement de la double liaison (w-9).



Figure 6: Acide palmitique, C 16:0.

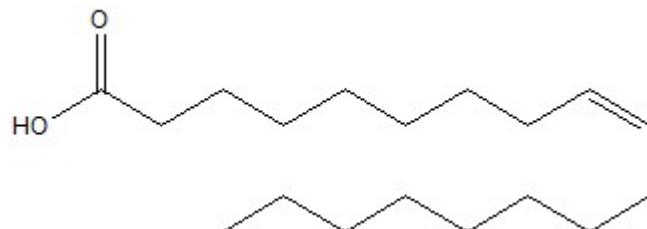


Figure 7: Acide oléique, C 18:1.

En contexte archéologique, ces triglycérides peuvent subir des dégradations naturelles ou anthropiques. C'est pourquoi sont principalement retrouvés des acides gras libres provenant de l'hydrolyse des triglycérides. L'hydrolyse peut s'effectuer sous l'effet d'un catalyseur biologique (une enzyme), par action de la lumière, de l'eau et de la chaleur (Bastien 2011).

3.1.2. Dégradation des acides gras libres

Il existe de nombreuses voies de dégradation des acides gras libres. Celles-ci vont être brièvement présentées ici. La figure 8 représente les différentes dégradations des acides gras en contexte archéologique (l'acide oléique C18 :1 étant pris comme exemple).

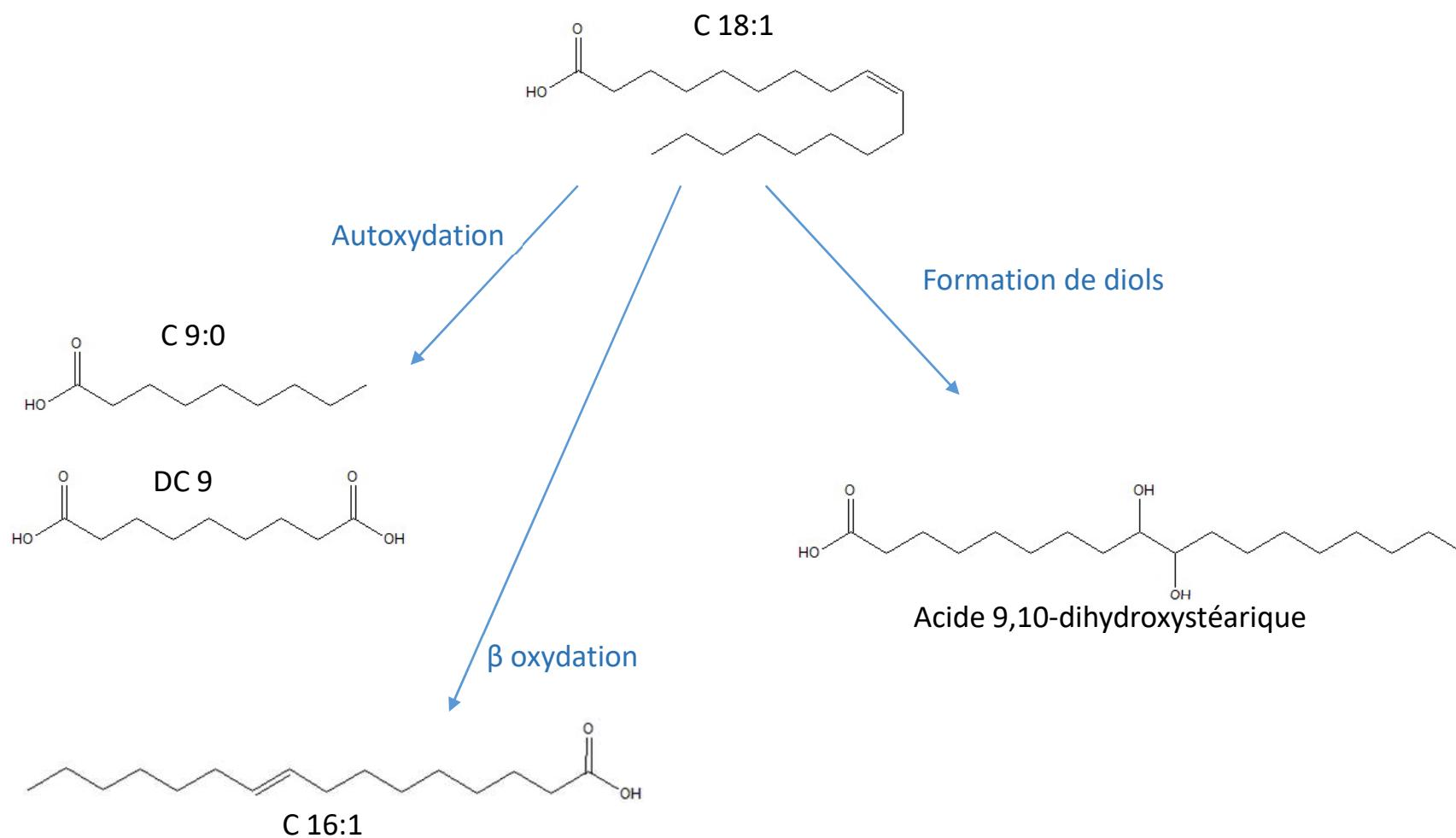


Figure 8: Voies de dégradation possibles des acides gras insaturés.

3.1.2.1. Autoxydation des acides gras insaturés

Ce type de dégradation des corps gras est naturelle et correspond au rancissement (Fritsch et Deatherage 1956). Il s'agit d'une oxygénation par l'oxygène de l'air des acides gras insaturés. Plusieurs réactions chimiques radicalaires vont former un intermédiaire hydroperoxyde afin d'engendrer *in fine* des acides monocarboxyliques (C) courts et des acides dicarboxyliques (DC). Les acides dicarboxyliques formés ont généralement entre 4 et 13 carbones ; l'acide azélaïque DC 9 est l'acide majoritairement formé (Fig. 9). Les diacides formés vont dépendre des positions des insaturations des acides gras initialement présents (Passi *et al.* 1993).



Figure 9: Acide dicarboxylique en C9, acide azélaïque, DC 9.

3.1.2.2. La β oxydation

C'est un processus d'oxydation qui concerne l'ensemble des acides gras afin de former des acides gras saturés avec deux carbones en moins ; par exemple la transformation de l'acide oléique (C 18 :1) en acide palmitoléique (C 16 :1) (Evershed 1992). Cette oxydation se réalise préférentiellement dans les mitochondries des cellules et elle est activée par des enzymes tel que l'acétyl-CoA. Dans le cas du vieillissement d'une huile, cette oxydation peut être réalisée par certaines bactéries. D'autre part, la réduction de la double liaison peut être réalisée par certains microorganismes ou avec le temps et conduire ainsi à l'acide palmitique C 16 :0.

3.1.2.3. Formation des dihydroxyacides

Ces diols sont formés à partir de la dihydroxylation des doubles liaisons au sein des acides gras insaturés. En milieu archéologique, il est également possible que les diols subissent une déshydratation afin de former un hydroxyacide (Régert *et al.* 1998).

Au vu de toutes ces dégradations, très peu d'acides gras insaturés vont être rencontrés en milieu archéologique. Ainsi, il sera délicat de conclure quant à la nature du corps gras utilisé.

3.1.3. Autres marqueurs : les stérols

Au sein d'une huile ou d'une graisse, sont présents en minorité d'autres composés que les acides gras : les stérols. Ces molécules dérivent de triterpènes et sont caractéristiques des huiles végétales ou des graisses animales.

Pour les huiles végétales, deux stérols peuvent être rencontrés, le campestérol (Fig. 10) et le sitostérol (Fig. 11) (Hooykaas, Hall, et Libenga 1999).

Pour les graisses animales, le stérol caractéristique est le cholestérol (Fig. 12). Il est à noter que la présence de cholestérol au sein d'un baume de momie peut également être due à celui issu de l'individu.

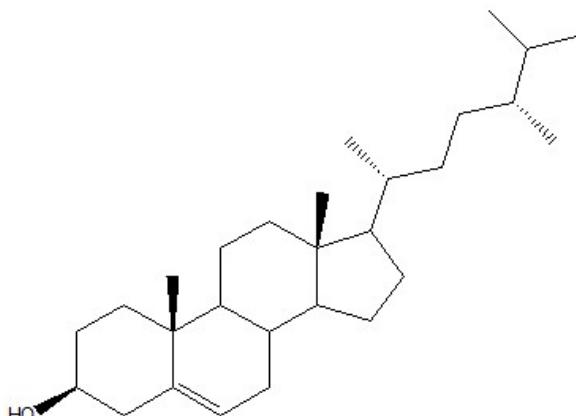


Figure 10: Campestérol.

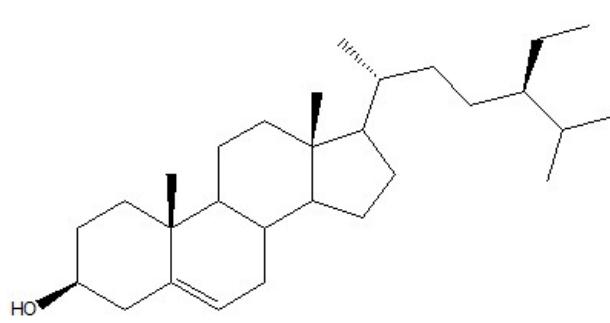


Figure 11: Sitostérol.

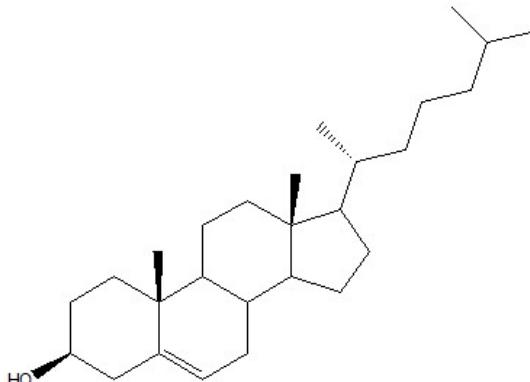


Figure 12: Cholestérol.

3.2. La cire d'abeille

La cire d'abeille est une substance sécrétée par les abeilles qui l'utilisent pour construire les rayons de leur ruche afin d'y stocker le miel, le pollen et leur couvain. Elle est utilisée depuis l'Antiquité dans de nombreux domaines pour ses propriétés antibactérienne et hydrophobe mais également comme adhésif, par exemple dans des mosaïques de décoration (Duce *et al.* 2015), comme liant pictural (Peris-Vicente *et al.* 2006) mais également dans la formulation de baumes de momification (Buckley, Clark, et Evershed 2004; Buckley et Evershed 2001; Colombini *et al.* 2002; Evershed *et al.* 2003; Łucejko *et al.* 2012; Tchapla *et al.* 1999). La cire

d'abeille avait également un caractère sacré pour les Egyptiens. En effet, selon eux, les abeilles naquirent des larmes du dieu Rê (Posener 1959).

Chimiquement, cette substance est composée de diverses familles de composés, des n-alcanes saturés impairs, des esters d'acide gras, de diesters et des acides gras libres (Régert *et al.* 2001; Régert, Langlois, et Colinart 2005; Čížová *et al.* 2019; Evershed *et al.* 2003). Les esters sont des esters de l'acide palmitique avec des alcools à longue chaîne carbonée paire (C22 à C34).



Figure 13: Acide gras à 30 atomes de carbones, C 30:0.

Sur des échantillons archéologiques la cire d'abeille peut être hydrolysée et ainsi donner de l'acide palmitique C 16:0 et des alcools à longue chaîne. Ces alcools avec le temps vont s'oxyder et former des acides gras (Fig. 13). Dans le tableau 2 sont représentés les acides gras caractéristiques qui vont permettre l'identification de la cire d'abeille au sein d'un échantillon archéologique.

Tableau 2: Nom usuel et nomenclature des acides gras libres caractéristiques de la cire d'abeille.

Nom usuel	Notation
Acide cérotique	C 26:0
Acide montanique	C 28:0
Acide mélissique	C 30:0
Acide lacéroïque	C 32:0
Acide geddique	C 34:0

Une hydrolyse peut également engendrer des acides gras à plus petites chaînes tels que les C20:0, C 22:0 et C 24:0 mais ils ne sont pas caractéristiques de la cire d'abeille car ils peuvent provenir d'autres corps gras.

3.3. Les résines

Les résines sont des substances naturelles, secrétées par certains végétaux dans un rôle de défense, de protection et de communication. Ce sont donc des métabolites secondaires qui ont un aspect liquide, séchant au contact de l'air plus ou moins rapidement. Elles ont été utilisées dans la formulation de baumes pour leurs propriétés hydrophobe, antibactérienne et odoriférante...

Différentes résines ont été employées dans la préparation de baumes ; le choix de ces résines dépendait des routes commerciales existant à l'époque pour les faire parvenir en Egypte. Elles provenaient uniquement du pourtour de la Méditerranée, de l'Est de l'Afrique et du centre de l'Asie (Langenheim, 2003; Mills and White, 1994; Serpico et White, 2000). La liste non exhaustive des résines principalement utilisées durant la période de l'Egypte Ancienne est répertoriée dans le tableau 3 (Nicholson et Shaw 2000). Il a été décidé de détailler seulement celles-ci dans la suite de ce chapitre pour leur richesse moléculaire comprenant la majorité des marqueurs susceptibles d'être détectés dans cette étude.

Tableau 3: Exemples de résines couramment employées en Egypte antique.

Sous embranchement	Famille	Genre	Matériaux résineux
Angiospermes	Burseracées	<i>Boswellia</i>	Oliban
	Anacardiacées	<i>Commiphora</i>	Myrrhe
Gymnospermes	Pinacées	<i>Pistacia</i>	Mastic
	Cupressacées	<i>Pinus</i>	Colophane de gemme
		<i>Juniperus</i>	Sandaraque

Les Angiospermes sont couramment appelés plantes à fleurs tandis que les Gymnospermes sont des « graines nues ». Chimiquement ces deux sous embranchements sont très différents. Tout d'abord il faut savoir que les résines végétales sont des matériaux complexes, pouvant être constitués de trois familles distinctes de composés. Premièrement une fraction volatile d'huiles essentielles avec des molécules de type mono- et sesquiterpènes. Ensuite, une fraction « résinique » qui rassemble des composés terpéniques à vingt atomes de carbones (diterpènes), ou à trente atomes de carbones (triterpènes) et enfin la partie gomme caractérisée par des polysaccharides (hydrosolubles). Diverses catégories de substances résineuses se distinguent alors : résines, gommo-résines et oléo-gommo-résines (Mathe et al.

2005). Pour la suite du manuscrit l'emploi du terme « résine » englobera ces trois catégories. Ainsi le sous embranchement des Gymnospermes correspond à des résines dites diterpéniques et le sous embranchement des Angiospermes correspond à des résines dites triterpéniques.

3.3.1. Résines diterpéniques

Les résines diterpéniques (exemple d'une résine de conifère dans la figure 14) souvent utilisées sont la sandaraque ainsi que la résine de colophane. Ces deux résines proviennent principalement du pourtour de la Méditerranée.



Figure 14: Résine colophane, *Kolophonium hellst*, Kremer Pigmente.

3.3.1.1. Chimie des diterpènes

Les résines diterpéniques sont composées de molécules tricycliques à 20 atomes de carbone et notamment de fonctions alcool et acide carboxylique. Trois squelettes moléculaires sont représentatifs de ces résines : les motifs abiétane, pimarane et labdane (Fig. 15, 16 et 17).

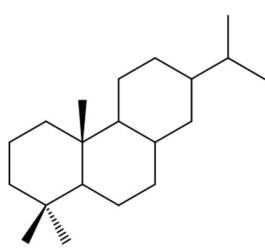


Figure 15: Abiétane.

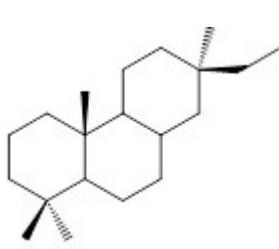


Figure 16: Pimarane

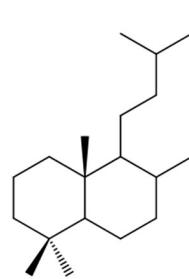


Figure 17: Labdane.

Pour les Cupressacées, les molécules majoritaires sont des pimaranes avec une très grande proportion d'acide sandaracopimarique (Fig. 18). Les marqueurs de la sandaraque sont l'acide communique (Fig. 19) et l'acide agathique (Fig. 20). Il y a également des composés phénoliques tel que le ferruginol (Fig. 21) formé après oxydation et réarrangement, qui a été identifié comme un biomarqueur des résines de Cupressacées (Langenheim 2003; Mills et White 1994). Pour les Pinacées, les molécules majoritairement présentes sont des squelettes

abiétane. Les principaux marqueurs sont l'acide déhydroabiétique et l'acide 7-oxo-déhydroabiétique (Fig. 22 et 23).

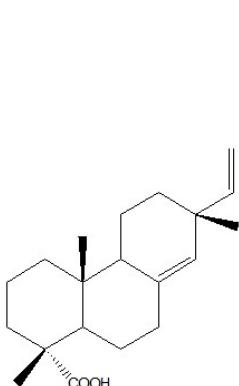


Figure 18: Acide sandaracopimarique.

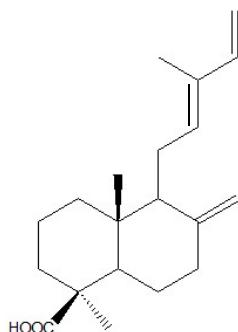


Figure 19: Acide communique.

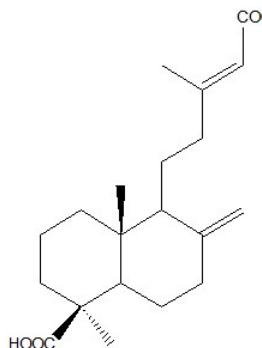


Figure 20: Acide agathique.

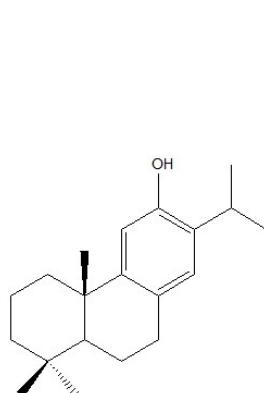


Figure 21: Ferruginol.

Les acides diterpéniques à squelette abiétane, contrairement aux pimaranes, possèdent des doubles liaisons conjuguées, ce qui les rend sensibles à certaines réactions chimiques. De plus, en fonction de leur type de dégradation, naturelle ou anthropique, ils vont donner des marqueurs très différents.

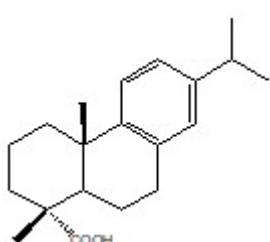


Figure 22: Acide déhydroabiétique.

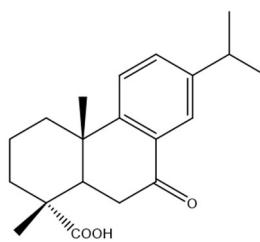


Figure 23: Acide 7-oxo-déhydroabiétique.

3.3.1.2. Dégradation des abiétanes

De nombreux travaux ont été réalisés pour comprendre certaines réactions chimiques que peuvent subir les abiétanes. A travers un schéma récapitulatif non exhaustif (Fig. 24) il sera possible d'appréhender au mieux chaque type de marqueurs provenant de résine de Pinacées pouvant être détecté au sein de baumes de momification.

Juste après exsudation de la résine, quatre molécules isomères sont en équilibre : les acides abiétique, palustrique, néoabiétique et lévopimarique. La molécule la plus stable, et donc en plus grande quantité, est l'acide abiétique. Cette molécule biomarqueur présente initialement dans chacune des résines de Pinacées, tend à se transformer et à disparaître au cours du

temps pour aboutir par déshydrogénéation à l'acide déhydroabiétique (DHA, A1). A partir de cette molécule, plusieurs voies sont possibles selon les types de formulation et de dégradation.

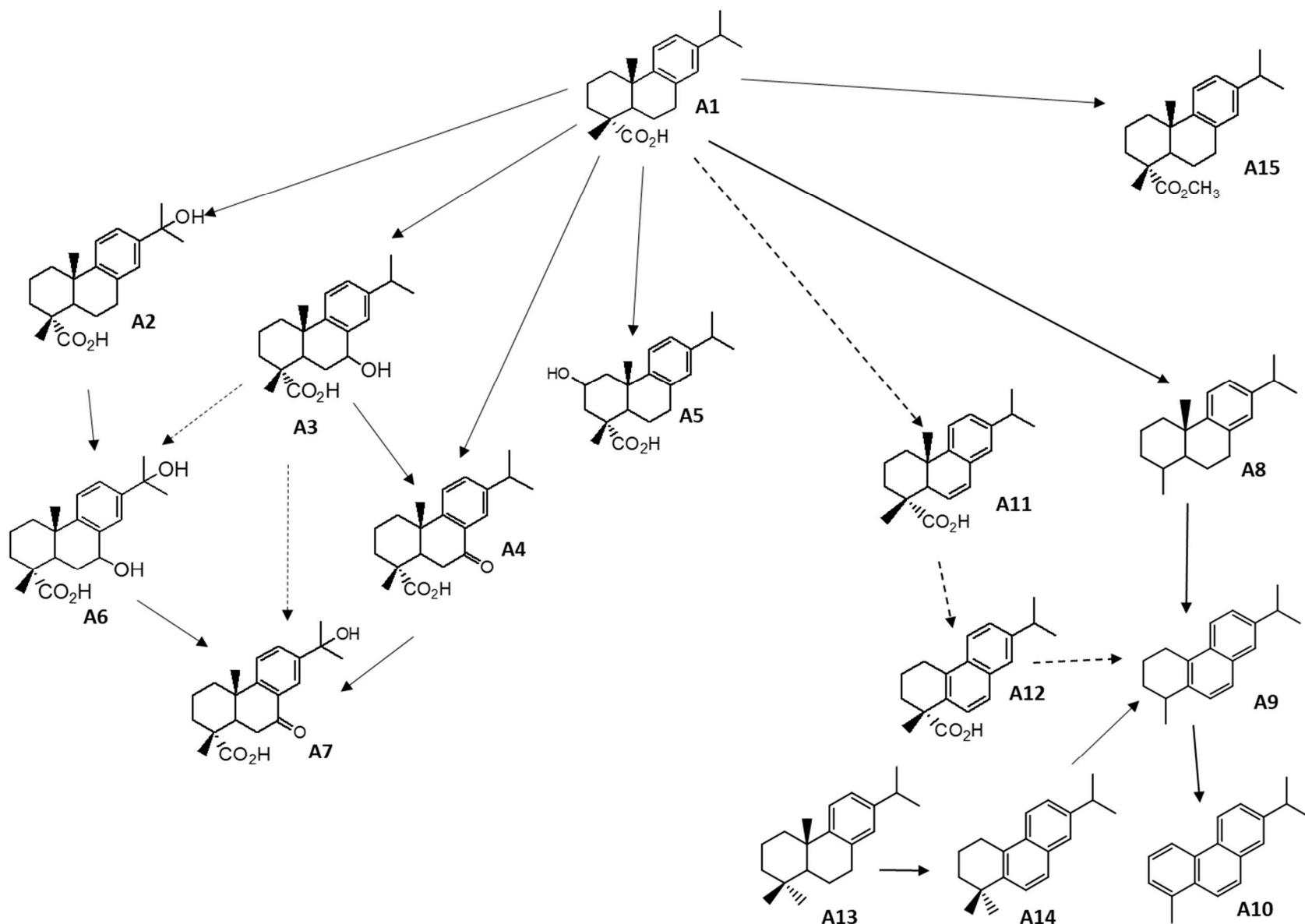


Figure 24: Schéma de dégradation des abiétanes. A1=DHA, A2=15-hydroxy-DHA, A3=7-hydroxy-DHA, A4=7-oxo-DHA, A5=3-hydroxy-DHA, A6=7,15-dihydroxy-DHA, A7=15-hydroxy-7-oxo-DHA, A8=18 et 19-norabiétantriène, A9=tétrahydronorétène, A10=rétène, A11=déhydrodihydroabiétique, A13=déhydroabiétane, A14=simonellite, A15=déhydroabiétate de méthyle.

Pour commencer, l'action de l'oxygène de l'air peut engendrer des réactions d'oxydation de DHA (A1). C'est un processus naturel qui va conduire préférentiellement à la formation de 7-hydroxy-DHA (A3), 15-hydroxy-DHA (A2), 3-hydroxy-DHA (A5) (il est à noter que la position 3 est un site peu sensible donc d'autres réactions pourraient expliquer la formation de ce composé) et 7-oxo-DHA (A4) par incorporation de groupements hydroxyles ou cétones (Berg et al. 2000). Des réactions d'isomérisation et d'oxydation de A2, A3 et A4 sont possibles, pour donner le 7,15-dihydroxy-DHA (A6) et permettent d'aboutir au 15-hydroxy-7-oxo-DHA (A7). Les 3 molécules les plus abondantes, car chimiquement les plus stables, A1, A4 et A7, sont utilisées comme marqueurs d'une résine diterpénique de Pinacées ayant subi une dégradation naturelle par vieillissement avec le temps.

Ensuite, si le matériau est chauffé à des températures dépassant 300°C, une réaction de décarboxylation permet de passer de A1 aux 18 et 19-norabiétatriène (A8). Il s'ensuit après une aromatisation partielle pour parvenir au tétrahydrorétène (A9). Une étude théorique a permis de considérer une autre voie possible en partant de A1. Celui-ci subit une déshydrogénération pour donner l'acide déhydrodéhydroabiétique (A11) qui va s'aromatiser pour passer par un intermédiaire A12 et aboutir ainsi à A9 (Bailly 2015). Pour finir le déhydroabiétane (A13), peut étendre son aromatisation et donner de la simonellite (A14), qui elle-même par déméthylation va aboutir au tétrahydrorétène (A9) (Otto, 2006). Ce dernier peut se former de trois manières différentes, comme présenté ci-dessus. Cette molécule va subir une aromatisation complète pour aboutir au rétène (A10), ce qui fait de ce composé un marqueur d'une dégradation thermique par chauffage intensif ou pyrolyse. Le rétène peut également réagir et donner du méthyl-rétène (Bailly, 2015).

De plus, lorsque la résine est extraite par chauffage du bois résineux, le méthanol issu de la pyrolyse du bois lors de la préparation de poix va estérifier A1 afin de former l'ester déhydroabiétate de méthyle (A15, DHAM) (Faix, Meier, et Fortmann 1990). Cette molécule est un marqueur du mode de préparation de poix (Rageot, 2015). D'autres molécules peuvent être estérifiées, cependant dans ces travaux de thèse, seul le DHAM a été détecté.

Pour résumer et suite à l'interprétation de la figure 24, il est donc possible de préciser l'origine et le type de réaction/dégradation inhérent à chacun de ces composés. Ainsi, à partir de leur caractérisation au sein de baumes, il sera possible de remonter au schéma réactionnel qui a

conduit à la formation des molécules et donc de définir les voies réactionnelles de dégradation correspondantes.

3.3.2. Résines triterpéniques

Les résines triterpéniques souvent employées appartiennent à la famille des Burséracées telles que la myrrhe et l'oliban (Fig. 25) ou à la famille des Anacardiacées telle que la mastic. Il est également possible de rencontrer d'autres substances résineuses telles que de l'opoponax, du copal etc. mais celles-ci ne seront pas détaillées ici.



Figure 25: Résine triterpénique, mastic de Chios.

3.3.2.1. Chimie des triterpènes

Les résines triterpéniques sont composées de molécules pentacycliques à 30 atomes de carbone et notamment de fonctions alcool et acide carboxylique. Six squelettes sont représentatifs de ces résines, les motifs : oléanane, ursane, lupane, euphane, dammarane et hopane (Fig.26 à 31).

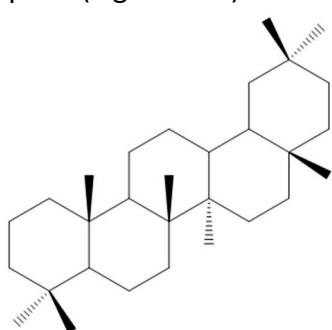


Figure 26: Oléanane.

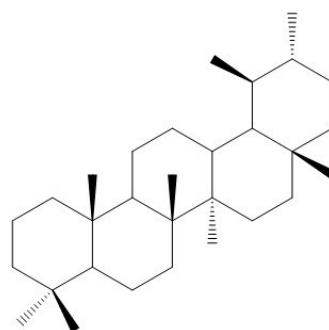


Figure 27: Ursane.

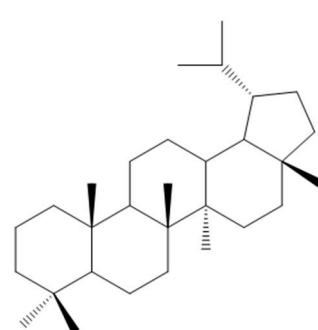


Figure 28: Lupane.

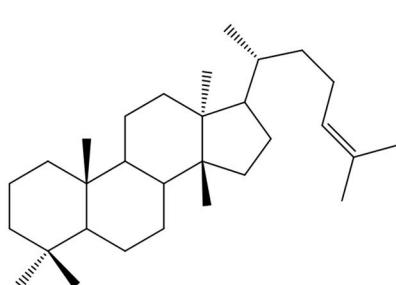


Figure 29: Euphane.

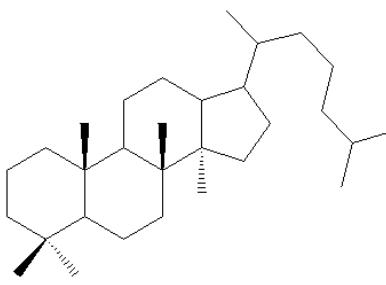


Figure 30: Dammarane.

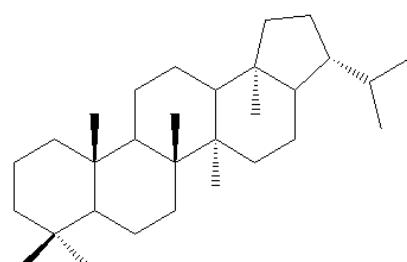


Figure 31: Hopane.

Il y a des molécules souvent présentes dans les résines triterpéniques telles que les α - et β -amyrines (Fig. 32 et 33). Ces deux molécules sont des indices permettant d'orienter vers la présence de ce type de résine.

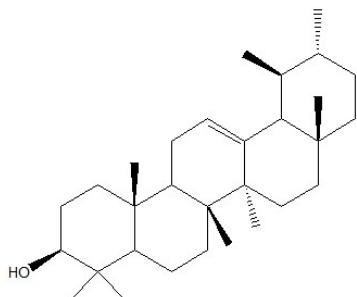


Figure 32: α -amyrene.

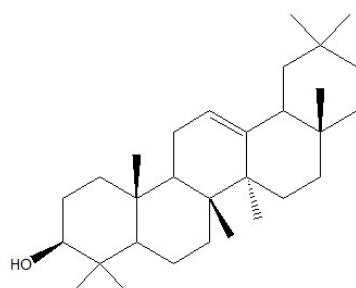


Figure 33: β -amyrene.

Les résines de la famille des Burséracées telles que l'oliban ou la myrrhe sont particulières car elles comportent des molécules sesquiterpénique, diterpéniques macrocycliques et/ou triterpéniques. L'oliban présente des molécules triterpéniques qui sont des biomarqueurs de cette résine, à savoir les acides α -boswellique et β -boswellique (Fig. 34 et 35). Pour la myrrhe des dérivés du furanodiène sont caractéristiques, tel que le furanoeudesma-1,3-diène (Fig. 36) qui est un sesquiterpène et en triterpènes il y a les amyrines et l'acide commiphorique (Machenaud 2017; Welfringer 2017).

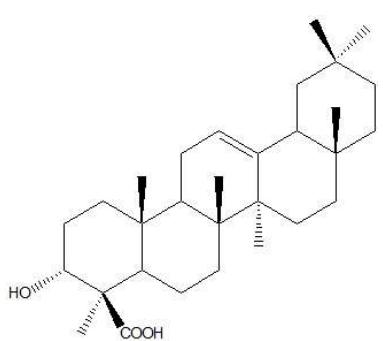


Figure 34: α -boswellique.

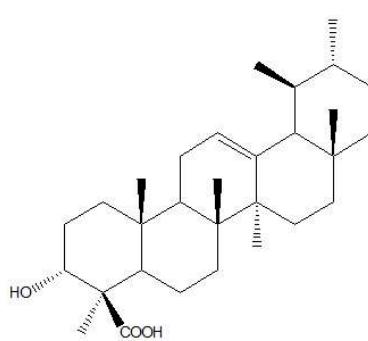


Figure 35: β -boswellique.

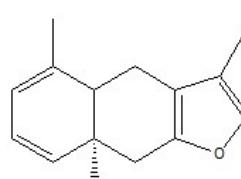


Figure 36:
Furanoeudesma-1,3-diène.

Enfin, une résine de la famille des Anacardiacées telle que le mastic comprend des marqueurs moléculaires triterpéniques tels que les acides moronique (Fig. 37), masticadiénique (Fig. 38) et isomasticadiénique (Fig. 39) (Delgado-Robles 2018).

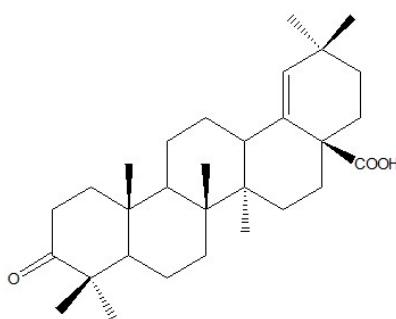


Figure 37: Acide moronique.

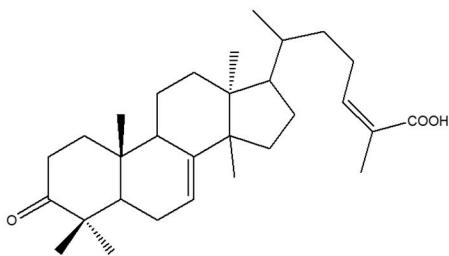


Figure 38: Acide masticadiénonique.

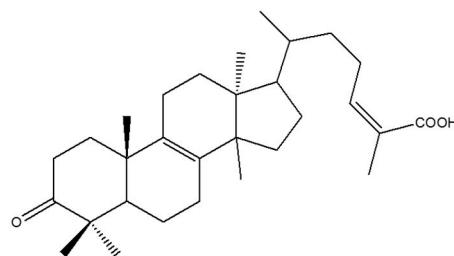


Figure 39: Acide isomasticadiénonique.

3.4. Le bitume

Le terme momie provient du perse « *moumia* » qui signifie bitume (Connan et Dessort 1989). Cependant l'utilisation du bitume au sein de baume de momification a longtemps été contestée (Nissenbaum et Buckley 2013). L'effet noir et dur d'un baume évoque la présence de bitume mais il peut s'agir de l'utilisation de résine qui avec le temps est oxydée. C'est à partir de la fin des années 1980 que la présence de bitume a été certifiée (Rullkötter et Nissenbaum 1988; Connan et Dessort 1989; 1991). Le bitume présente des propriétés antiseptique et hydrophobe, néanmoins plus que pour des raisons utilitaires il était notamment utilisé pour des raisons religieuses, la couleur noire en Egypte ancienne est « le symbole de la renaissance, de la force et de la virilité » (Connan 2005). Ce bitume provenait essentiellement des pourtours de la mer Morte.

Le bitume archéologique est le résultat d'une dégradation thermique sous haute pression de la matière organique dans les sédiments (Van de Velde et al. 2015). C'est une substance hétérogène qui est un mélange de divers matériaux. En effet, le bitume utilisé n'était pas forcément du bitume « *frais* », cela pouvait être du sable imprégné, des calcaires bitumineux (Fig. 40 et 41) (Lombardi 2007). Ce mélange de composés organiques (asphalte) et inorganiques (comme le calcaire) sera appelé bitume dans ce manuscrit.



Figure 40: Coulée de bitume dans la région de la mer Morte (geology-israel.co.il).



Figure 41: Epanchement de bitume dans la région de la mer Morte (geology-israel.co.il).

La fraction du bitume sur laquelle va porter la suite de l'étude est la fraction organique donc l'asphalte. Chimiquement cette fraction est composée de diverses familles chimiques. Tout d'abord les hydrocarbures saturés, la majorité de la partie organique, contenant des alcanes linéaires et ramifiés principalement. En figures 42 et 43 sont représentés quelques alcanes identifiés dans du bitume (Connan et Deschesne 1996).



Figure 42: *n*-alcane en C13.



Figure 43: Pristane en C19.

Ensuite il y a la fraction des stéranes (Fig. 44 et 45). Ce sont des hydrocarbures saturés tétracycliques provenant de réarrangements catalytiques des stérols (Connan et Deschesne 1996).

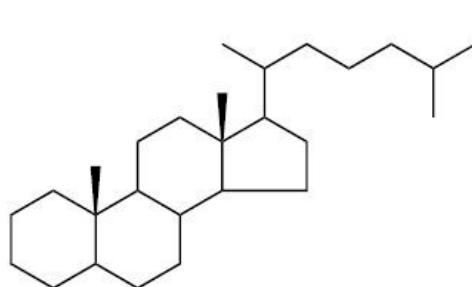


Figure 44: Stérane régulier en C27.

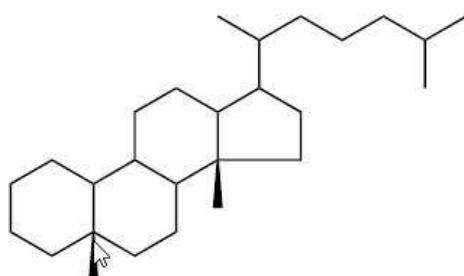


Figure 45: Diastérane en C27.

Enfin, il y a la fraction des hopanes (Fig. 46 et 47). Ce sont des hydrocarbures pentacycliques appartenant au groupe des triterpanes. Ils ont une origine bactérienne (Connan et Deschesne 1996).

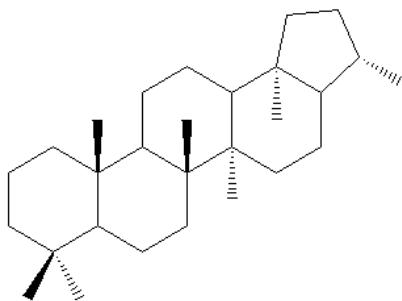


Figure 46: 17 α (H), 21 β (H) - hopane (C29).

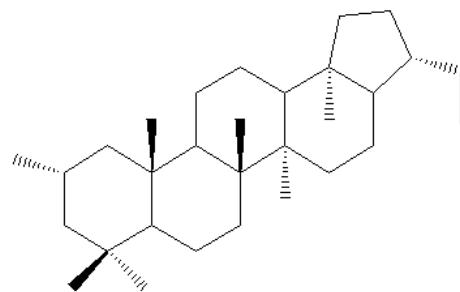


Figure 47: 2 α - méthyl - hopane (C30).

Ces deux dernières fractions, les stéranes et les hopanes sont des familles de molécules présentes en faible proportion au sein de bitumes (5%) archéologiques (Connan 2005).

3.5. Les gommes et polysaccharides

La gomme arabique est une gomme naturelle exsudée de divers genres d'*acacia*, la principale source de gomme arabique étant *Acacia nilotica* (Fig. 48) (Baum 1989). Il s'agit de polysaccharides très complexes, fortement ramifiés, qui se présentent sous la forme de mélanges de sels, de protéines et de sucres (principalement du galactose) (Anderson *et al.* 1990). Elles ont été utilisées par les égyptiens dans la préparation des baumes afin de coller les bandelettes (Yadav *et al.* 2007) mais aussi comme liant pour les inscriptions hiéroglyphiques.



Figure 48: Gomme arabique.

Le constituant principal de la gomme arabique est le galactoarabinose qui est un biopolymère de deux monosaccharides, l'arabinose et le galactose. Il y a également en faible proportion du rhamnose et de l'acide glucuronique (Fig. 49 à 52) (Phillips et Williams 2005).

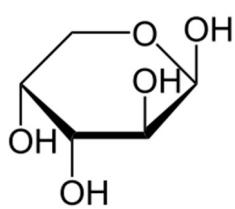


Figure 49: Arabinose.

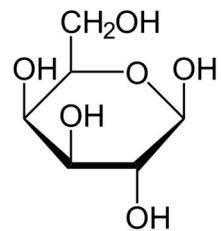


Figure 50: Galactose.

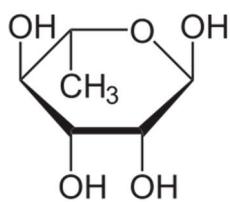


Figure 51: Rhamnose.

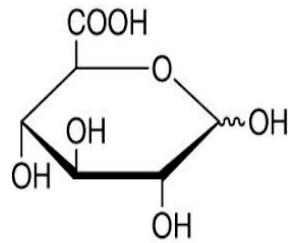


Figure 52: Acide glucuronique.

La provenance de polysaccharides au sein de baumes de momie peut donc être due à l'utilisation de gomme arabique. Cependant, il y a également des polysaccharides susceptibles d'être présents au sein des résines végétales.

3.6. Autres

Diverses autres substances ont également été utilisées pendant le processus de momification telles que des épices, des teintures végétales et des pigments. Elles étaient employées pour leur propriétés hydrophobe, odoriférante mais également cosmétique (Buckley 2001).

Deux épices sont mentionnées par Hérodote et Diodore, ce sont la cannelle de Ceylan (Fig. 53) et la cannelle de Chine (Casse) qui était moins coûteuse. Les composés phénoliques présents au sein de ces épices auraient servi à masquer les odeurs désagréables qui résultent de la putréfaction (Lucas et Harris 1962). Déetecter la présence d'épices peut être compliqué car ce sont des composés très volatils.



Figure 53: Cannelle de Ceylan.

Les teintures végétales ont régulièrement été utilisées pendant le processus de momification. Le henné par exemple ou le carthame, pour donner un esthétisme au défunt, ces colorants

étaient appliqués sur la paume des mains, sur la plante des pieds ou dans les cheveux (Hepper 1990; Fletcher et Montserrat 1998).

Certains pigments tels que les ocres étaient également employés pour peindre entièrement ou partiellement le défunt. A partir du Nouvel Empire les égyptiens ont utilisé des ocres rouges (Fig. 54) sur les individus de sexe masculin et les ocres jaunes pour ceux de sexe féminin (Marshall et Lichtenberg 2013).



Figure 54: Momie 90001599. Ocre rouge, HELLYCOM® « mourir pour renaitre » Annie Perraud.

3.7. Résumé

L'ensemble des matériaux utilisés lors de la formulation d'un baume a été détaillé dans ce chapitre. Dans la figure 55 ci-après sont résumées les principales molécules présentes au sein de chacun de ces matériaux, ainsi que les marqueurs principaux de vieillissement naturel ou de dégradation.

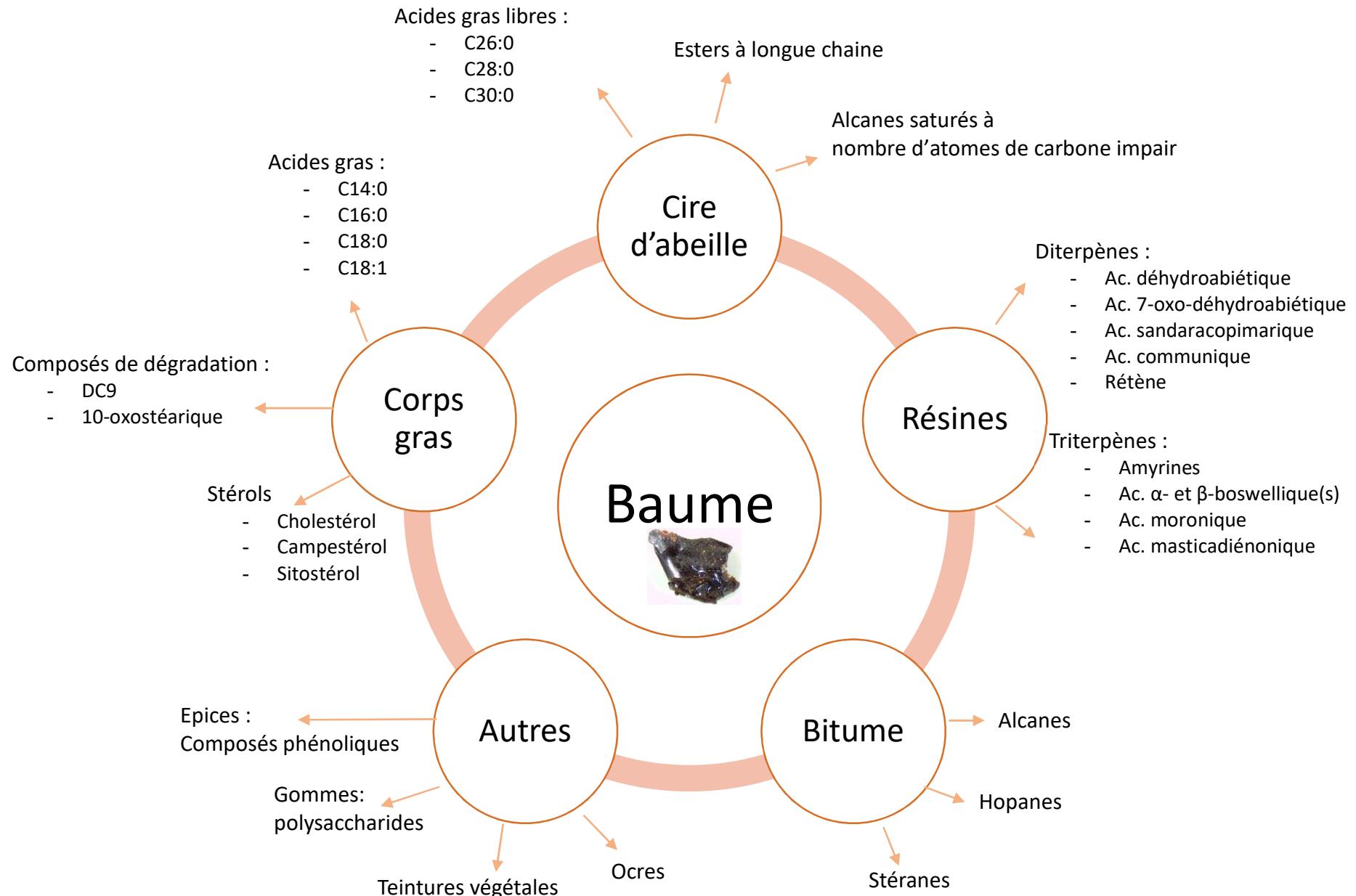


Figure 55: Schéma récapitulatif des matériaux et molécules pouvant être présents dans des baumes de momification.

Chapitre 2.

Présentation des échantillons archéologiques

Ce chapitre vise à renseigner sur l'ensemble des échantillons étudiés dans ce projet de recherche. Les informations sur l'âge, le sexe, la provenance géographique et la période des individus y sont décrites.

Dans le cadre de ce travail de thèse, 43 momies ont été étudiées dont 33 têtes de momies et 10 momies entières. Ces 43 individus sont composés de 16 femmes, 22 hommes et 5 sont, à ce jour, de sexe indéterminé. Une indication de l'âge de chaque individu est donnée : il y a 3 enfants, 1 adolescents, 4 jeunes adultes, 24 adultes, 5 adultes matures et 6 personnes âgées. Ce travail d'identification des sexes et de détermination des âges des divers individus a été réalisé par Madame Annie Perraud.

Une trentaine de ces individus ont été datés au carbone 14C (Tableau 4) par Madame Pascale Richardin, chercheure au Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France. La majorité des individus appartient aux quatre périodes d'Egypte Antique à savoir : 5 individus proviennent de la période Gréco-Romaine, 5 de la période Ptolémaïque à époque Gréco-Romaine, 9 de la Basse Époque à l'Époque Ptolémaïque et 6 de la Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque. 4 échantillons datent du Nouvel Empire ou de la période entre le Nouvel Empire et la Troisième Période Intermédiaire. Enfin un échantillon, chronologiquement très éloigné des autres, provient de la période prédynastique.

Tableau 4: Nombre d'individus en fonction de la période.

Période	Nombre d'individus
Prédynastique	1
Nouvel Empire	1
Nouvel Empire à Troisième Période Intermédiaire	2
Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque	6
Basse Époque à Époque Ptolémaïque	9
Époque Ptolémaïque à Gréco-Romaine	5
Gréco-Romaine	5
Indéterminée à ce jour	14

Pour ce qui est de la localisation géographique, la provenance de 9 de ces individus n'est pas connue. Pour le reste (Fig. 56), le nombre d'individus par nécropole est précisé et ils proviennent tous de Haute-Egypte.



Figure 56: Localisation des sites de localisation des sites des momies en Haute et Basse Egypte.

Les figures suivantes représentent des histogrammes scindés en catégories homme/femme dans le but de voir leur répartition en fonction de la localisation géographique, de l'âge des individus et de leur datation.

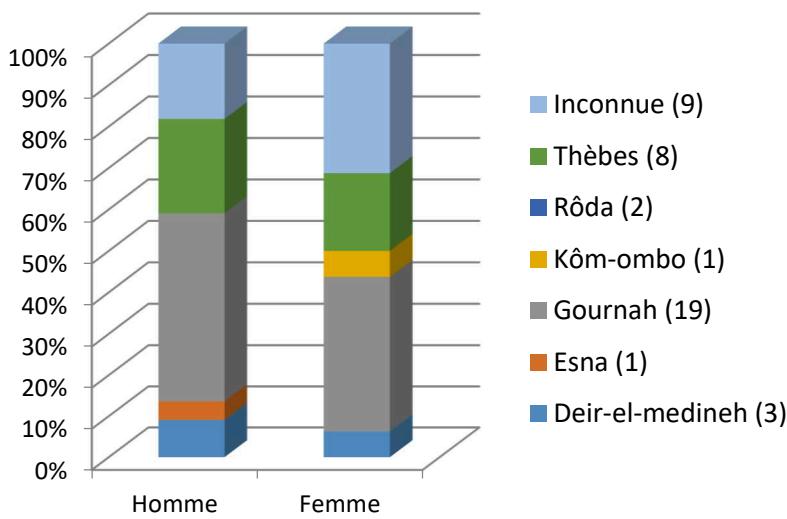


Figure 57: Répartition des hommes et des femmes en fonction de la provenance géographique.

Les données ont été normalisées dans le but d'observer au mieux les proportions. Au regard de la figure 59, si les inconnues sont enlevées, il y a une répartition quasi identique de chaque nécropole par sexe. Hormis pour la ville d'Esna et Kôm-Ombo, dont cette étude ne comporte qu'un seul individu.

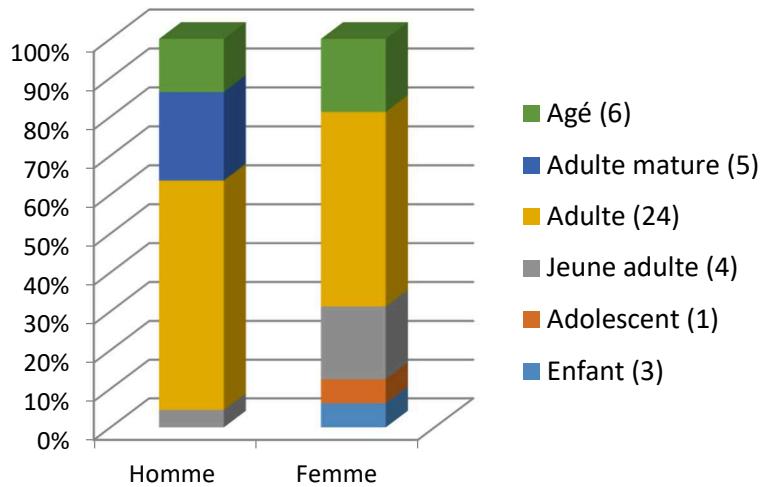


Figure 58: Répartition des hommes et des femmes en fonction de l'âge.

Pour la répartition des hommes et des femmes en fonction de l'âge (Fig. 60), il y a certaines différences. En effet, les adultes matures ne sont représentés que par des hommes tandis que les jeunes adultes sont beaucoup plus représentés par des femmes. La proportion d'adolescents est quasi identique pour les deux sexes. Le seul enfant de sexe connu est une fille mais avec ce seul individu dans cette tranche d'âge, il est difficile de faire des extrapolations par manque de données significatives.

Au vu de la figure 61, si les individus de datation inconnue sont omis, il y a une répartition égale des hommes et des femmes au sein des échantillons de la Basse Époque à la période Gréco-Romaine. Du Nouvel Empire à la Troisième Période Intermédiaire et de la Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque les individus ne sont représentés que par le sexe masculin. Enfin, les individus datant du Nouvel Empire et de la période prédynastique ne sont représentés que par le sexe féminin. Il sera intéressant de comparer le baume de la momie prédynastique car de datation très éloignée comparativement aux autres.

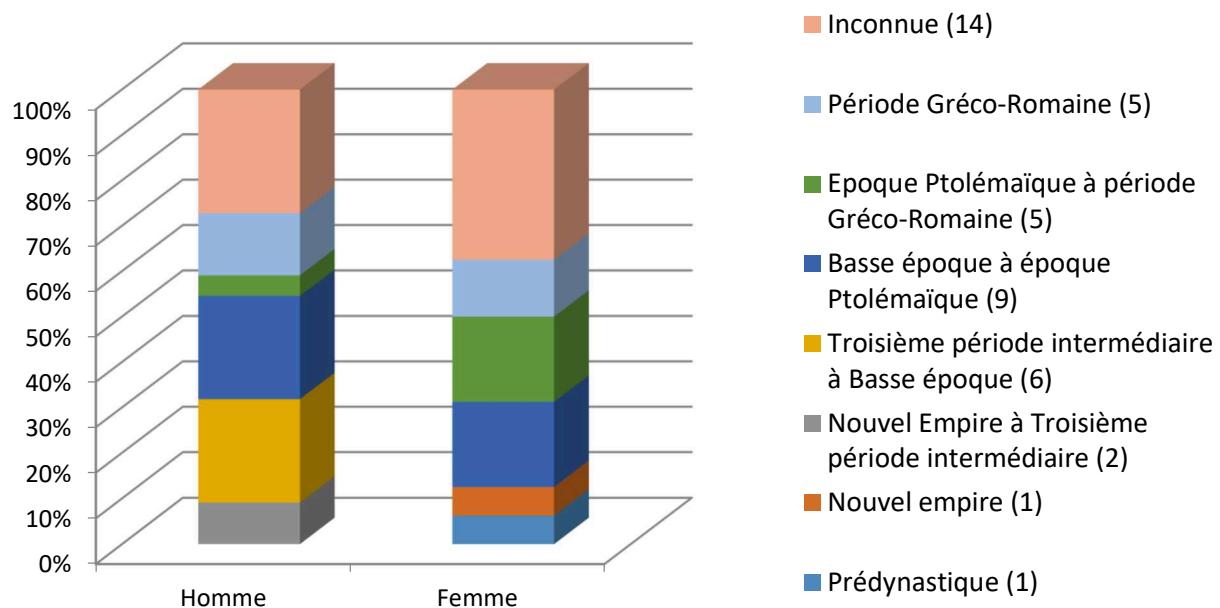


Figure 59: Répartition des hommes et des femmes en fonction de la période historique.

Parmi ces 43 momies, certaines ont fait l'objet de prélèvements dans des zones différentes afin de vérifier la cohérence et la constance de la composition chimique des baumes. Des échantillons de textile imprégné ou encore de la poudre formée au-dessus des baumes ont été également prélevés sur certains individus, ce qui a donné pour cette étude un nombre total de 61 prélèvements. Les détails de chacun d'entre eux sont regroupés dans le tableau 5 ci-après. Y sont regroupés la référence des échantillons, le sexe, une indication de l'âge, la provenance, la datation au carbone ^{14}C , la masse prélevée, la localisation de prélèvement et les photographies associées. Afin de faciliter la notation des échantillons, il a été choisi de leur donner un numéro propre au laboratoire, ces numéros sont ceux qui seront utilisés dans la suite de ce manuscrit.

La collection étudiée dans ces travaux est très riche en terme de la période historique couverte, des divers sites géographiques et des âges des individus. De fait, elle est très variée avec de nombreux paramètres qui vont pouvoir influer lors de la comparaison des résultats. De plus, la présence de momies entières et de têtes dans ce corpus d'individus peut induire un biais dans les résultats. En effet, la collecte des têtes (sans les corps) peut engendrer une perte significative d'information quant à la composition globale des baumes correspondants et ainsi ne pas être représentatif en terme d'hétérogénéité ou d'homogénéité comparativement à des baumes prélevés en différents endroits des corps des défunt.

L'ensemble des photographies des momies sont la propriété de ©HELYCOM

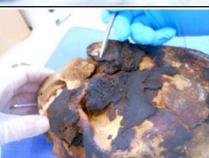
Tableau 5: Informations sur l'ensemble des 61 prélèvements. ©HELYCOM « mourir pour renaitre » Annie Perraud.

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000104	Femme	Adulte	Inconnue	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	29	0.3209	Exterieur côté gauche	
30000107	Femme	Agée	Gournah	Non renseigné	68	0.0175	Côté gauche, haut du crâne	
30000110	Homme	Adulte	Thèbes-Gournah	Période gréco-romaine	14	0.0406	Derrière oreille droite	
30000111	Homme	Agé	Gournah	Période gréco-romaine	34	0.7176	Intracrânien	
30000114	Femme	Agée	Thèbes	Époque Ptolémaïque à période gréco-romaine	1	0.0346	Externe temporelle côté droit	
30000125	Homme	Adulte	Gournah	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	5	0.0299	Derrière oreille gauche	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000144	Homme	Mature à Âgé	Inconnue	Époque Ptolémaïque à période gréco-romaine	6	0.0262	Externe sur la tempe du côté gauche	 
30000146	Femme ?	Adulte	Thèbes	Non renseigné	35	2.4163	Sur le crâne	 
30000133	Homme	Adulte mature	Gournah	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	22	0.0641	Base crâne	 
					23	0.036	Intrabuccale	 
					24	2.5563	Externe	
30000134	Homme	Adulte	Gournah	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	4	0.0263	Externe arrière crâne (bas à gauche)	 

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000139	Femme	Adulte jeune	Gournah	Époque Ptolémaïque à période gréco-romaine	15	0.0558	Narine droite	 
					16	0.021	Intrabuccale voile du palais	 
30000142	Homme	Adulte	Gournah	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	62	0.0314	Arrière de la tête, côté droit	 
					63	0.0387	Foramen magnum interne	
30000143	Homme	Adulte	Thèbes	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	12	0.0706	Cavité orbitale droite	 
					37	0.2923	Intérieur canal rachidien cervical	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000148	Homme	Agé	Thèbes	Non renseigné	17	0.0412	Cou partie supérieure	 
					18	0.0205	Externe gauche crâne	 
30000150	Homme	Adulte	Deir el-Medineh	Non renseigné	19	0.4307	Oreille gauche externe	 
					20	0.7498	Sable interne	 
					21	0.1886	Externe tempe droite	
					33	0.803	Sable	 

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000152	Femme	Adolescente	Thèbes	Période gréco-romaine	2	0.0233	Partie postérieure du cou (haut du cou)	 
30000285	Homme	Adulte mature à Âgé	Thèbes	Non renseigné	26	0.0271	Côté gauche	 
30000286	Homme	Adulte mature à Âgé	Esneh	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	10	0.0581	Interne du cou	 
					11	0.0303	Mandibule	 
30000304	Homme	Adulte	Inconnue	Non renseigné	25	0.0381	Crâne arrière	 
30000306	Femme	Adulte jeune	Deir el-Medineh	Non renseigné	3	0.0295	Tempe droite	 

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
30000306	Femme	Adulte jeune	Deir el-Medineh	Non renseigné	30	0.4521	Sable externe coloré	
					31	0.0503	Sable intrabuccale	
30000308	Homme	Adulte	Deir el-Medineh	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	27	0.0268	Intragorge	
30000364	Femme	Adulte	Inconnue	Non renseigné	13	2.0871	Externe crâne	
90001402	Homme	Adulte	Inconnue	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	8	0.1732	Haut crâne	
					9	0.1287	Textile pubis	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
90001635	Femme	Jeune adulte	Inconnue	Prédynastique	38	0.043	Rachis lombaire interne L4	
					39	0.2809	Intra(endo)cra-nien foramen magnum	
90001258	Homme	Adulte	Gournah	Période gréco-romaine	40	0.1195	Poignet droit	
90001169	Homme	Jeune adulte	Thèbes	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	41	0.1674	Arrière crâne	
90001259	Femme	Adulte	Kôm Ombo	Époque Ptolémaïque à période gréco-romaine	47	0.2197	Pied droit (dessous du pied)	
90001265	Homme	Adulte mature	Inconnue	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	48	0.1723	Textile bandelette pied gauche	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
90001598	Femme	Adulte	Inconnue	Nouvel Empire	53	0.1259	Clavicule droite haut du thorax	
90001626	Indéterminé	Enfant	Rôda	Non renseigné	59	0.1293	Col du fémur gauche	
90002978A	Homme	Adulte mature	Gournah	Non renseigné	60	0.065	Tête	
90001627	Indéterminé	Enfant	Rôda	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	61	0.2255	Interne près de l'acetabulum gauche	
90001948A	Homme	Adulte	Gournah	Nouvel Empire à début Troisième Période intermédiaire	44	0.1054	Tête	
					45	0.0516	Externe	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
90001948A	Homme	Adulte	Gournah	Nouvel Empire à début Troisième Période intermédiaire	46	0.0749	Arrière du crâne, base du cou	
90001949A	Femme	Agée	Gournah	Période gréco-romaine	49	0.0836	Mandibule droite	
90001950A	Femme	Adulte	Gournah	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	52	0.1532	Textile côté droit du crâne	
90001951A	Indéterminé	Adulte	Gournah	Non renseigné	50	0.0372	Sous oreille gauche	
					51	0.1706	Derrière mandibule gauche	
90001953A	Homme	Adulte	Gournah	Nouvel Empire à début Troisième Période intermédiaire	58	0.7448	Endocranien	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
90001954A	Indéterminé	Adulte	Gournah	Époque Ptolémaïque à période gréco-romaine	65	0.0774	Sous malaire gauche (joue)	
90001955A	Femme	Adulte	Gournah	Non renseigné	64	0.1298	Base du crâne (interne)	
90001956A	Femme	Jeune fille	Gournah	Non renseigné	56	0.0361	Base du cou (côté gauche)	
90001957A	Indéterminé	Adulte	Gournah	Troisième Période intermédiaire à Basse Époque	57	0.1461	Occipital gauche	
90001257	Homme	Adulte	Gournah	Non renseigné	43	0.078	Tampon abdominal en interne	
					69	0.205	Cavité abdominale, à gauche de l'orifice d'éviscération	

N° inventaire	Sexe	Indication âge	Provenance	Datation 14C	Numéro laboratoire	masse (g)	Localisation Prélèvement	Photographies
90001597	Femme	Adulte	Inconnue	Basse Époque à Époque Ptolémaïque	66	0.1249	Épaule droite (origine externe)	 

Chapitre 3.

Méthodologie, démarche expérimentale et techniques

Cette partie décrit la méthodologie concernant l'étude et les traitements des divers échantillons archéologiques étudiés : du prélèvement aux techniques analytiques employées en passant par les divers protocoles expérimentaux optimaux employés après mise au point et/ou optimisation.

La méthodologie de traitement des échantillons utilisée pour ces travaux de recherches est représentée dans la figure 60.

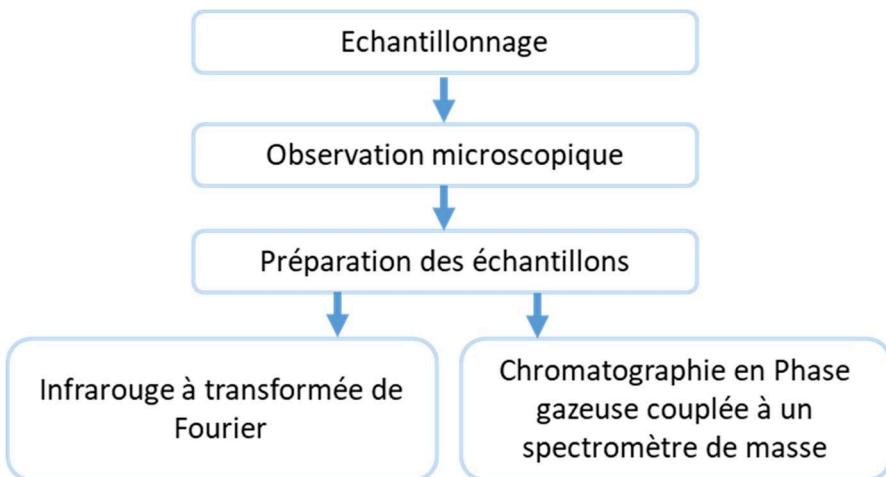


Figure 60: Méthodologie de traitement des échantillons.

Le détail de chacune des parties de ce schéma est développé ci-après.

1. Echantillonnage

Tous les échantillons étudiés ont été prélevés en accord avec la norme européenne EN 16085 :2012, Conservation des biens culturels - Méthodologie d'échantillonnage des matériaux - Règles générales. Une quantité minimale d'échantillon a ainsi été récupérée (de l'ordre du mg) puis placée dans du papier aluminium afin d'éviter toute éventuelle contamination due notamment aux phtalates des matières plastiques.

2. Observation macroscopique et microscopique des échantillons

Dans une première étape, tous les échantillons ont été observés sous loupe binoculaire puis sous microscope optique à lumière polarisée (microscope polariseur analyseur) dans le but de vérifier leur caractère homogène ou hétérogène. Le microscope optique permet également de discriminer la présence de composés organiques et/ou inorganiques à l'aide de la lumière polarisée. Plus précisément, il va permettre de déterminer l'isotropie ou l'anisotropie du matériau. Un matériau isotrope est un matériau dont les propriétés sont identiques quelle que soit la direction d'observation et inversement pour un matériau anisotrope.

3. Traitement des échantillons

Une description des divers protocoles de traitement des échantillons employés *in fine* est présentée ici. Certains d'entre eux ont été optimisés et/ou élaborés dans le cadre de ces travaux de recherche ; le détail de leur mise au point est présenté dans la suite de ce manuscrit.

3.1. Réactifs et solvants

Le tableau 6 ci-après résume les divers réactifs et solvants employés lors des expérimentations réalisées. A noter que tous les solvants employés sont de grade analytique, c'est-à-dire de haute pureté et destinés à l'utilisation d'appareils analytiques tel que la CPG-SM.

Tableau 6: liste des réactifs et solvants utilisés.

Réactifs/Solvants	Numéro CAS	Fournisseur
Acide chlorhydrique 37% (HCl)	7647-01-0	Acros organics
Acide acétique glacial (AcOH)	61-19-7	Acros organics
Bromure de potassium (KBr)	03-02-7758	Fisher
Chloroforme (CHCl ₃)	67-66-3	VWR
Dichlorométhane (DCM)	75-09-2	Merck
Ether diéthylique (DEE)	60-29-7	VWR
Ethanol (EtOH)	64-17-5	Merck
Hexane	110-54-3	Merck
Hydroxyde de potassium (KOH)	1310-58-3	Panreac
Isopropanol (i-PrOH)	63-67-0	VWR
Méthanol (MeOH)	67-56-1	Sigma-Aldrich
N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide /triméthylchlorosilane (BSTFA/TMCS)	25561-30-2	Sigma-Aldrich
Tétrahydrofurane (THF)	109-99-9	VWR

3.2. Échantillons contemporains de référence

Pour l'établissement des protocoles ainsi que l'interprétation des résultats, des substances de référence ont été employées (Tableau 7).

Tableau 7: Substances naturelles de références employées.

Matériaux et description	Provenance
Résine colophane : Kolophonium hellst	Kremer Pigmente
Résine mastic de Chios	Kremer Pigmente
Bitume	Mer Morte
Bitume commercial	Artech
Cire d'abeille	Kremer Pigmente
Huile d'olive	Puget

3.3. Protocoles expérimentaux

3.3.1. Formation de dérivés triméthylsilylés

La triméthylsilylation a été effectuée à l'aide de *N,O*-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide /triméthylchlorosilane (BSTFA/TMCS) (Fig. 61). Cela permet de triméthylsilyler les fonctions acide carboxylique et alcool, présentes au sein des diverses molécules étudiées, afin notamment de les rendre plus volatiles. Le TMCS est un catalyseur acide qui permet d'accélérer la réaction. Après évaporation à sec sous flux d'azote, 200 µL de BSTFA/TMCS (99/1 ; v/v) sont ajoutés et chauffés à 70°C pendant 30 min.

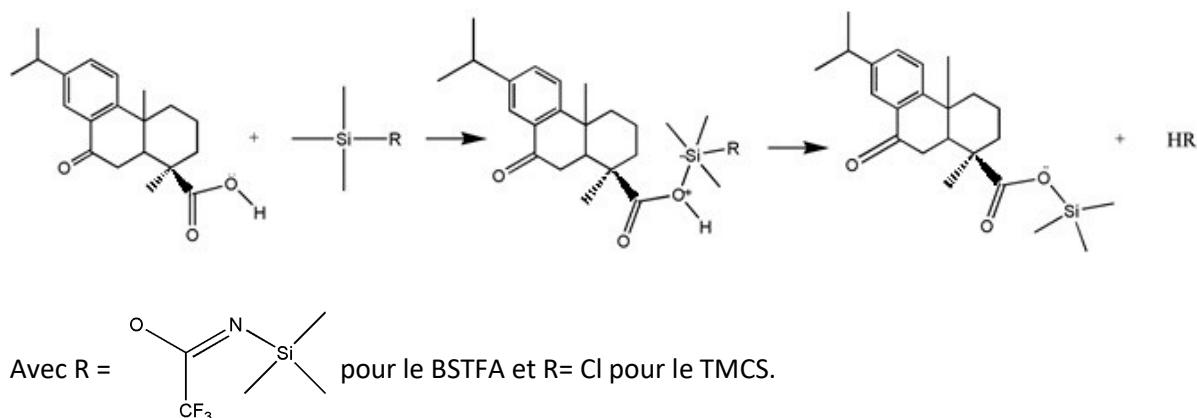


Figure 61: Schéma réactionnel du BSTFA/TMCS sur l'acide 7-oxo-déhydroabiétique.

La triméthylsilylation a été choisie ici plutôt que la méthylation car certaines molécules recherchées, caractéristiques de certaines formulations de baumes, sont méthylées. Ainsi,

l'éventuelle caractérisation de dérivés méthylés peut être attribuée avec assurance aux composés présents dans les échantillons archéologiques et non pas à cette étape de préparation des échantillons.

3.3.2. Ultrasons

L'extraction par ultrasons est réalisée dans un prototype PEX 3 (R.E.U.S., Contes, France) contenant une sonde de 25 KHz, 150 W, représentée sur la figure 62. La capacité maximale de l'appareil est de 3 L. La puissance est fixée à 150 W.

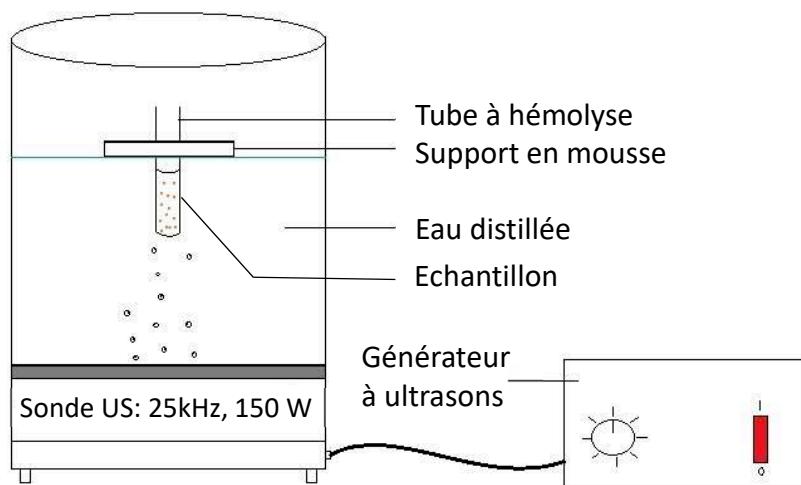


Figure 62: Schéma du prototype PEX3 (Mazzitelli, 2017).

3.3.3. Extraction au dichlorométhane

10 mg d'échantillon sont extraits avec 1 mL de DCM aux ultrasons pendant 10 min puis centrifugés à 6000 rpm pendant 10 min. Le surnageant est mis de côté pour extraire de nouveau le culot solide. Cette étape est répétée 2 fois. Les trois fractions ainsi recueillies sont ensuite rassemblées et évaporées à sec sous flux d'azote. Après avoir subi une réaction de triméthylsilylation, le mélange est de nouveau évaporé à sec sous flux d'azote puis dissout dans 0,2 à 1 mL d'un mélange hexane/DCM (1/1 ; v/v) et filtré sur cartouche de polytétrafluoroéthylène (PTFE ; 0,45 µm ; VWR). 1 µL de la solution est injecté en CPG-SM.

3.3.4. Extraction en Phase Solide (SPE)

10 mg d'échantillon sont extraits avec 1 mL d'hexane/THF (1/1 ; v/v) aux ultrasons pendant 5 min puis centrifugés à 6000 rpm pendant 5 min. Le surnageant est mis de côté pour extraire

de nouveau le culot solide, ces étapes sont réalisées 3 fois. Les trois fractions sont rassemblées et évaporées à sec sous flux d'azote, puis reprises dans 500 µL hexane/THF (1/1 ; v/v). Cette solution est appelée la charge.

En parallèle, une cartouche SPE Strata[®]NH₂, 200 mg/3 mL (Phenomenex) est conditionnée avec 4 mL d'hexane. La charge est déposée sur la cartouche, puis une première élution est réalisée avec 4 mL d'hexane et récoltée dans un tube à hémolyse (fraction 1). Une deuxième élution est réalisée avec 4 mL d'EtOH puis récoltée dans un autre tube (fraction 2). Enfin une dernière élution est effectuée avec 4 mL de DEE et AcOH à 2% (fraction 3). Chaque fraction est évaporée à sec sous flux d'azote.

Après triméthylsilylation, les fractions 1 et 2 sont reprises avec 60 µL d'un mélange hexane/DCM (2/1 ; v/v) tandis que la fraction 3 est reprise dans 1,5 mL d'hexane/DCM (2/1 ; v/v). Les trois fractions filtrées sur cartouche de PTFE (0,45 µm) avant injections respectives en CPG-SM.

3.3.5. Saponification

10 mg d'échantillon sont extraits avec 1 mL de THF aux ultrasons pendant 5 min puis centrifugés à 6000 rpm pendant 5 min. Le surnageant est mis de côté pour extraire de nouveau le culot solide. Cette étape est répétée 2 fois.

Les trois fractions sont alors rassemblées dans un ballon de 25 mL et 2 mL d'une solution de KOH 10% dans MeOH/H₂O (9/1 ; v/v) sont ajoutés. Le mélange est mis sous agitation magnétique et chauffé à 65°C pendant 1 heure. Après refroidissement à température ambiante suivi d'une évaporation aux 2/3 de la solution, 3 mL d'eau bidistillée sont ajoutés ainsi que 1 mL d'HCl 5M. Une extraction liquide/liquide de la phase aqueuse est réalisée trois fois avec 5 mL de DEE. La phase organique est récupérée et séchée avec du sulfate de sodium anhydre, puis filtrée sur papier filtre. La solution est alors évaporée à sec sous flux d'azote, triméthylsilylée, reprise dans 1 mL d'hexane/DCM (2/1 ; v/v), filtrée sur cartouche de PTFE (0,45 µm) et injectée en CPG-SM.

3.3.6. Extraction spécifique des résines diterpéniques

10 mg d'échantillon sont extraits avec 1 mL de DCM/acétone (2/1, v/v) aux ultrasons pendant 5 min puis filtrés (cartouche PTFE 0,45 µm, VWR). 1 mL de DCM et 1 mL de KOH (0,5M) sont

ajoutés et le mélange est centrifugé à 6000 rpm pendant 15 min. Après séparation des deux phases, seule la fraction organique est conservée à laquelle est ajouté 1 mL de KOH (0,5M), puis centrifugée à 6000 rpm pendant 15 min. Après séparation des deux phases, la phase aqueuse est acidifiée et est extraite avec du DCM, la phase organique est séchée avec du sulfate de sodium anhydre puis filtrée sur cartouche PTFE (0,45 µm). La solution est alors évaporée à sec sous flux d'azote, triméthylsilylée et injectée en CPG-SM.

4. Techniques analytiques

Plusieurs outils d'analyse ont été utilisés afin d'étudier les baumes de momies. La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) a d'abord été employée afin de caractériser la présence de composés organiques et/ou inorganiques. La fraction organique a été ensuite analysée en Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM).

4.1. Infrarouge à transformée de Fourier

4.1.1. Principe de l'infrarouge

La spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier est une technique d'analyse structurale vibrationnelle qui permet de préciser la nature des liaisons entre atomes dans une molécule. L'infrarouge comporte trois domaines représentés dans la figure 63 ci-dessous :

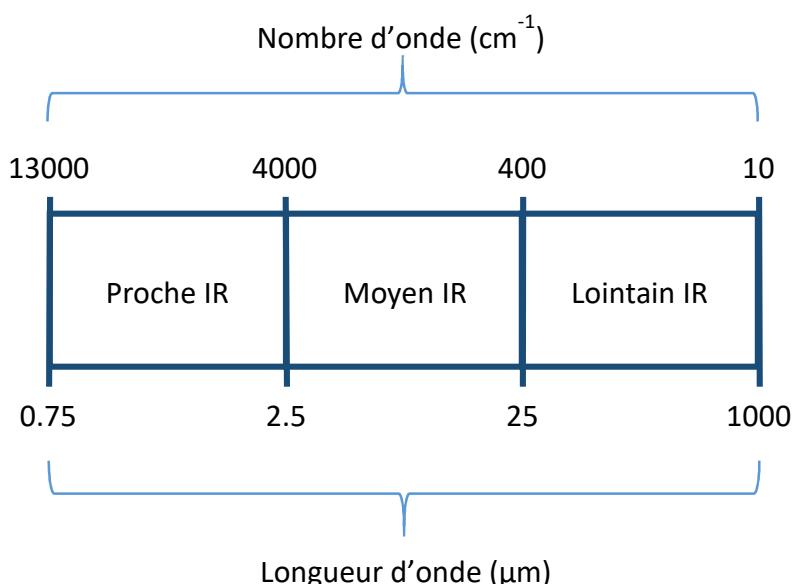


Figure 63: Les 3 domaines spectraux du rayonnement infrarouge.

Le moyen IR est la région la plus adaptée pour ces travaux de recherche car il permet l'analyse de composés organiques ou inorganiques. Ces composés possèdent des liaisons interatomiques qui entrent en vibration sous l'action d'un rayonnement infrarouge à des longueurs d'onde caractéristiques. Il existe différents types de vibrations, notamment deux très importants, l'élargissement (stretching angl.) qui est un mouvement des atomes suivant leur axe de liaison et la déformation (bending angl.) qui est un mouvement des atomes avec variation des angles de liaison. L'IR-TF permet donc de mesurer les énergies de vibrations caractéristiques des liaisons chimiques (méthyle, méthylène, alcool, acide carboxylique, ...etc.) de tous les composants présents dans les produits analysés en fonction du nombre d'onde. Un traitement est ensuite nécessaire pour convertir les données brutes en spectre infrarouge (avec en abscisse le nombre d'onde et en ordonnée l'intensité du signal) *via* l'application d'un algorithme appelé Transformée de Fourier.

4.1.2. Appareillages

Les analyses ont été effectuées avec deux appareillages différents.

Le premier est un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier Thermo Scientific™ Nicolet™ iN10 et iZ10 en mode transmission et un détecteur DTGS (Deuterated Triglycine Sulfate). Le module principal iN10 est un microscope intégré permettant de réaliser de l'imagerie et le module complémentaire iZ10 qui permet d'analyser des pastilles de KBr sans faire d'imagerie. Pour une analyse en transmission, l'échantillon est placé dans le faisceau infrarouge, l'énergie ainsi générée est mesurée afin de donner un spectre. Le détecteur DTGS est un thermodétecteur pyroélectrique, c'est-à-dire qu'il réagit à un changement de température dû à une variation de polarisation électrique. Il est sensible de 4000 à 400 cm^{-1} et fonctionne à température ambiante.

Le second est un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier Thermo Scientific™ Nicolet™ iS10, en mode ATR et un détecteur MCT (Mercury Cadmium Telluride). L'utilisation du mode ATR est basée sur le principe optique de l'absorption, c'est une méthode qui ne nécessite pas de préparation de l'échantillon. Le détecteur MCT est un photodétecteur, il fonctionne par absorption de photons infrarouges. Il fonctionne à très basse température.

Tous les spectres résultants sont interprétés à partir des bandes obtenues et de leur nombre d'onde respectif, mais aussi à l'aide d'une base de données comprenant des spectres des matériaux de référence et à l'aide de la littérature scientifique.

4.1.3. Acquisition des données

4.1.3.1. Mode transmission avec pastilles de KBr

1 mg d'échantillon est mélangé à 150 mg de bromure de potassium KBr et homogénéisé à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Le mélange est mis sous presse avec une pression de 10 T.cm⁻² dans le but de former une pastille KBr. Les acquisitions sont moyennées sur 64 scans balayant le domaine du nombre d'onde compris entre 4000 et 400 cm⁻¹ et traitées *via* le logiciel OMNIC 9.8.

4.1.3.2. Mode transmission avec micro-compression diamant et mapping

La cellule de micro-compression diamant est utilisée pour les échantillons solides ou semi liquides. Elle permet de compresser un échantillon entre deux fenêtres en diamant d'une taille de 2 mm et de l'analyser en mode transmission sur le module imagerie intégré. C'est une technique d'analyse permettant de balayer la gamme de nombre d'onde de 4000 à 400 cm⁻¹. Les acquisitions sont moyennées sur 64 scans balayant le domaine du nombre d'onde compris entre 4000 et 400 cm⁻¹ et traitées *via* le logiciel OMNIC 9.8.

Pour ce type d'analyse, quelques grains d'échantillon, sont choisis préalablement sous loupe binoculaire et sont placés sur la cellule puis compressés.

Pour les échantillons très hétérogènes, l'assistant « Particles Wizard » a été utilisé car il permet d'analyser automatiquement la totalité des particules présentes au sein de la cellule. Il est possible de choisir préalablement la taille minimale des particules à analyser et également d'adapter la taille du faisceau lumineux pour chaque particule. Cet assistant est présent dans le logiciel d'analyse infrarouge OMNIC 9.8.

4.1.3.3. Réflectance totale atténuee (ATR)

L'échantillon est directement placé sur la cellule ATR sans aucune préparation préalable. Les acquisitions sont moyennées sur 100 scans et traitées *via* le logiciel Unscrambler.

Ce module permet de réaliser de la quantification car il y a la même profondeur de pénétration pour une même longueur d'onde pour chaque échantillon. Il s'agit d'un cristal en diamant qui permet donc de balayer la zone spectrale de 4000 à 400 cm^{-1} . La zone spectrale choisie pour les analyses est de 1800 à 700 cm^{-1} , car c'est la zone infrarouge où il y a le plus de pénétration du faisceau au sein de l'échantillon. Suite aux analyses, les données des spectres ont été traitées avec le logiciel Unscrambler.

4.2. Extraction en phase solide (Solid Phase Extraction, angl., SPE)

L'extraction en phase solide est un procédé de préparation d'échantillon, couramment utilisé pour l'extraction d'analytes de matrices complexes, au cours duquel les composés dissous ou en suspension dans un mélange liquide, sont séparés des autres composés, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Cette méthode permet l'extraction, la purification et l'enrichissement en composés. De plus, elle est rapide, facile à réaliser et de faibles quantités de solvants sont nécessaires. L'extraction en phase solide utilise la différence d'affinité entre un analyte et les interférents, présents dans la phase mobile et la phase stationnaire. Cette affinité permet la séparation d'analytes ciblés du reste des interférents. Classiquement, elle nécessite quatre étapes (Fig. 64).

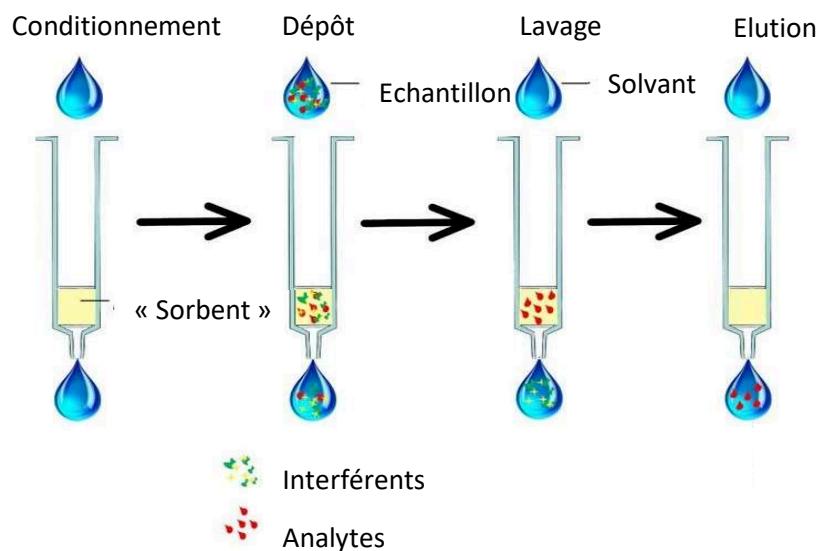


Figure 64: Schéma général des différentes étapes de la SPE (M. A. Sandoval Riofrio, 2016).

Tout d'abord, la cartouche SPE est équilibrée ou conditionnée avec un solvant pour activer le « sorbent », puis la solution à analyser est percolée à travers la phase solide. Idéalement, l'analyte et certaines impuretés sont retenus sur le sorbent. Ensuite la cartouche est lavée pour éliminer ces impuretés et enfin l'analyte est collecté au cours de l'étape d'élution.

4.3. Chromatographie en Phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

4.3.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation des molécules d'un mélange complexe de natures diverses. La séparation repose sur l'affinité du mélange entre une phase mobile et une phase stationnaire. Elle s'applique à des composés susceptibles d'être vaporisés sans subir de dégradation. L'appareillage, alimenté par un gaz vecteur, est composé d'un injecteur, d'une colonne, d'un four et d'un détecteur (Bouchonnet 2009) (Fig. 65).

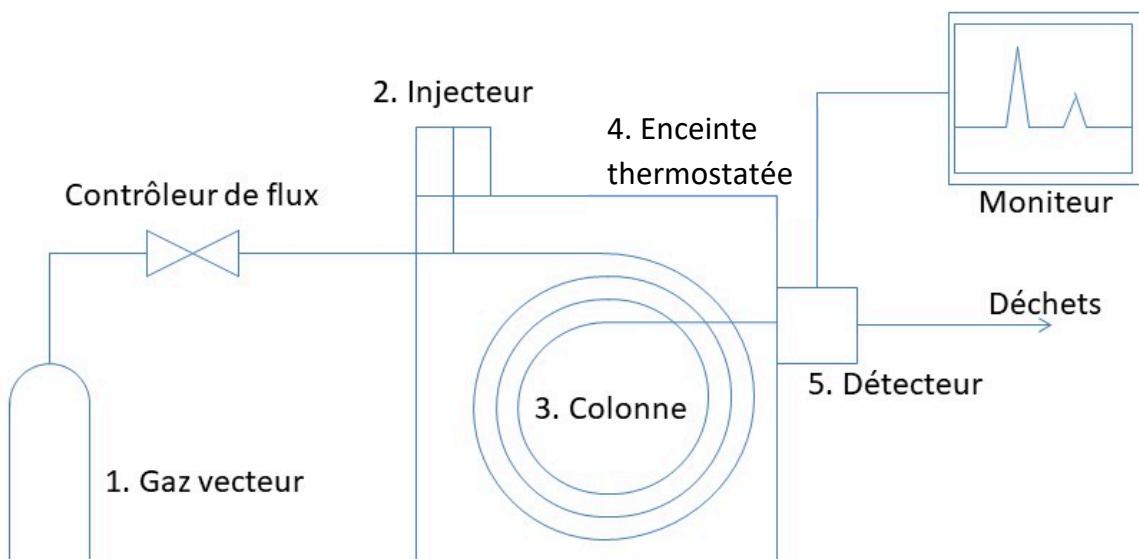


Figure 65: Schéma d'un appareil à chromatographie gazeuse (Azemard, 2015).

Le gaz vecteur permet d'entrainer les analytes à travers la colonne depuis l'injecteur jusqu'au détecteur. Les phases mobiles les plus employées sont l'hélium, le dihydrogène, l'argon, le

diazote etc. De plus, le débit varie en fonction de la température, c'est un paramètre important car il influe sur le profil de séparation du chromatographe.

L'injection peut être manuelle ou automatisée, et consiste à introduire les analytes dans l'appareil en vaporisant une solution, afin d'amener les composés à la colonne qui contient la phase stationnaire. Parmi le choix des modes d'injecteur, l'injecteur avec ou sans division (split/splitless) est le plus répandu. Le mode split permet de ne pas injecter l'échantillon dans sa totalité afin d'éviter de surcharger la colonne. Le mode splitless est utile pour analyser des solutions très diluées ou l'analyse de traces.

La colonne est le lieu de séparation des composés. Les colonnes actuelles sont des colonnes capillaires, colonnes tubulaires ouvertes dont la phase stationnaire est déposée sur la paroi interne. La phase stationnaire est choisie en fonction des composés à analyser et de leur polarité.

La chromatographie en phase gazeuse nécessite de volatiliser les différents composés, en appliquant à l'enceinte thermostatée un gradient de température permettant d'éluer en premier lieu les molécules avec une température de volatilisation faible et par la suite les molécules avec des températures de volatilisation croissantes.

Le détecteur va quant à lui rendre possible la mesure du signal émis par les molécules et leur identification. Il existe de nombreux détecteurs pour la chromatographie en phase gazeuse, les deux plus connus pour la détection des composés organiques sont le Détecteur à Ionisation de Flamme (FID) et le Spectromètre de Masse (SM) qui est une technique de couplage.

4.3.2. Principe de la spectrométrie de masse

Il s'agit d'une technique de caractérisation de la matière qui repose sur la détermination des masses atomiques ou moléculaires des espèces. Un spectromètre est composé d'une source rendant possible la production d'ions en phase gazeuse, d'un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) et d'un détecteur qui convertit le courant ionique en courant électrique. Le traitement du signal aboutit à la représentation des données sous la forme d'un spectre de masse. Il existe de nombreuses sources et analyseurs, mais seules la source par impact électronique (IE) et la trappe à ions comme analyseur vont

être détaillées ici (Fig. 66), car ces deux modules correspondent à l'appareillage utilisé dans ces travaux de recherche.

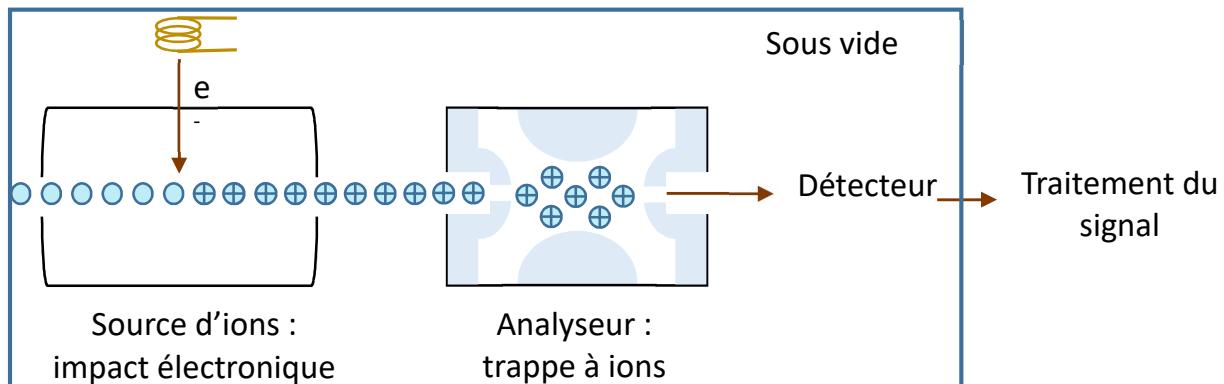


Figure 66: Schématisation du spectromètre de masse utilisé.

L'impact électronique est une source de formation d'ions qui consiste à provoquer des « collisions » entre des molécules sans charges initiales et des électrons obtenus par effet thermo-ionique. Il n'y a pas à proprement parler d'impact des électrons sur les molécules, le terme « d'ionisation électronique » devrait être employé plutôt que celui « d'ionisation par impact électronique ». Lors de cette rencontre, un électron est arraché de la molécule M, la transformant en un ion radical M^{*+} . Les ions créés acquièrent une telle énergie qu'ils se fragmentent de manière caractéristique selon leurs groupes fonctionnels et leur structure. Ce type de source caractérisée de dure, donne un spectre de masse avec de nombreux fragments et donc très riche en informations structurales, mais avec parfois pour inconvénient la perte de l'ion moléculaire (De Hoffmann et Stroobant 2005).

La trappe à ions (également appelée quadripôle ion trap ou quistor) est un analyseur quadripolaire qui permet de séparer les ions selon leur m/z . Cet analyseur est basé sur un système de trois électrodes (annulaire, supérieure et inférieure) et de champs électriques tridimensionnels. Une radiofréquence (RF) fixe est appliquée sur l'électrode dite annulaire, et une autre radiofréquence est appliquée sur les deux autres électrodes afin de produire un champ quadripolaire où chaque ion va acquérir un mouvement oscillant dont l'amplitude et la fréquence dépendent du rapport m/z . Les ions vont alors être stabilisés selon une trajectoire complexe en forme d'infini. Les ions vont ensuite être éjectés en fonction de leur masse croissante en augmentant progressivement la tension pour déstabiliser leur trajectoire (Bouchonnet 2009).

En fin d'appareillage, le détecteur comptabilise le nombre d'ions obtenus et le traitement du signal conduit à l'obtention de spectres de masse.

4.3.3. Appareillage

Les analyses ont été effectuées avec un matériel ThermoFisher équipé d'un injecteur automatique AI3000 à 8 emplacements et d'un chromatographe Focus GC couplé à un spectromètre de masse ITQ 700 de type trappe à ions. La colonne capillaire utilisée est une Thermo trace GOLD TG-5MS (5% de diphenyl et 95% de diméthyl polysiloxane) d'un diamètre interne de 0,25 mm, une longueur de 30 m et une épaisseur de film de 0,25 µm. Le gaz vecteur employé est l'hélium avec un débit constant de 1 mL·min⁻¹. L'injecteur, la ligne de transfert et la trappe à ions sont respectivement maintenus à 250, 300 et 200 °C. La source par impact électronique a une énergie d'ionisation de 70 eV, un temps d'ionisation de 25 000 µs et un balayage dans la gamme de masse de 40-650 *m/z*. 1 µL de solution a été injecté en mode splitless.

Le logiciel utilisé est Xcalibur et l'identification des différents composés a été réalisée par comparaison des temps de rétention et des spectres de masse de molécules standards commerciales et à partir de la base de données NIST 08 V.2.

4.3.4. Gradient de température

4.3.4.1. Pour le protocole d'extraction globale et saponification

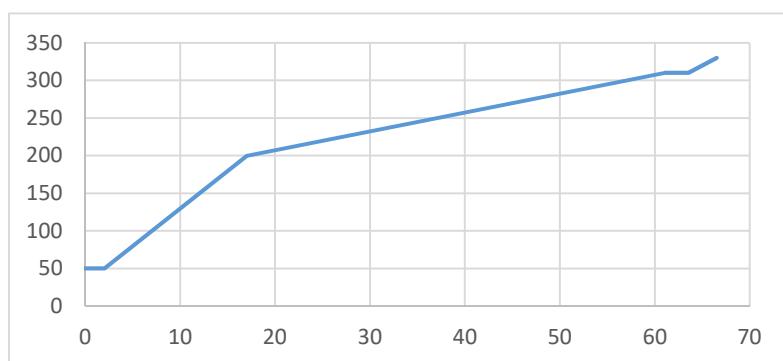


Figure 67: Gradient de température du four pour l'extraction globale.

Le programme de température du four (Fig. 67) débute à une température initiale de 50 °C, constant pendant 2 min, puis augmente de 10 °C/min jusqu'à 200 °C, suivi d'une deuxième augmentation de 2,5°C/min jusqu'à 310 °C et enfin une

dernière élévation de 8 °C/min jusqu'à 330 °C, température maintenue pendant 3 min. La durée totale d'analyse est de 67 min.

4.3.4.2. Pour le protocole d'extraction spécifique par SPE

- Fractions 1 et 2 (Fig.68) :

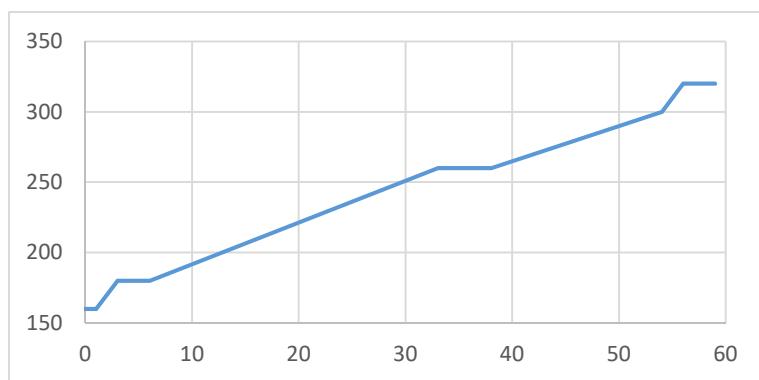


Figure 68: Gradient de température du four pour la SPE fraction 1 et 2.

Le programme de température du four commence à une température initiale de 160 °C, en isotherme pendant 1 min, puis augmente de 10 °C/min jusqu'à 180 °C, constant pendant 3 min, suivi d'une deuxième augmentation de 3°C/min jusqu'à 260 °C, constant pendant 5 min, suivie d'une troisième augmentation de 2,5 °C/min jusqu'à 300 °C et enfin une dernière élévation de 10 °C/min jusqu'à 320 °C, température qui est maintenue pendant 3 minutes. Le temps d'analyse est de 59 min.

- Fraction 3 (Fig. 69) :

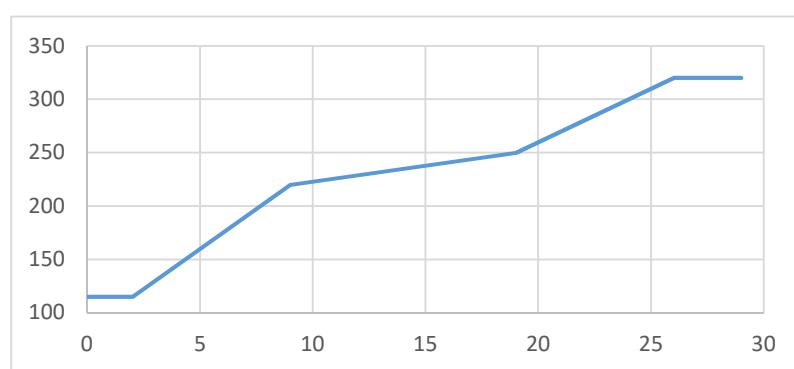


Figure 69: Gradient de température du four pour la SPE fraction 3.

Le gradient de température débute initialement à 115 °C, constant pendant 2 min, puis augmente de 15 °C/min jusqu'à 220 °C, suivi d'une deuxième augmentation de 3°C/min jusqu'à 250 °C et enfin une dernière élévation de 10°C/min jusqu'à 320 °C, température qui est maintenue pendant 3 min. La durée d'analyse est de 29 min.

Le programme de température du four commence à une température initiale de 160 °C, en isotherme pendant 1 min, puis augmente de 10 °C/min jusqu'à 180 °C, constant pendant 3 min, suivi d'une deuxième augmentation de 3°C/min jusqu'à 260 °C, constant pendant 5 min,

enfin une dernière élévation de 10 °C/min jusqu'à 320 °C, température qui est maintenue pendant 3 minutes. Le temps d'analyse est de 59 min.

Chapitre 4.

Observation et analyses spectroscopiques par IR-TF et traitements statistiques des données

Ce chapitre a pour but de fournir des informations visuelles sur les échantillons, afin de déterminer la façon dont ils pourront être traités ensuite par spectroscopie infrarouge. Cette technique vibrationnelle rapide nécessitant une faible quantité d'échantillon permet d'obtenir une empreinte de la composition chimique globale des baumes de chaque individu. Enfin, compte-tenu du grand nombre de données analytiques, des traitements statistiques de celles-ci seront appliqués.

La spectroscopie infrarouge est une technique utilisée depuis une cinquantaine d'années sur tous types d'échantillons. Cette technique d'analyse vibrationnelle est de plus en plus utilisée pour l'étude d'artefacts du patrimoine culturel. C'est une technique qui peut être non destructive et non invasive (Daher, Pimenta, et Bellot-Gurlet 2014). De plus, c'est un outil rapide et pertinent, qui permet de caractériser simultanément la partie minérale et de mettre en évidence différentes classes de matériaux organiques au sein d'un même échantillon (Daher *et al.* 2013; Łucejko *et al.* 2012), ce qui fait de l'infrarouge une technique de choix pour l'analyse de baumes de momies.

Dans un premier temps, une observation à la loupe binoculaire renseignant sur le critère uniforme ou non d'un échantillon a été effectuée, suivie de l'utilisation de la microscopie optique afin de déterminer la nature organique ou inorganique des échantillons. Enfin il a été nécessaire de choisir la méthode optimale par Infrarouge à Transformée de Fourier, entre 4000 et 400 cm^{-1} , pour répondre à tous les besoins analytiques de cette étude :

- Analyses qualitatives, avec interprétation de bandes spectrales, afin de pouvoir identifier l'ensemble des matériaux organiques et/ou inorganiques présents.
- Analyses quantitatives pour comparer les échantillons entre eux.

En parallèle, une étude par infrarouge des substances naturelles contemporaines communément rencontrées au sein de baumes de momies, a été réalisée afin d'identifier les bandes caractéristiques de l'ensemble des familles chimiques, telles que les huiles, les résines et gommes végétales, la cire d'abeille et le bitume.

Les résultats spectroscopiques obtenus sur les objets archéologiques, consistant en l'interprétation des bandes spectrales des 61 échantillons, ont été abordés en appliquant des traitements de données statistiques. Le but étant de grouper les échantillons par ressemblance en appliquant des traitements statistiques de données, tels que la Classification Ascendante Hiérarchisée (CAH) et l'Analyse en Composantes Principales (ACP).

1. Observation macroscopique des échantillons archéologiques

La totalité des échantillons a été observée à la loupe binoculaire. Deux catégories d'échantillons ont ainsi pu être caractérisés :

- Les premiers ont un aspect amorphe correspondant à des morceaux de baumes noirs, brillants, très durs avec des petits cristaux oranges en surface (Fig. 70). On dénombre 57 prélèvements pour cette catégorie n°1.
- Les seconds (catégorie n°2) sont d'aspect sableux, composés de particules marrons, oranges, noires et blanches (Fig. 71). Ils correspondent à 4 échantillons.

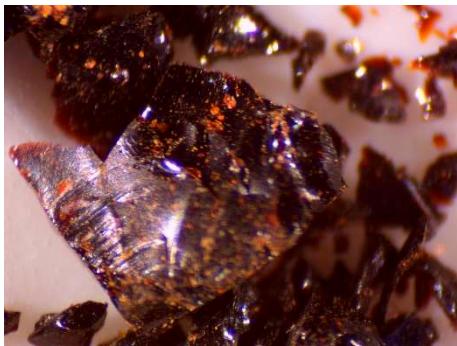


Figure 70: Observation à la loupe binoculaire X10 de l'échantillon de momie n°2.



Figure 71: Observation à la loupe binoculaire X3 de l'échantillon de momie n°30.

Les deux catégories d'échantillons ont été traitées séparément.

2. Traitement des échantillons amorphes par IR-TF

2.1. Choix du module et du détecteur adéquat

Une comparaison de trois modules et de deux détecteurs a été réalisée (Tableau 8) afin de définir la méthode optimale, la mieux adaptée pour analyser l'ensemble des échantillons amorphes appartenant à la catégorie n°1, préalablement établie.

Les choix du module et du détecteur sont importants pour la suite de l'étude, car une seule analyse par infrarouge doit permettre d'observer l'utilisation de matière organique (le baume) et la matière inorganique (des ocres, par exemple). De plus, afin de pouvoir comparer l'ensemble des spectres infrarouges entre eux, une quantité identique d'échantillons a été employée.

Tableau 8: Comparaison des capacités des différents détecteurs et modules.

	Détecteur	Nombre d'onde	Quantification
ATR (réflexion)	DTGS	4000-675 cm^{-1}	Oui
	MCT	4000-675 cm^{-1}	Oui
Cellule diamant (transmission)	DTGS	4000-400 cm^{-1}	Non
	MCT	4000-675 cm^{-1}	Non
KBr (transmission)	DTGS	4000-400 cm^{-1}	Oui
	MCT	4000-675 cm^{-1}	Oui

Les 2 détecteurs sont le DTGS (Deuterated Triglycine Sulfate) et le MCT (Mercury Cadmium Telluride). Le premier fonctionne à température ambiante et le second à basse température avec de l'azote liquide. Leur gamme spectrale d'analyse est respectivement de 4000 à 400 cm^{-1} et de 4000 à 675 cm^{-1} . Pour l'analyse de matériaux inorganiques tel que les oxydes de fer, il est nécessaire d'avoir une gamme spectrale allant de 4000 à 400 cm^{-1} .

L'appareil comporte 3 modules, il est possible d'utiliser le module ATR (Réflectance totale atténuée, *Attenuated Total Reflectance*), qui permet d'analyser les échantillons par absorption. Le cristal de ce module est en germanium, ce qui implique qu'il absorbe dans la gamme comprise entre 675 et 400 cm^{-1} , c'est pourquoi ce module n'a pas été choisi. Le module de micro-compression diamant, qui permet d'analyser par transmission à l'aide d'un microscope est également utilisable. Cependant, ce module ne permet pas la quantification. Enfin, un module permet de réaliser des pastilles de bromure de potassium (KBr), d'analyser par transmission à des longueurs d'ondes de 4000 à 400 cm^{-1} et de quantifier l'échantillon. Ainsi, il a été choisi pour cette étude d'utiliser le détecteur DTGS avec le module pastille de KBr.

2.2. Etude des substances naturelles contemporaines par IR-TF

L'étude des substances naturelles contemporaines, telles que les huiles, les résines di- ou triterpéniques, la cire d'abeille et le bitume est primordiale pour l'interprétation des bandes

infrarouges au sein des échantillons, d'autant plus lorsque ces substances sont présentes sous la forme de mélange.

2.2.1. Caractérisation des corps gras

Plusieurs bandes sont caractéristiques des huiles végétales (Fig. 72). La bande à 3450 cm^{-1} correspond aux vibrations d'elongation des liaisons O-H. Les bandes à 2920 et 2850 cm^{-1} sont caractéristiques des vibrations d'elongation des liaisons C-H. Les deux bandes à 1460 et 1380 cm^{-1} sont complémentaires et caractéristiques des groupements aliphatiques. La bande à 1740 cm^{-1} caractérise des groupements carbonyles. La liaison à 1170 cm^{-1} entourée de deux épaulement à 1250 et 1100 cm^{-1} correspond à la liaison C-O de la fonction ester (Pelletier 2005).

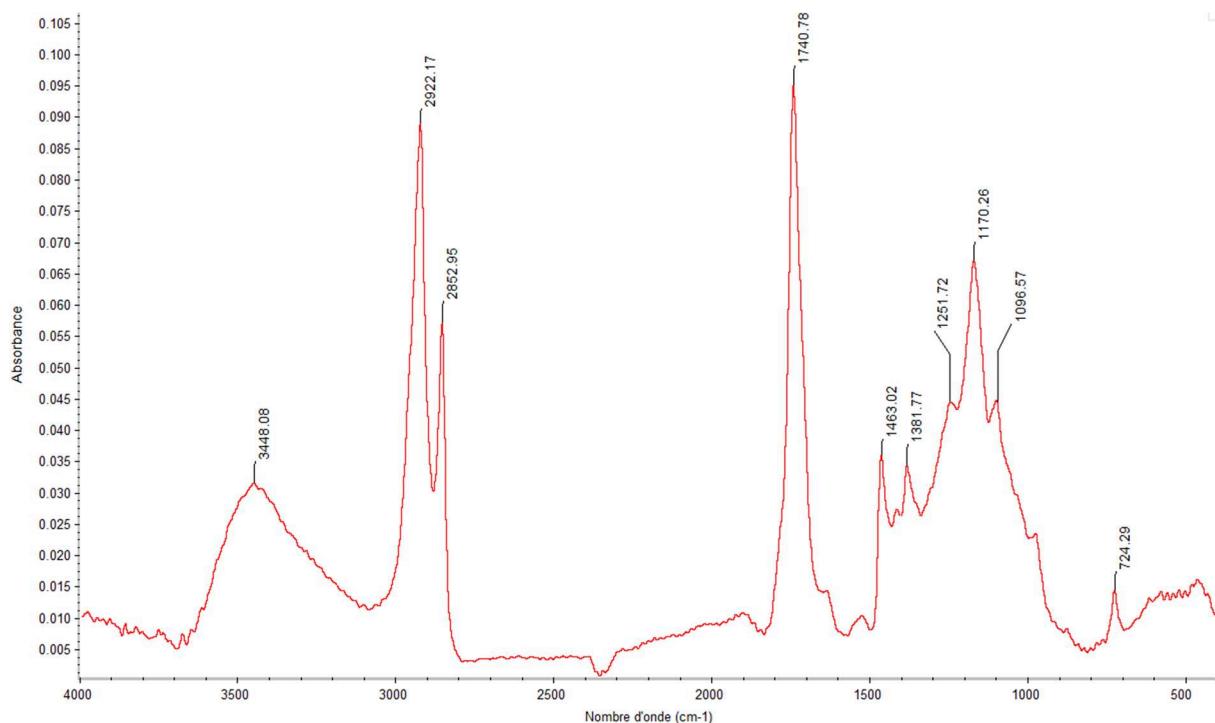


Figure 72: Spectre infrarouge d'une huile végétale : huile de lin.

2.2.2. Caractérisation de la cire d'abeille

La cire d'abeille possède un spectre infrarouge fortement caractéristique. Il possède un massif des liaisons C-H vers 2900 cm^{-1} et quatre bandes intenses entre 1750 et 700 cm^{-1} (Fig. 73).

Les bandes à 2920 et 2850 cm^{-1} sont respectivement assignées aux vibrations d'elongations asymétrique et symétriques des CH_2 . La bande à 1736 cm^{-1} traduit la vibration d'elongation de

la fonction C=O de la fonction ester, l'épaulement observé est caractéristique d'acides gras nativement libres ou dus à l'hydrolyse enzymatique de la fonction ester de la cire d'abeille. La bande à 1470 cm^{-1} correspond à la vibration de déformation des groupements aliphatiques. La bande à 1173 cm^{-1} correspond à la vibration d'elongation des liaisons C-O de la fonction ester et également aux vibrations de déformation des liaisons C-H. Enfin la dernière bande caractéristique à 720 cm^{-1} correspond aux vibrations de déformation par rotation des CH₂, cette dernière bande est décrite comme 2 bandes à 740 et 720 cm^{-1} dans la littérature (Cuní *et al.* 2012; Svečnjak *et al.* 2015).

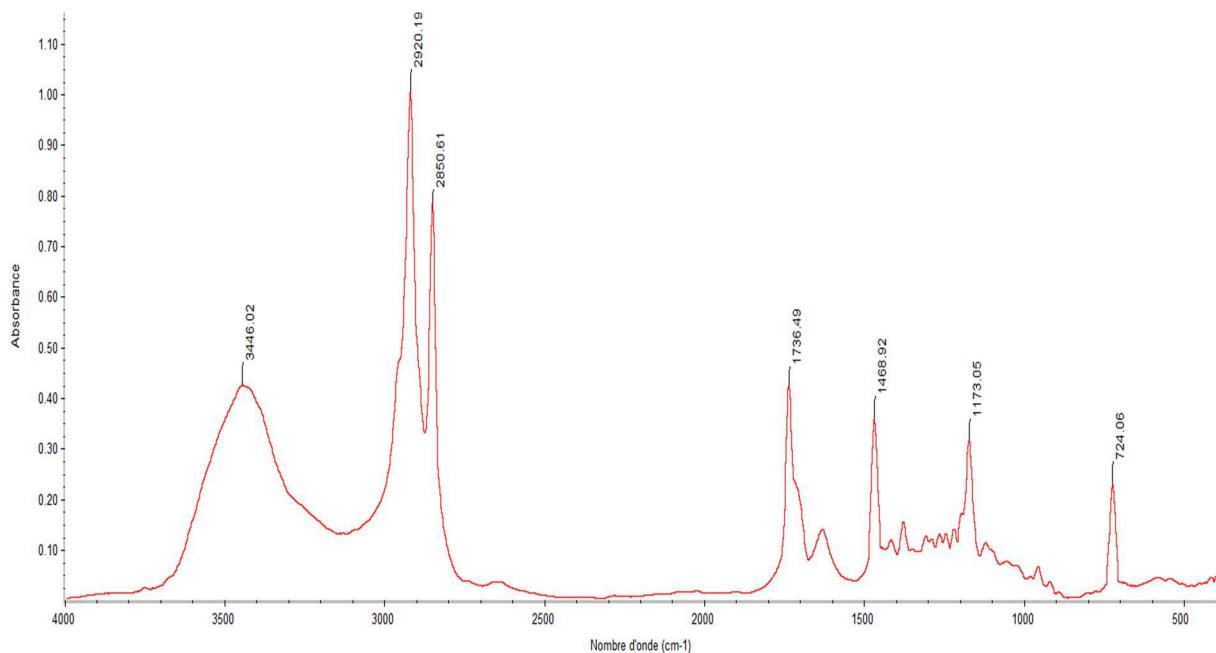


Figure 73: Spectre infrarouge de la cire d'abeille.

2.2.3. Caractérisation des résines

En spectroscopie infrarouge, les résines diterpéniques et triterpéniques ont de nombreuses bandes en commun, elles vont donc être présentées simultanément (Fig. 74). La fonction acide carboxylique peut être caractérisée par la présence d'une bande à 3500 cm^{-1} (vibrations d'elongation des liaisons O-H). De plus, une bande intense autour de 1700 cm^{-1} représentant les vibrations des carbonyles, permet de distinguer la nature de la résine, à savoir di- ou triterpénique. En effet, la bande entre 1705 et 1700 cm^{-1} traduit une résine triterpénique et une bande entre 1700 et 1695 cm^{-1} caractérise une résine diterpénique (Derrick, Stulik, et Landry 1999; Pistre 2001). Enfin pour une résine diterpénique, deux bandes de faible intensité

entre 2700 et 2500 cm^{-1} sont présentes et elles sont caractéristiques de l'absorption des liaisons hydrogène (Bellamy 1980). Les bandes à 1276 cm^{-1} et 1184 cm^{-1} peuvent être respectivement attribuées aux vibrations de déformation des fonctions acides carboxyliques et de la liaison C-O.

Les composés aliphatiques sont également caractérisés par plusieurs bandes. Les résines diterpéniques possèdent une bande autour de 3080 cm^{-1} correspondant à la vibration d'elongation de la double liaison C=C du groupement vinyle des pimaranes dans les résines de conifères. La région des liaisons C-H présente un maximum à 2930 cm^{-1} pour les résines diterpéniques et à 2945 cm^{-1} pour les résines triterpéniques (Font *et al.* 2007).

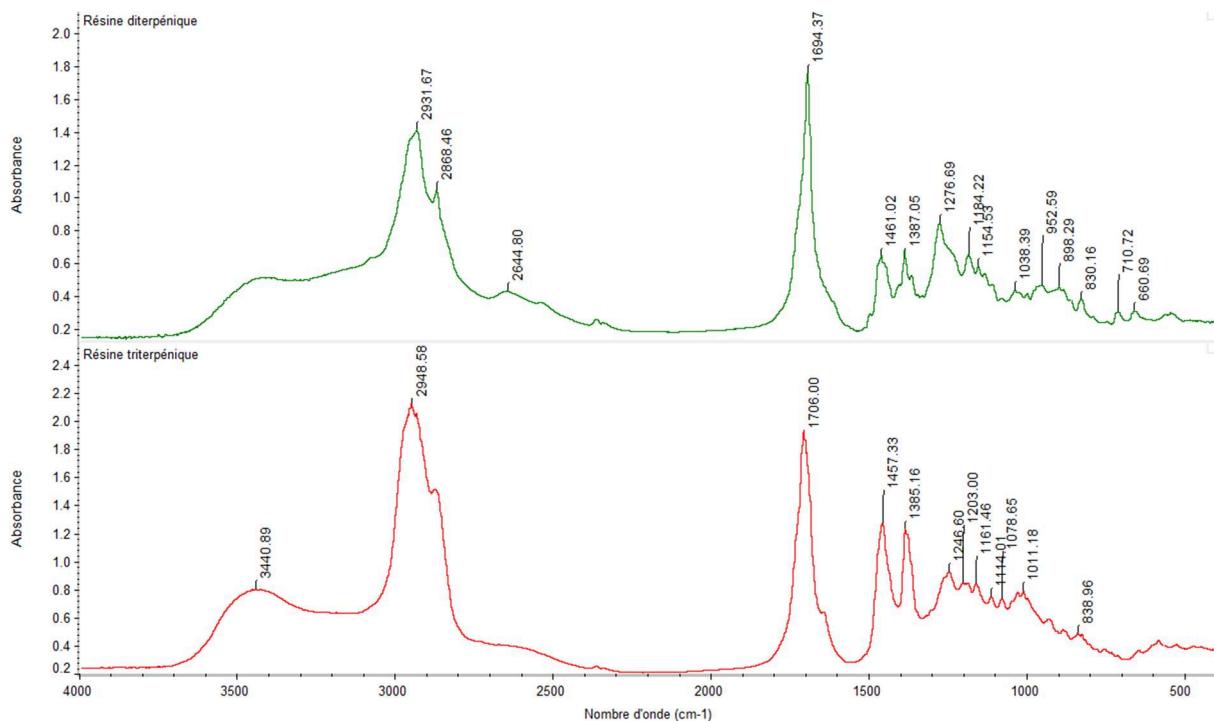


Figure 74: Spectres infrarouge d'une résine diterpénique (de pin) et d'une résine triterpénique (Mastic).

A 1460-1385 cm^{-1} , il y a deux bandes intenses dues aux vibrations de déformation des CH_2 et CH_3 . Il y a également une bande observée à 1276 cm^{-1} due aux vibrations de déformations des fonctions acides, ainsi qu'une bande de déformation de la liaison C-O à 1189 cm^{-1} .

2.2.4. Caractérisation du bitume

En infrarouge, le bitume possède peu de bandes étant donné que ce matériau est constitué d'hydrocarbures (Fig. 75). Les bandes à 2920 et 2850 cm^{-1} sont respectivement assignées aux vibrations d'elongation asymétrique et symétrique des CH_2 . Il y a également deux bandes intenses à 1460-1380 cm^{-1} dues aux vibrations de déformations des liaisons C-H.

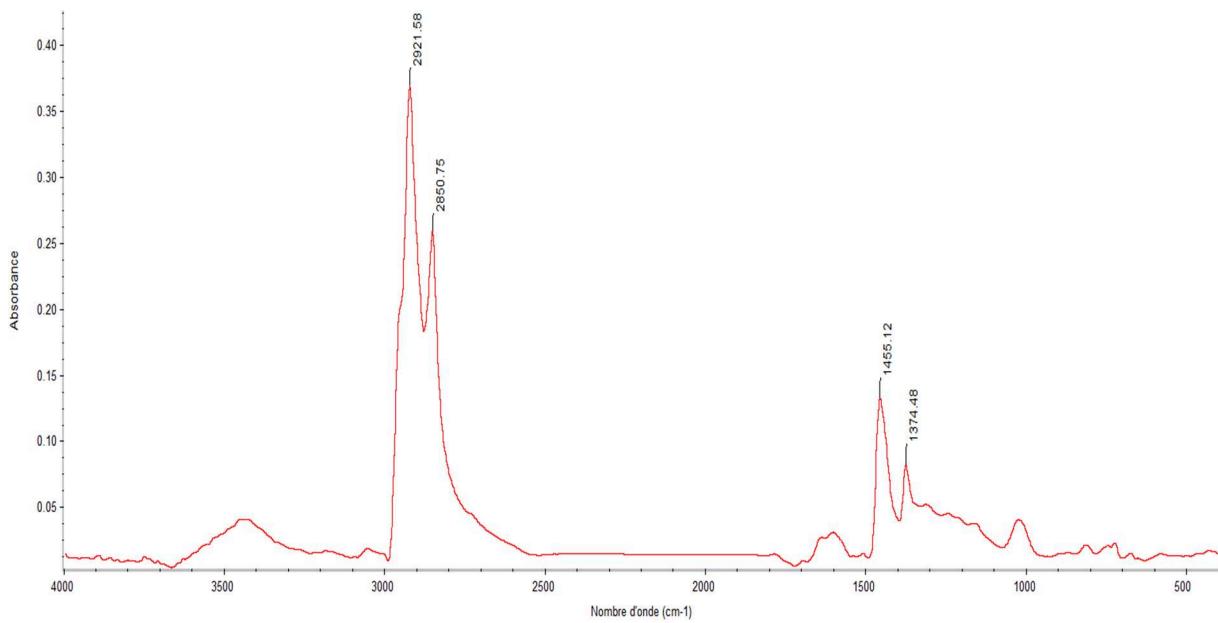


Figure 75: Spectre infrarouge d'un bitume.

2.2.5. Caractérisation de la gomme arabique

Le spectre infrarouge de la gomme arabique (Fig. 76). La bande à 3450 cm^{-1} indique des vibrations d'elongation des liaisons O-H. La bande à 2920 cm^{-1} est attribuable aux vibrations d'elongation des liaison C-H. Les deux bandes à 1640 et 1440 cm^{-1} sont caractéristiques de la fonction acide carboxylique. Enfin, la bande à 1030 cm^{-1} est due aux vibrations de déformation des liaisons C-H (Bashir et Haripriya 2016; Dong *et al.* 2017; Song *et al.* 2018).

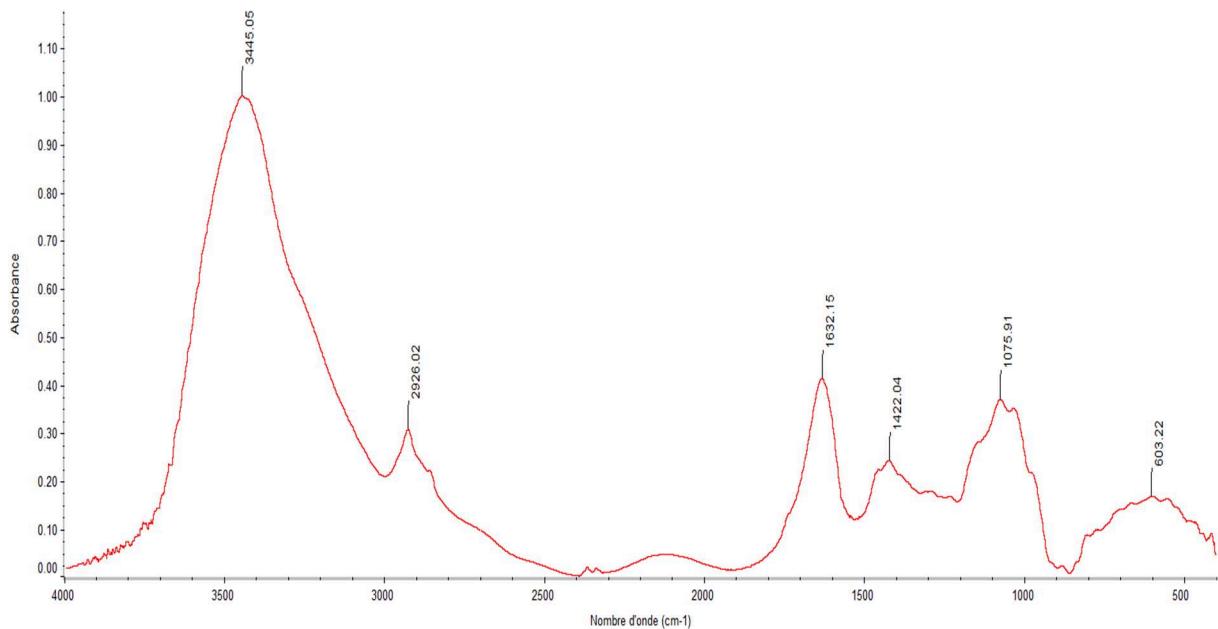


Figure 76: Spectre infrarouge de la gomme arabique.

2.2.6. Récapitulatif des bandes de chaque substance

Le tableau suivant résume l'ensemble des bandes caractéristiques présentes dans les diverses substances naturelles étudiées (Tableau 9).

Tableau 9: Récapitulatifs des positions des bandes des substances naturelles présentes au sein de baumes.

Bandes (cm ⁻¹)	Liaisons chimiques	Substance
3450	O-H	huile, résine, gomme
3080	C=C	résine diterpénique
2945	C-H	résine triterpénique
2930	C-H	résine diterpénique
2920-2850	C-H	huile, cire d'abeille, bitume, gomme
2640-2480	O-H	résine diterpénique
1740	C=O	huile, cire d'abeille
1705	C=O	résine triterpénique
1695	C=O	résine diterpénique
1640	C=O	gomme
1460-1380	C-H	huile, résine, cire d'abeille, bitume
1440	C-O	gomme
1276	C-O	résine
1250-1100	C-O	huile
1180	C-H, C-O	huile, résine, cire d'abeille
1030	C-H	gomme
720	C-H	huile, cire d'abeille

A partir des données figurant dans le tableau, il est à noter que plusieurs matériaux possèdent des bandes d'absorption en infrarouge aux mêmes valeurs de nombre d'ondes, ce qui est notamment le cas pour la cire d'abeille et les huiles. De même, les bandes caractéristiques du bitume, ressemblent fortement à celles présentes dans les huiles ou des résines. Un léger décalage du nombre d'ondes est observé sur les deux bandes à 1460 et 1380 cm⁻¹.

Les données obtenues à partir des matériaux frais de référence vont être exploitées afin de caractériser les substances présentes au sein des 61 échantillons de baumes de momies étudiés.

2.3. Application aux échantillons archéologiques

L'ensemble des 61 échantillons de baumes ont été analysés par infrarouge et la totalité des spectres obtenus avec le mode KBr est présentée en annexe. Seuls certains d'entre eux seront présentés dans la partie résultats de ce manuscrit.

Au vu du nombre conséquent d'échantillons analysés mais également dans l'idée de les comparer entre eux, les données obtenues par IR-TF ont fait l'objet d'un traitement statistique afin d'éventuellement les regrouper sous forme de clusters. L'objectif est de traiter et interpréter les données par groupe avant de les traiter de manière individuelle.

Tous les spectres ont été interprétés individuellement et ils sont tous présentés en annexe de ce manuscrit. De plus, pour améliorer la caractérisation des bandes, l'ensemble des spectres a également fait l'objet d'une déconvolution (Fourier Self-Deconvolution). Ce traitement mathématique permet, en réduisant la largeur des bandes, d'identifier les éventuelles superpositions de celles-ci. Les résultats et les interprétations de chaque spectre ne sont pas présentés individuellement mais de façon regroupée *via* les clusters définis par CAH (voir ci-après).

2.3.1. Classification Ascendante Hiérarchique

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH ou *Agglomerative Hierarchical Clustering* angl.) est une méthode de classification itérative dont le principe est de rassembler des individus selon un critère de ressemblance sous la forme d'une matrice de distances, représentant la distance existant entre chaque individu pris deux à deux. Deux observations identiques auront une distance nulle et plus les deux observations seront dissemblables, plus la distance sera importante. L'objectif est que les individus regroupés au sein d'une même classe soient les plus semblables possible : c'est l'homogénéité intra-classe, tandis que les

différentes classes doivent être le plus dissemblable entre elles : c'est l'hétérogénéité inter-classes.

Dans un premier temps, la dissimilarité entre les N objets a été calculée en choisissant la distance euclidienne correspondant à une distance géométrique dans un espace multidimensionnel. C'est la racine de la somme des carrés entre deux variables :

$$\text{Distance } (x, y) = \sqrt{\sum_i (x_i - y_i)^2}.$$

Elle est la distance la plus couramment utilisée.

Dans un second temps, les éléments ont été regroupés en minimisant l'indice d'agrégation donné, créant ainsi une nouvelle classe. La méthode d'agrégation utilisée est la méthode de Ward. Elle utilise une analyse de la variance approchée afin d'évaluer les distances entre classes. Cette méthode cherche à minimiser l'inertie intra-classe et à maximiser l'inertie inter-classe afin d'obtenir des classes homogènes.

Ces regroupements successifs produisent un arbre binaire de classification appelé dendrogramme, dont la racine correspond à la classe regroupant l'ensemble des individus reliés par des nœuds. Ce dendrogramme représente une hiérarchie de partition.

Dans notre étude et pour la réalisation du dendrogramme, les 61 spectres IR-TF ont été normalisés. Les données ont été exportées du logiciel Omnic® sur Excel® et seules les bandes spectrales comprises entre 2000 et 700 cm⁻¹ ont été exploitées par le logiciel XLstat. En effet, entre 4000 et 2000 cm⁻¹, sont présentes les bandes caractéristiques des liaisons O-H et C-H. Pour les liaisons O-H, leur occurrence peut être due à la présence d'eau dans l'échantillon ou bien à l'humidité de l'air et donc non déterminante pour la réalisation de clusters. Les liaisons C-H quant à elles sont présentes par définition dans tous les matériaux organiques et, de ce, fait elles ne permettent pas de différencier ces familles chimiques.

Le nombre de clusters a été fixé manuellement entre 2 et 5. Pour définir le nombre optimum de clusters, les variances intra-classe et inter-classe ont été observées (Tableau 10). Comme dit précédemment une variance intra-classes faible et une variance inter-classe élevée sont préférables.

Tableau 10: Variances intra-classe et inter-classes observées sur les différentes CAH.

Variance\Classes	2	3	4	5
Intra-classe (%)	79	58	43	34
Inter-classes (%)	21	42	57	66

Dans le tableau 10, pour les CAH à 2 et 3 groupes, la variance intra-classes représente à plus de 50% de la variance totale ; elles ont donc été écartées. Pour la CAH à 4 groupes la variance intra-classe est à 43% et celle à 5 groupes à 34% de la variance totale. Ainsi, il a été décidé arbitrairement de fixer les clusters au nombre de 5 pour cette étude.

Le dendrogramme de la figure 77 présente cinq clusters avec pour chacun les numéros d'échantillon en fonction de leur dissimilarité. De gauche à droite, ils seront appelés C1, C2, C3, C4 et C5.

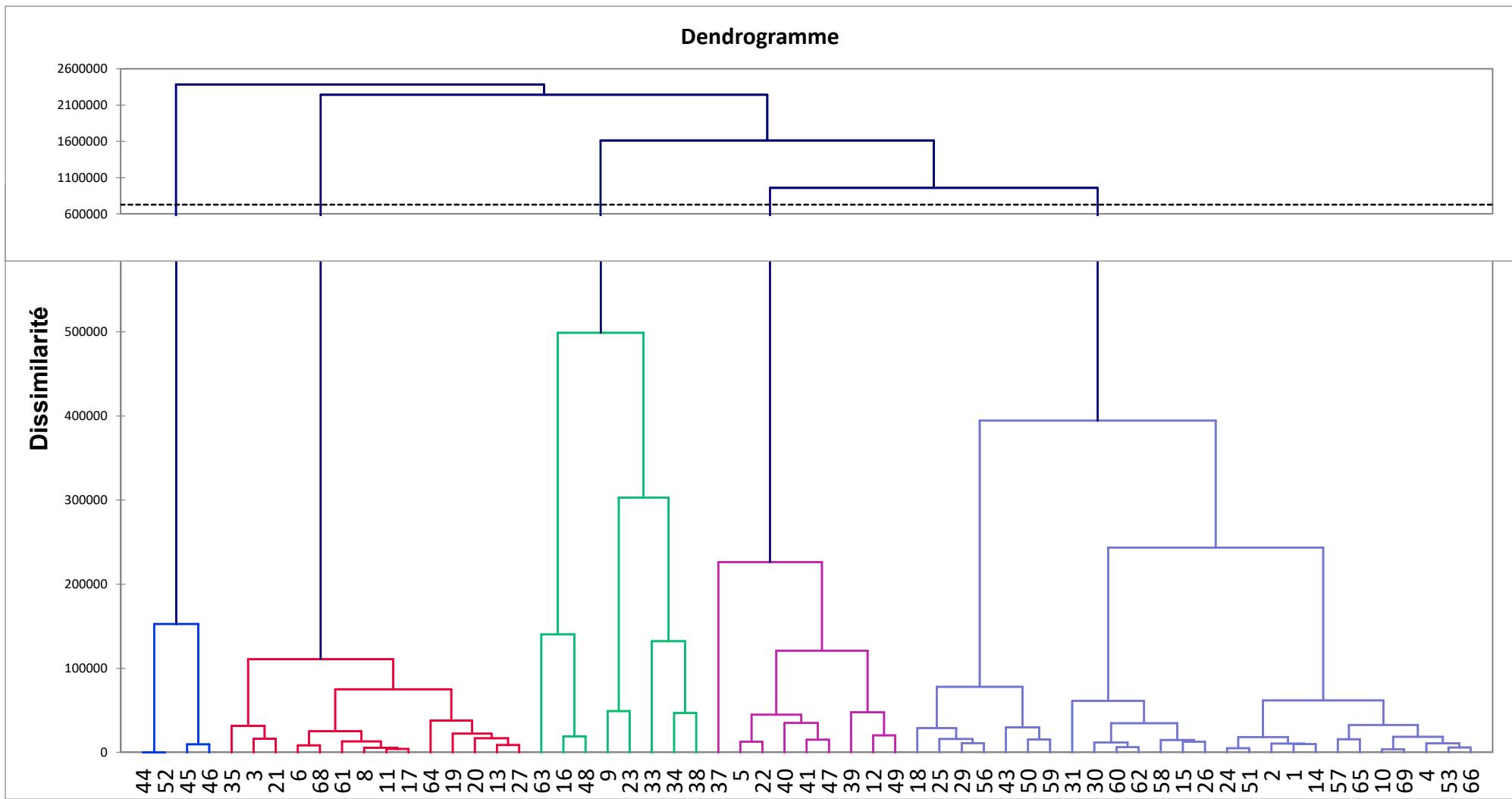


Figure 77: Représentation sous forme de dendrogramme des données IR-TF des 61 échantillons de baumes.

2.3.2. Clusters et spectres infrarouge

Dans cette partie, chaque cluster sera traité de manière identique et comme suit. Tout d'abord, chaque groupe sera présenté, puis, dans un souci de lisibilité, le spectre infrarouge issu de la moyenne de l'ensemble des spectres IR de chaque baume appartenant à un même cluster sera présenté. Les cas particuliers correspondant à des spectres moins communs seront exposés. Enfin, un tableau récapitulatif sera dressé, comportant les substances naturelles caractérisées au sein de chaque échantillon.

2.3.2.1. Analyse du cluster 1

Le cluster C1 est composé des échantillons référencés 44, 52, 45 et 46 (Fig. 78). Au vu du nœud qui relie ce groupe aux autres clusters, ces 4 échantillons sont très éloignés chimiquement des autres.

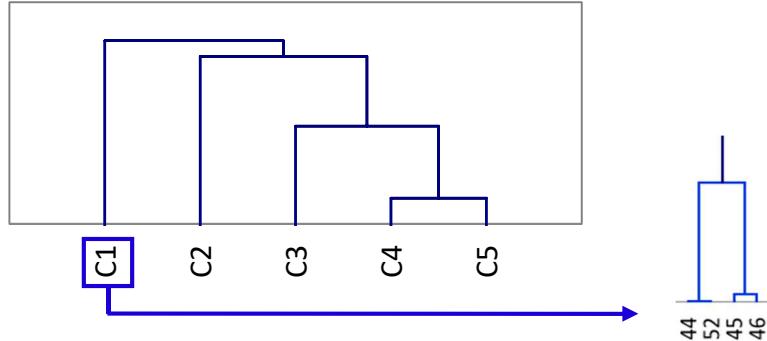


Figure 78: Dendrogramme du cluster 1 obtenu par CAH.

Un spectre infrarouge moyen des échantillons a été réalisé (Fig. 79).

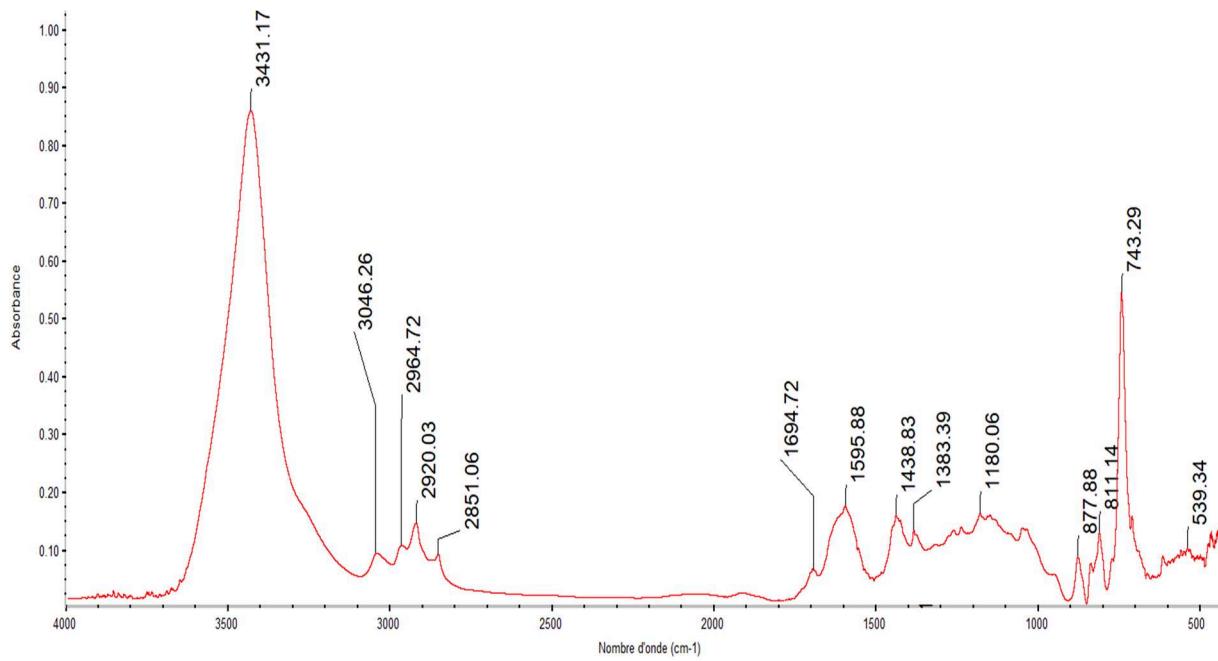


Figure 79: Spectre infrarouge moyen du cluster 1.

Sur ce spectre, il est possible d'observer des bandes entre 3000 et 2800 cm^{-1} caractéristiques des CH. Les deux bandes à 3046 cm^{-1} et à 743 cm^{-1} sont caractéristiques de la liaison C-H aromatique. Au vu de la concordance avec la banque de données de l'appareil IR-TF, ces échantillons semblent correspondre à des composés de type Hydrocarbure Aromatique Polycyclique (HAP). Ce sont des molécules qui ont déjà été identifiées dans des préparations de baumes de momies (Ménager, Azemard, et Vieillescazes 2014). Il y a également une bande de faible intensité à 1694 cm^{-1} , qui est caractéristique des résines diterpéniques.

Le spectre moyen est parfaitement représentatif des spectres IR de chaque échantillon. On peut noter une légère différence pour l'échantillon 44 qui ne comporte pas de résines contrairement aux 3 autres (Tableau 11).

Tableau 11: Composition des échantillons du cluster 1, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.

	Résine	HAP
44	-	+
52	+	+
45	+	+
46	+	+

2.3.2.2. Analyse du cluster 2

Le deuxième cluster noté C2 est composé de 14 échantillons (Fig. 80), c'est également un cluster éloigné des autres au vu de son embranchement.

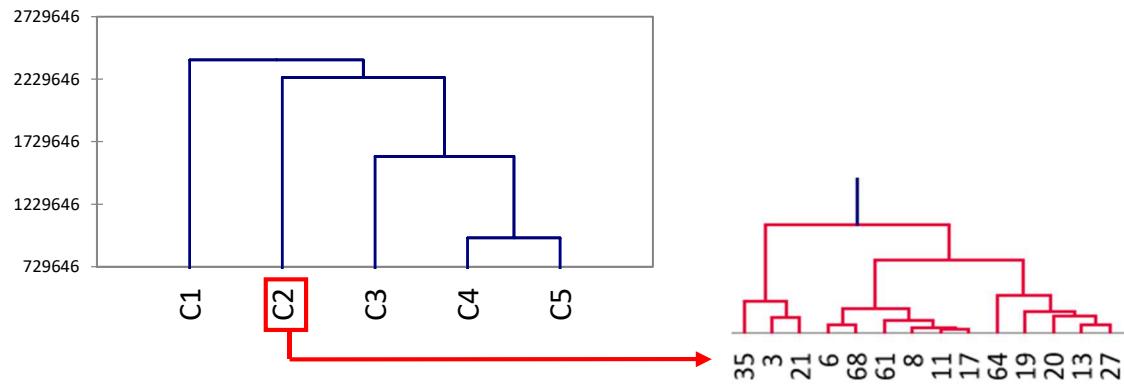
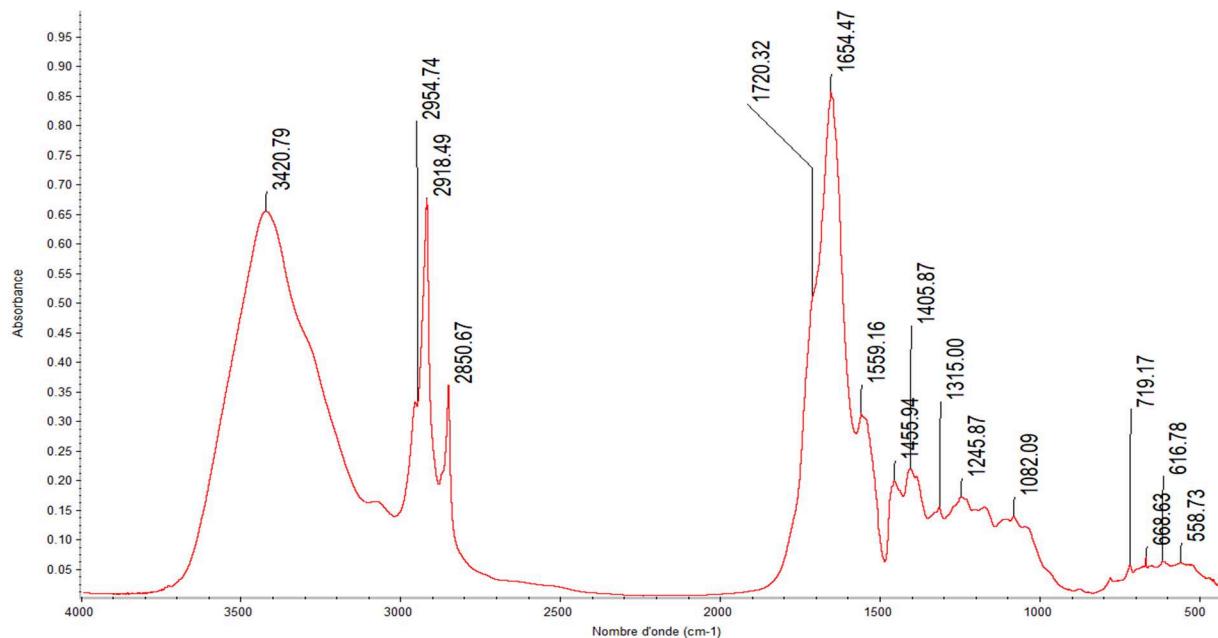


Figure 80: Dendrogramme du cluster 2 obtenu par CAH.

Le spectre infrarouge moyen correspondant (Fig. 81) présente des bandes caractéristiques notamment à 1720, 1654 et 720 cm^{-1} , qui sont respectivement les liaisons C=O des huiles, la liaisons C=O des polysaccharides et la liaison C-H des huiles. Elles sont donc attribuables à la présence de corps gras et de polysaccharides principalement.



Le spectre moyen traduit bien l'ensemble des spectres IR des 14 échantillons, hormis pour l'échantillon 19 qui ne possède pas de bandes caractéristiques des corps gras. Cependant après déconvolution, la bande à 1720 cm^{-1} est observable. De plus, il s'est avéré que les échantillons 35, 8, 11, 17 et 64 possédaient des bandes caractéristiques des résines (Tableau 12).

Tableau 12: Composition des échantillons du cluster 2, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.

	Huile	Résine	Gomme
35	+	-	+
3	+	-	+
21	+	-	+
6	+	-	+
68	+	-	+
61	+	-	+
8	+	+	+
11	+	+	+
17	+	+	+
64	+	+	+
19	+	-	+
20	+	-	+
13	+	-	+
27	+	-	+

2.3.2.3. Analyse du cluster 3

Le cluster C3 est composé de 8 échantillons. Au regard du dendrogramme en figure 82, le nœud permettant de former ce groupe est le plus élevé, ce qui signifie que les échantillons considérés sont les plus dissemblant entre eux.

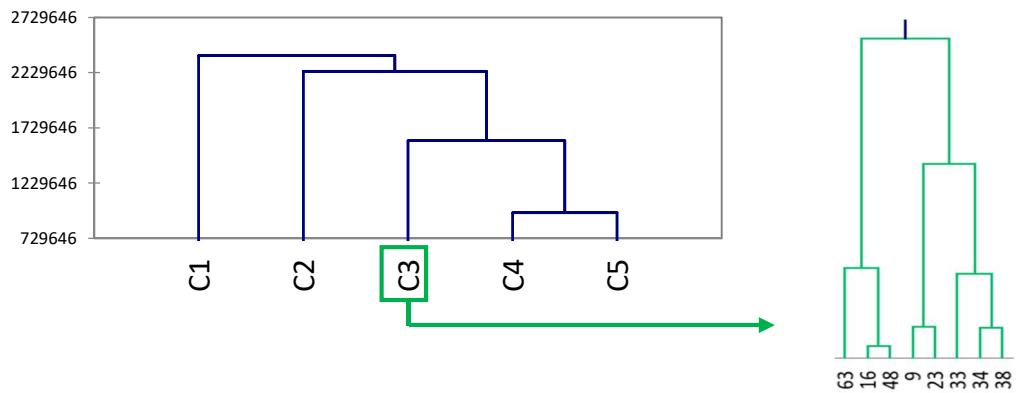


Figure 82: Dendrogramme du cluster 3 obtenu par CAH.

Les différentes bandes du spectre IR moyen (Fig. 83) montrent la présence de résine et de polysaccharides ainsi que de corps gras.

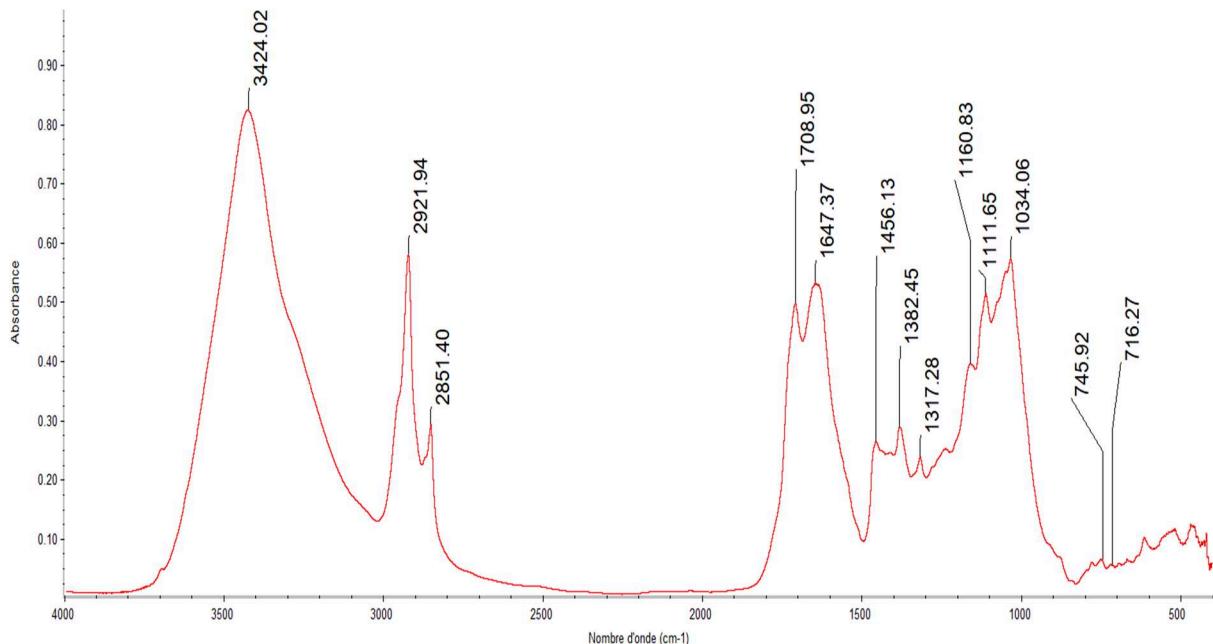


Figure 83: Spectre infrarouge moyen du cluster 3.

Le spectre moyen n'est pas représentatif des spectres IR de plusieurs échantillons. Tout d'abord, l'échantillon 63 possède un spectre IR qui montre les bandes des HAP et ne présente pas les bandes des corps gras. Les échantillons 16, 48 et 34 ne possèdent pas les bandes

caractéristiques des corps gras. Enfin les échantillons référencés 48 et 33 ont des bandes caractéristiques de matières inorganiques tels que des oxydes de fer.

La figure 84 représente le spectre infrarouge de l'échantillon n°48 (A), le spectre infrarouge après déconvolution de la momie 48 (B) et un spectre infrarouge d'une ocre rouge standard du laboratoire (C). Les ocres sont des minéraux riches en oxydes de fer et autres tels que la kaolinite, la goethite, l'hématite, le quartz et d'autres (Montagner *et al.* 2013). Sur le spectre infrarouge du matériau standard d'ocre rouge (Fig. 84 C), plusieurs bandes sont caractéristiques. Les bandes de 3695 à 3620 cm^{-1} et à 910 cm^{-1} sont spécifiques de la kaolinite (k). Les bandes de 1100 à 1000 cm^{-1} sont caractéristique de la kaolinite (k) et du quartz (q). Les deux bandes à 798 et 696 cm^{-1} sont caractéristiques du quartz (q) et pour finir la bande à 540 cm^{-1} est caractéristique des oxydes de fer (f) (Moyo *et al.* 2016). Les bandes sont de faibles intensité au niveau du spectre infrarouge de la momie 48 (Fig. 84 A) mais elles peuvent être discernées après application d'une FSD (Fig. 84 B).

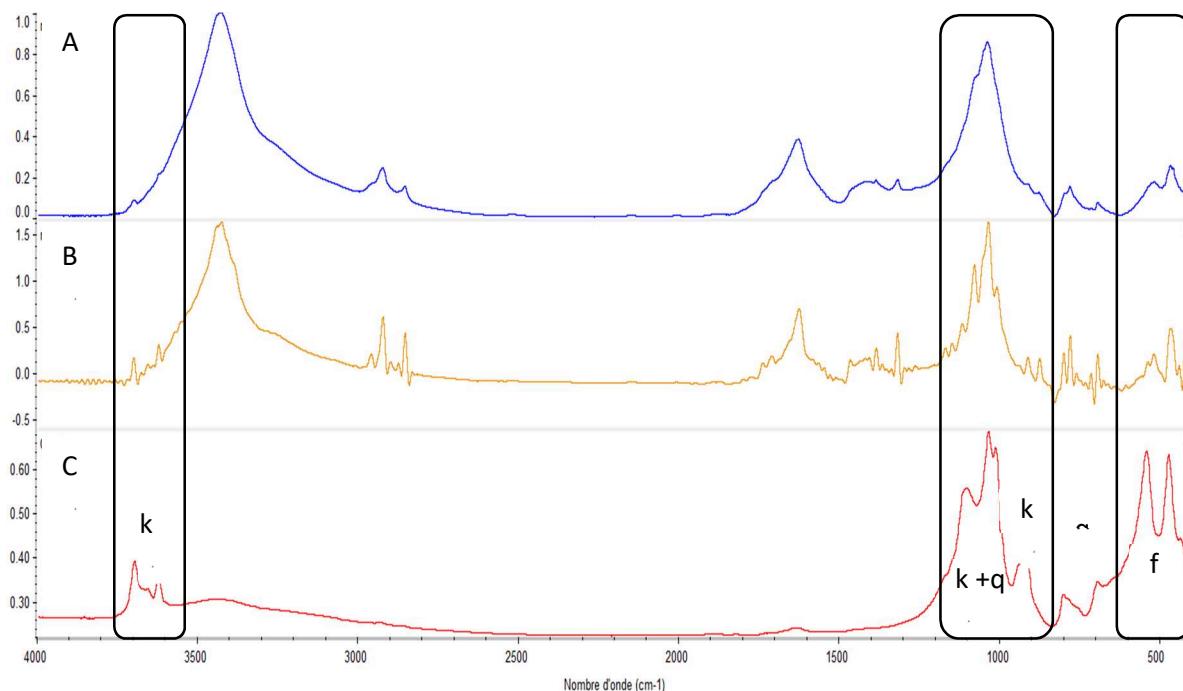


Figure 84: Superposition des spectres infrarouge de l'échantillon n°48 avant FSD (A) et après FSD (B) et d'une ocre rouge de référence de chez Okhra (C).

Le nœud élevé du cluster annonçait une dissemblance entre les échantillons, ce qui a été montré (Tableau 13), le spectre moyen de ce cluster n'a pas permis de caractériser l'ensemble des substances présentes dans les 8 échantillons.

Tableau 13: Composition des échantillons du cluster 3, obtenues après interprétation individuelle et FSD,+ : présence, - : absence.

	Huile	Résine	Gomme	HAP	Inorganique
63	-	+	+	+	-
16	-	+	+	-	-
48	-	+	+	-	+
9	+	+	+	-	-
23	+	+	+	-	-
33	+	+	+	-	+
34	-	+	+	-	-
38	+	+	+	-	-

2.3.2.4. Analyse du cluster 4

Le cluster C4 comprend 9 échantillons (Fig. 85). L'échantillon 37 est le seul sur l'embranchement de gauche, ce qui signifie qu'il est significativement éloigné des autres échantillons de ce cluster en terme de composition.

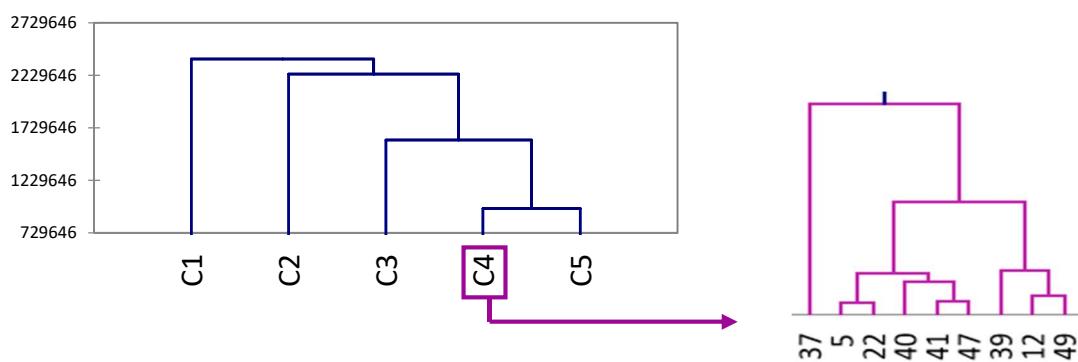


Figure 85: Dendrogramme du cluster 4 obtenu par CAH

Le spectre moyen de ce cluster (Fig. 86), montre la présence de corps gras et de résine au sein de ces échantillons. Il représente correctement 8 échantillons sur 9.

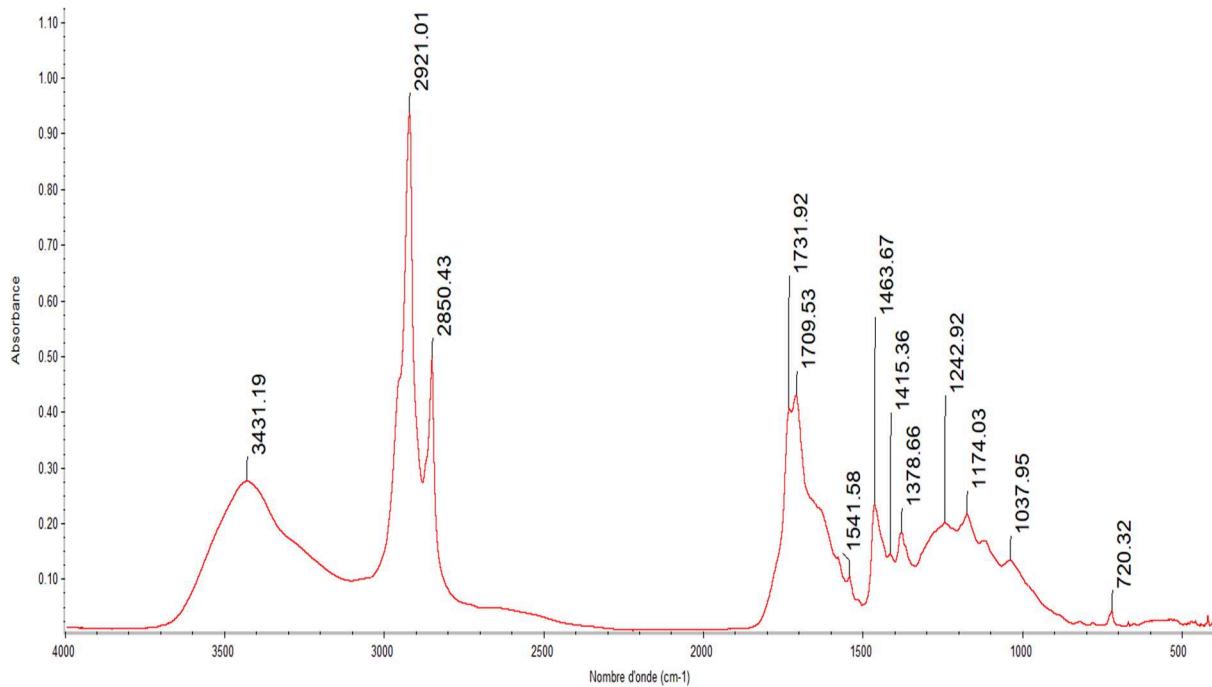


Figure 86: Spectre infrarouge moyen du cluster 4.

En effet, comme vu sur le dendrogramme, au sein de ce cluster l'échantillon 37 se détache des autres. Au regard de son spectre infrarouge (Fig. 87), il y a présence des bandes à 1458 et 1375 cm^{-1} . Ces bandes peuvent être attribuées aux huiles, résines, cires et bitumes. Cependant, sur le spectre entre 1300 et 400 cm^{-1} il n'y a pas les bandes de déformation des liaisons C-O, ainsi, il serait plus probable que cet échantillon soit composé de bitume.

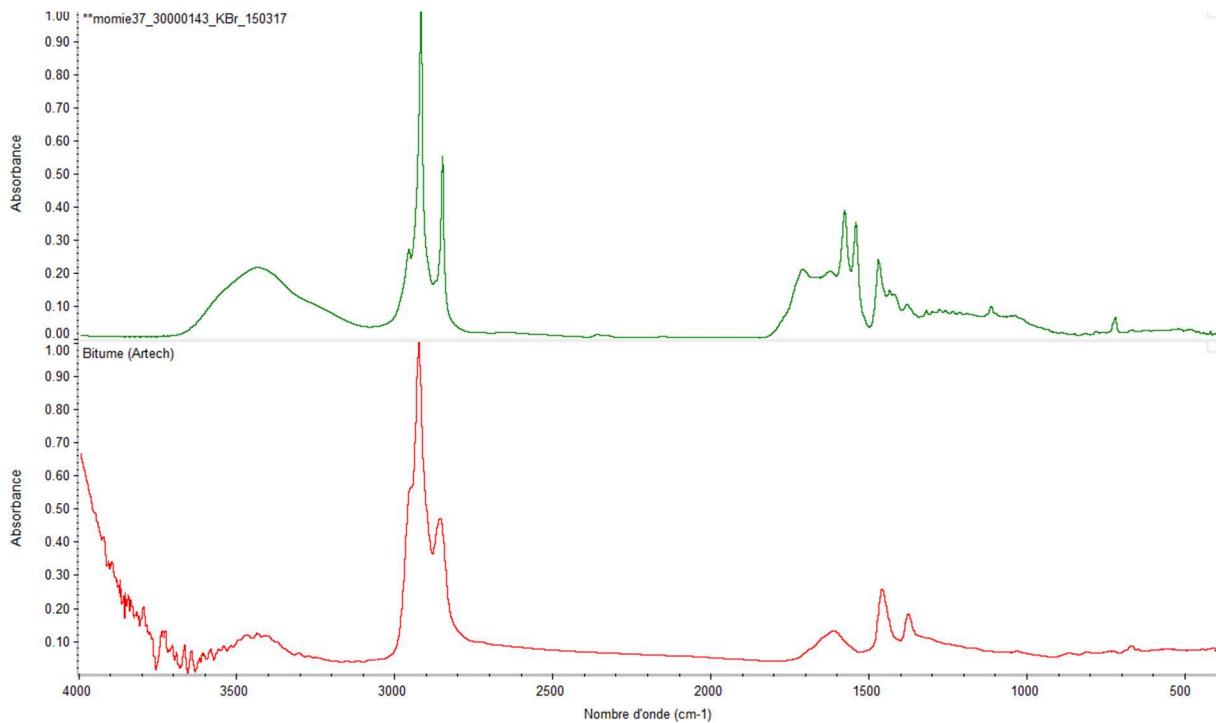


Figure 87: Comparaison des spectres infrarouge de l'échantillon 37 et de bitume contemporain de chez Artech.

Au niveau de la composition de chacun des baumes de ce cluster (Tableau 14), il n'a été caractérisé des polysaccharides que dans un seul échantillon, le 39, et du bitume pour l'échantillon 37. Sinon, il y a principalement des corps gras ainsi que des résines.

Tableau 14: Composition des échantillons du cluster 4, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.

	Huile	Résine	Gomme	Bitume
37	-	+	-	+
5	+	+	-	-
22	+	+	-	-
40	+	+	-	-
41	+	+	-	-
47	+	+	-	-
39	+	+	+	-
12	+	+	-	-
49	+	+	-	-

2.3.2.5. Analyse du cluster 5

Le cluster C5, contient 26 échantillons, c'est-à-dire plus du tiers de l'ensemble des individus (Fig. 88). Ce cluster se divise clairement en trois sous-groupes d'échantillons.

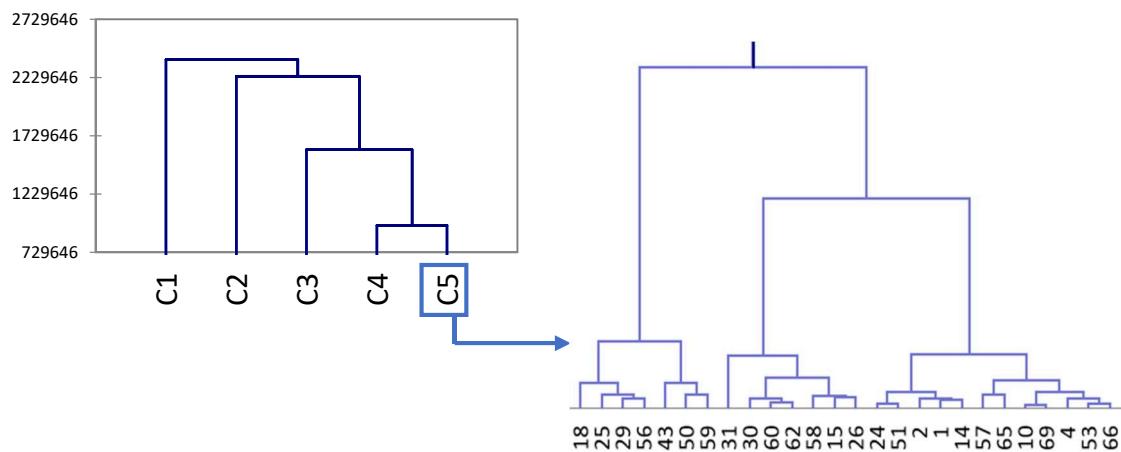
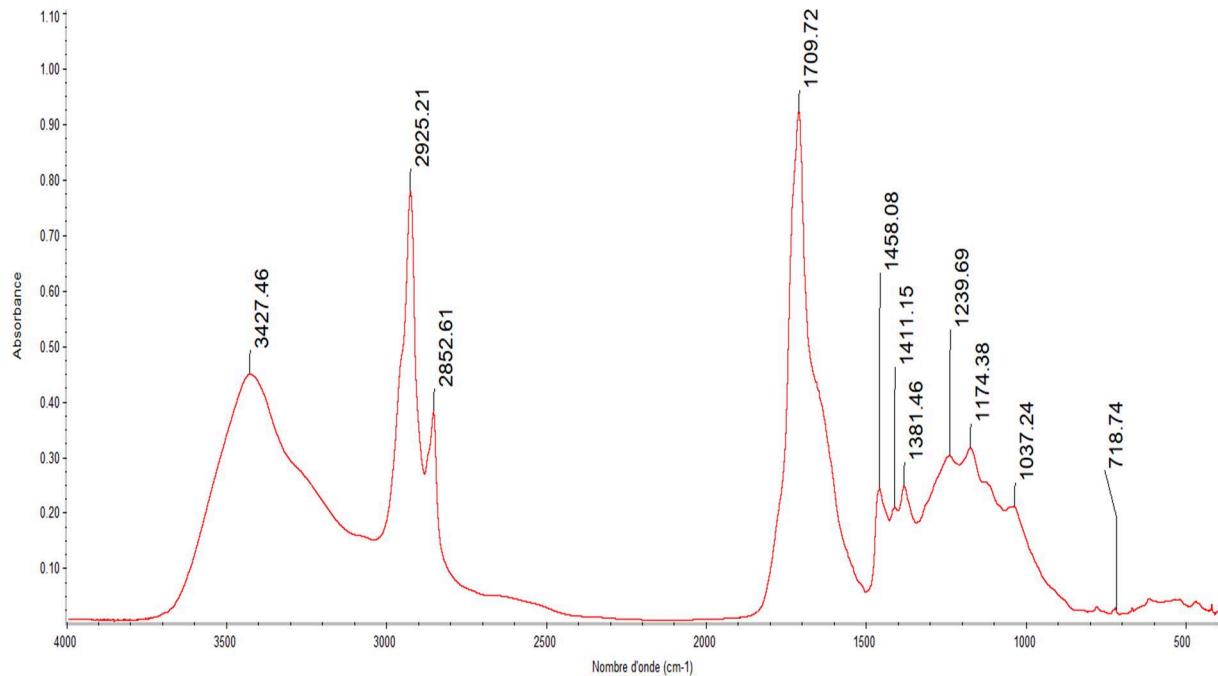


Figure 88: Dendrogramme du cluster 5 obtenu par CAH.

Le spectre IR moyen obtenu (Fig. 89) montre la présence de résine et de corps gras. Un léger épaulement au niveau de la bande caractéristique à 1640 cm^{-1} pourrait confirmer la présence de polysaccharides au sein de certains échantillons.



Ce spectre moyen est représentatif de l'ensemble des spectres infrarouges malgré leur grand nombre. La composition de chaque échantillon est quasi similaire et comprend des corps gras et des résines hormis pour deux échantillons : les 25 et 59 pour lesquels il n'y a pas les bandes dues aux matériaux résineux.

Pour les échantillons 18, 25, 29, 56, 43, 50, 59, 30, 31 et 60, il est possible d'observer les bandes caractéristiques des polysaccharides (Tableau 15).

Tableau 15: Composition des échantillons du cluster 5, obtenues après interprétation individuelle et FSD, + : présence, - : absence.

	Huile	Résine	Gomme
18	+	+	+
25	+	-	+
29	+	+	+
56	+	+	+
43	+	+	+
50	-	+	+
59	+	-	+
31	+	+	+
30	+	+	+
60	+	+	+
62	+	+	-
58	+	+	-
15	+	+	-
26	+	+	+
24	+	+	-
51	+	+	-
2	+	+	-
1	+	+	-
14	+	+	-
57	+	+	-
65	+	+	-
10	+	+	-
69	+	+	-
4	+	+	+
53	+	+	-
66	+	+	-

Pour conclure sur cette partie d'analyse des clusters et des spectres IR-TF de chaque baume, au vu du grand nombre d'échantillons, cinq clusters ont pu être formés par traitement statistique à l'aide de la CAH. Ces clusters ont permis de regrouper les individus entre eux selon leurs similarités. Il est déjà possible de constater des différences de formulation, notamment dans le cluster C1 où les spectres infrarouges se distinguent nettement des autres, de par la présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. Le cluster C2 semble être majoritairement formé de polysaccharides et de corps gras. Pour le cluster C3, les échantillons sont principalement composés de résines et de polysaccharides ; de plus certains échantillons sont composés de corps gras. Enfin pour les clusters C4 et C5, la similarité des spectres rend difficile de conclure quant à la formation de ces deux clusters, ceux-ci étant constitués de corps gras, de résine et certains échantillons de polysaccharides.

L'interprétation des spectres IR-TF des échantillons regroupés au sein des clusters 3, 4 et 5 a montré des similitudes au niveau de leur composition chimique. La formation de ces trois clusters distincts peut d'avantage s'expliquer par une différence d'intensité des bandes spectrales présentes, plus qu'une différence dans la composition des baumes étudiés. En effet, la superposition des trois spectres moyennés issu des C3, C4 et C5 traduit de fortes similitudes au niveau des bandes, seule leur intensité respective diverge (Fig. 90).

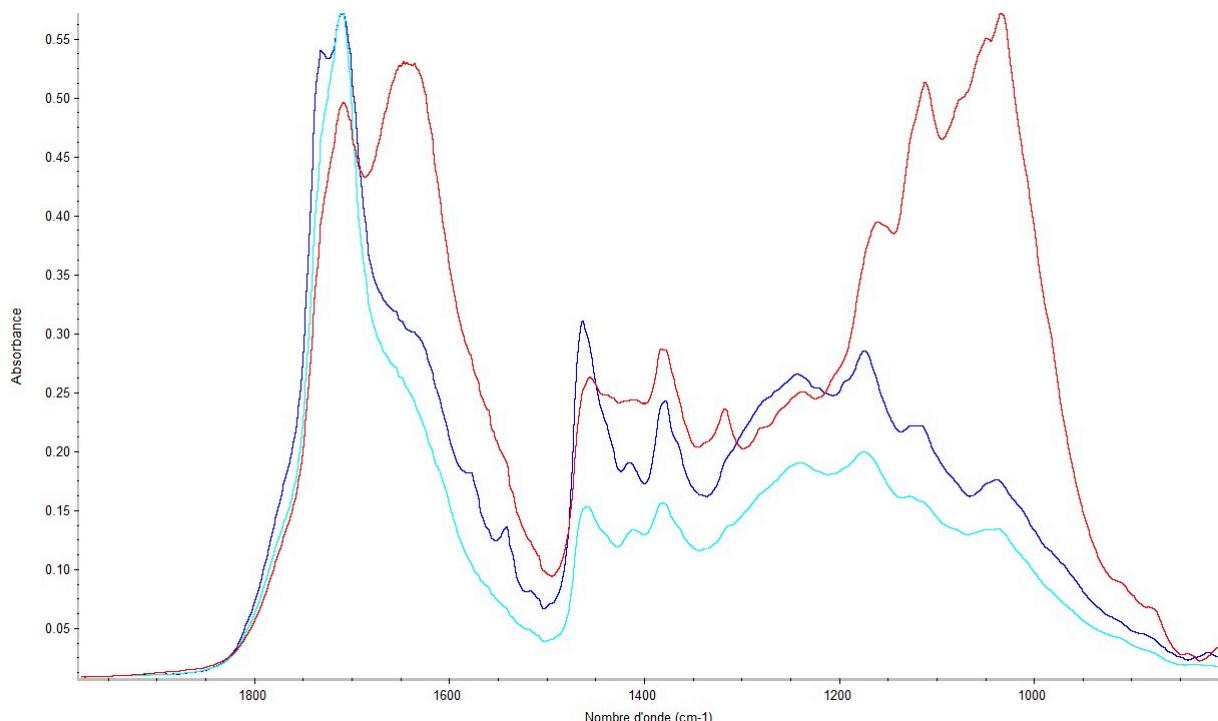


Figure 90: Superposition des spectres moyennés des clusters 3, 4 et 5 de 2000 à 800 cm^{-1} .

Aussi et compte-tenu de l'interprétation des spectres IR-TF des clusters 3, 4 et 5, le positionnement des 43 échantillons concernés en trois groupes distincts pourrait être dû :

- non pas à une formulation variée des baumes, mais sans doute à une différence au niveau de leur état de dégradation/altération
- l'aspect quantitatif est également à considérer, à savoir que les diverses substances employées dans la formulation de ces baumes ont été probablement introduites dans des proportions variées.

2.3.3. Analyse en Composantes Principales (ACP)

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec une autre équipe de l'UMR IMBE, spécialisée dans le traitement statistique des données. Afin d'une part de valider le travail préalablement réalisé utilisant les résultats obtenus par IR-TF mais aussi d'autre part d'approfondir ces derniers, Pr. Nathalie Dupuy de l'équipe Biotechnologie Environnementale et Chimiométrie (BEC) ainsi que Dr. Magalie Clayes-Bruno de l'équipe Biomarqueurs, Environnement, Santé (BES) ont apporté leur aide et leurs compétences en chimiométrie. Ainsi des expérimentations ont été réalisées au sein de ces deux laboratoires à Marseille, en utilisant un spectromètre infrarouge avec un module ATR équipé d'un cristal diamant, pour réaliser une Analyse en Composantes Principales (ACP). L'ACP est une méthode statistique essentiellement descriptive qui a pour but de présenter, sous une forme graphique, le maximum de l'information contenue dans un tableau de données comportant les valeurs de p variables quantitatives pour n individus.

L'ACP décompose une matrice \mathbf{X} selon l'équation suivante :

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E}$$

Avec :

- \mathbf{T} : matrice des coordonnées factorielles ou scores
- \mathbf{P} : matrice des composantes principales
- \mathbf{E} : matrice des résidus

Dans cette étude, l'algorithme utilisé pour calculer les valeurs propres est NIPALS (Non-linear Iterative Partial Least Squares) développé par Herman Wold en 1966.

Les représentations graphiques permettent de distinguer (ou non) des groupes parmi l'ensemble des individus en regardant ceux qui présentent des similarités et sont proches les uns des autres, ou ceux qui au contraire sont très différents. Au niveau de l'interprétation spectrale, l'ACP est également utile pour déterminer les variables qui sont corrélées entre elles, ainsi que celles qui ne le sont pas. Le principe de l'ACP consiste à maximiser la variance entre les points, par projection dans un espace de faibles dimensions. Chaque axe de projection est appelé *Composante Principale* et représente une combinaison linéaire des absorbances initiales qui contient l'information utile des spectres. La première composante principale est choisie dans la direction de la variance maximale de la matrice de variance/covariance. La seconde composante principale est orthogonale à la première de façon à être indépendante (non corrélée).

Les données en infrarouge ont été retraitées par le logiciel Unscrambler en appliquant certaines corrections afin de permettre d'éliminer les variations instrumentales. Le première est une correction de la ligne de base (*baseline* angl.) car les variations de celle-ci participent à une variance et donc elles peuvent affecter les différents spectres. La seconde correction est une normalisation (*Standard Normal Variate SNV* angl.) qui va permettre de vérifier que l'intensité est au maximum pour chacun des spectres.

Les résultats présentés ici sont de nature statistiques et ils seront comparés avec ceux précédemment obtenus par Classification Ascendante Hiérarchisée (CAH).

L'analyse en composantes principales indique que 3 principales composantes (PC) expliquent 85% de la variabilité avec 50% pour PC1, 25% pour PC2 et 10% pour PC3.

La première composante est représentée sur la figure 91, les bandes à 1730 et 1710 cm^{-1} sont caractéristiques des spectres projetés positivement dans l'ACP sur la composante 1. Tandis que les bandes à 1650 et 1540 cm^{-1} sont caractéristiques des spectres projetés négativement.

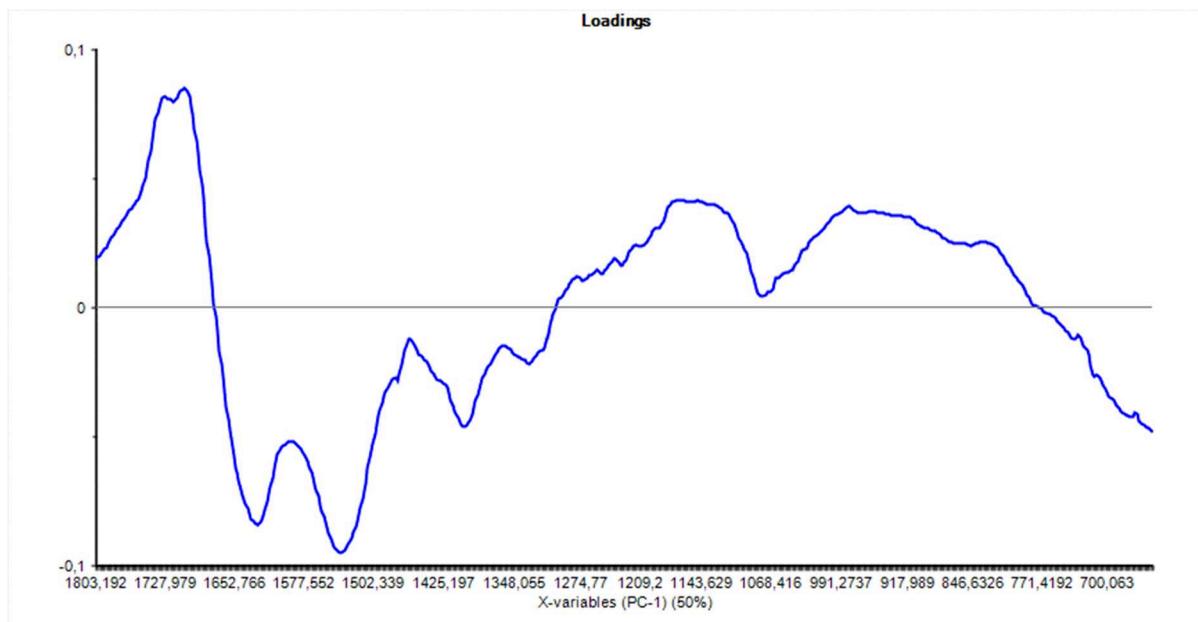


Figure 91: Loading de la composante 1 de l'ACP.

Cela signifie que sur l'ACP (Fig. 92), les échantillons le plus à droite de l'axe PC1 comportent des bandes des liaisons C=O attribuables à la présence de corps gras et de résine. De plus, les échantillons le plus à gauche de ce même axe comportent des bandes attribuables à la présence de polysaccharides.

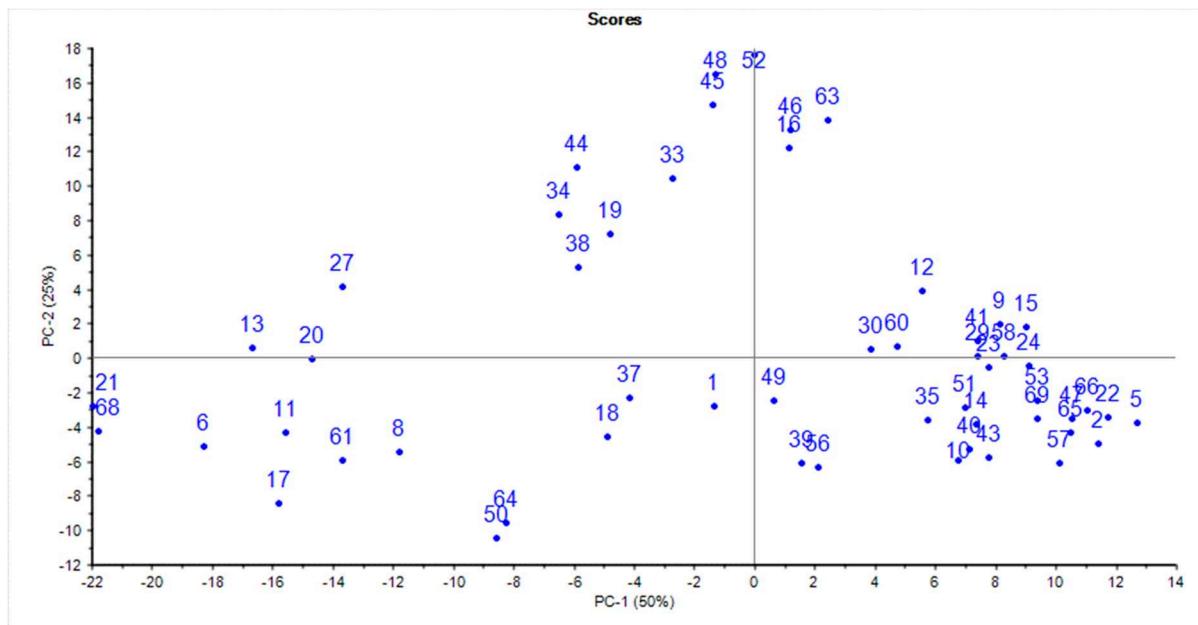


Figure 92: ACP: composantes 1 et 2. Logiciel Unscrambler.

La seconde composante est représentée sur la figure 93. La bande à 720 cm^{-1} est caractéristique des spectres projetés positivement dans l'ACP sur la composante 2, tandis que les bandes à 1710 et 1450 cm^{-1} sont caractéristiques des spectres projetés négativement. Cela

signifie que sur l'ACP (Fig. 93), les échantillons le plus en haut de l'axe PC2 contiennent des corps gras. De plus, les échantillons le plus en bas de ce même axe comportent des bandes attribuables à la présence corps gras et résines.

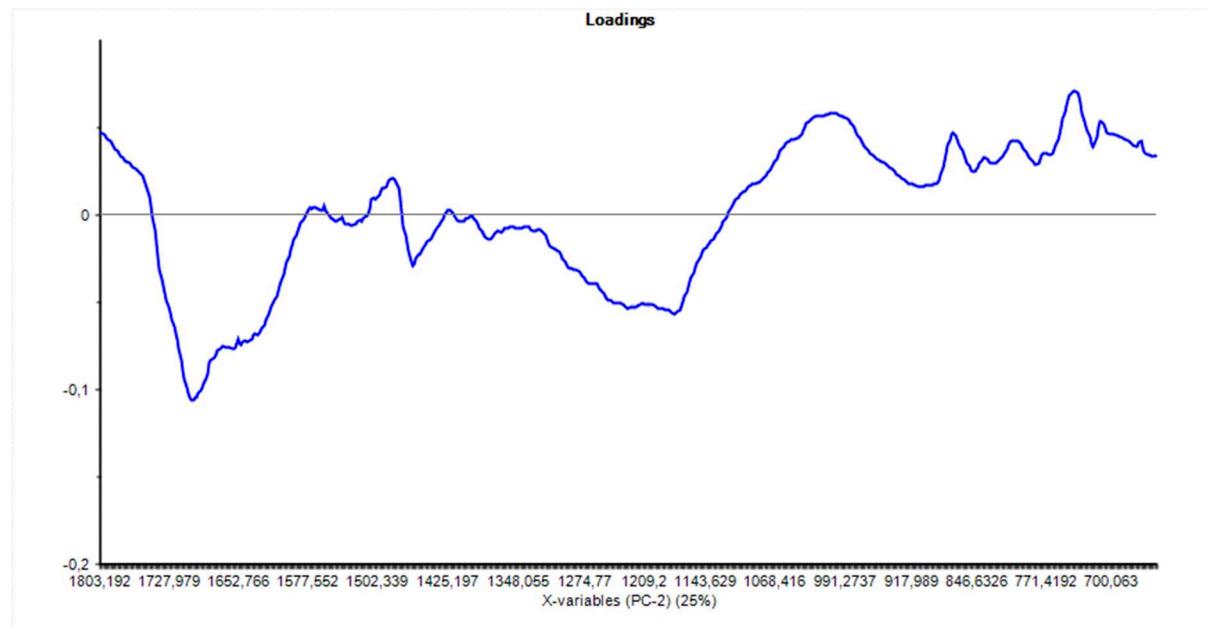


Figure 93: Loading de la composante 2.

Enfin la troisième composante est représentée sur la figure 94, la bande à 740 cm^{-1} est caractéristique des spectres projetés positivement dans l'ACP sur la composante 3, cette bande représente les liaisons C-H aromatiques. Les bandes à 1040 cm^{-1} , représentant les vibrations de déformation des liaisons C-H des polysaccharides, sont caractéristiques des spectres projetés négativement.

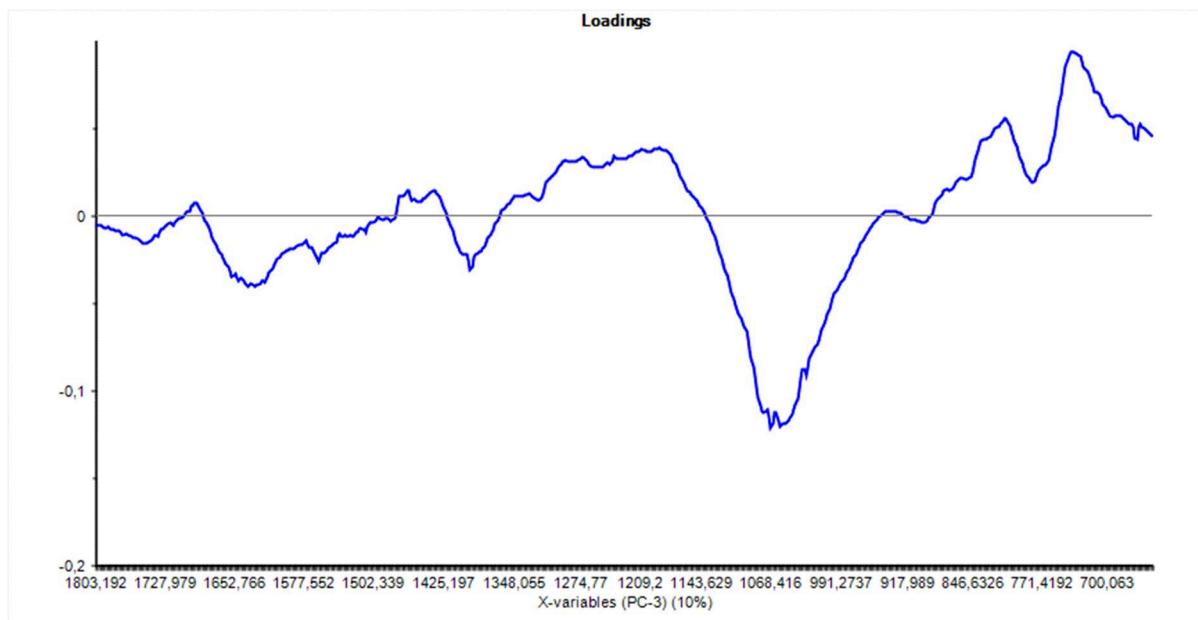


Figure 94: Loading de la composante 3.

Cela signifie que sur l'ACP (Fig. 95), les échantillons le plus en haut de l'axe PC3 sont composés de molécules aromatiques et les échantillons le plus en bas de ce même axe sont composés de gommes.

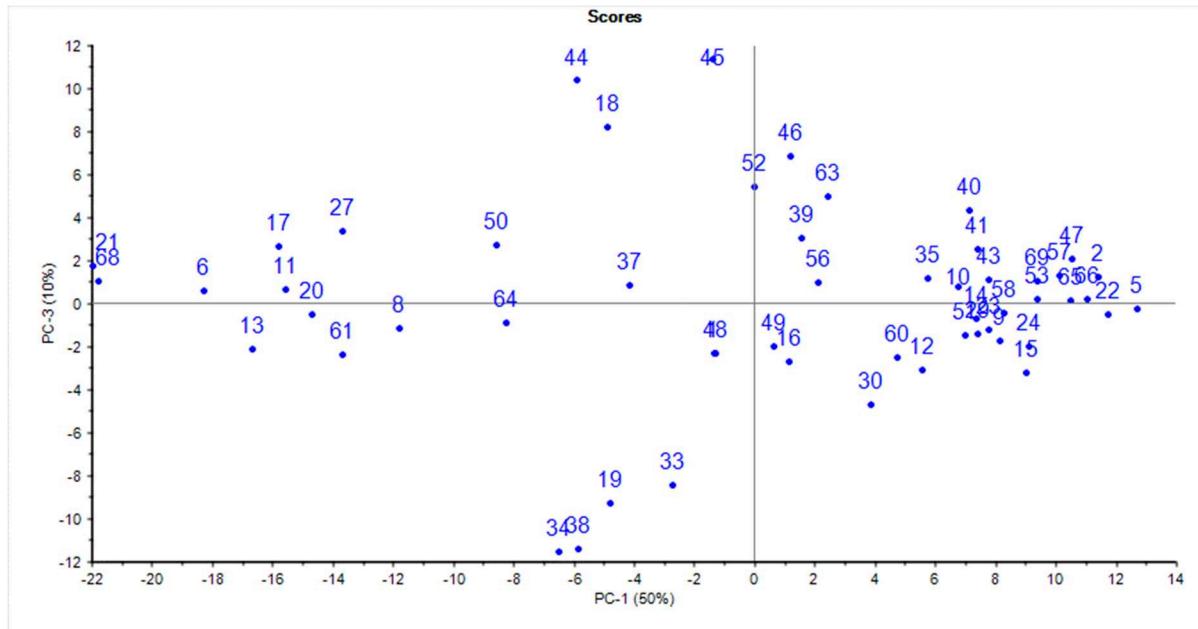


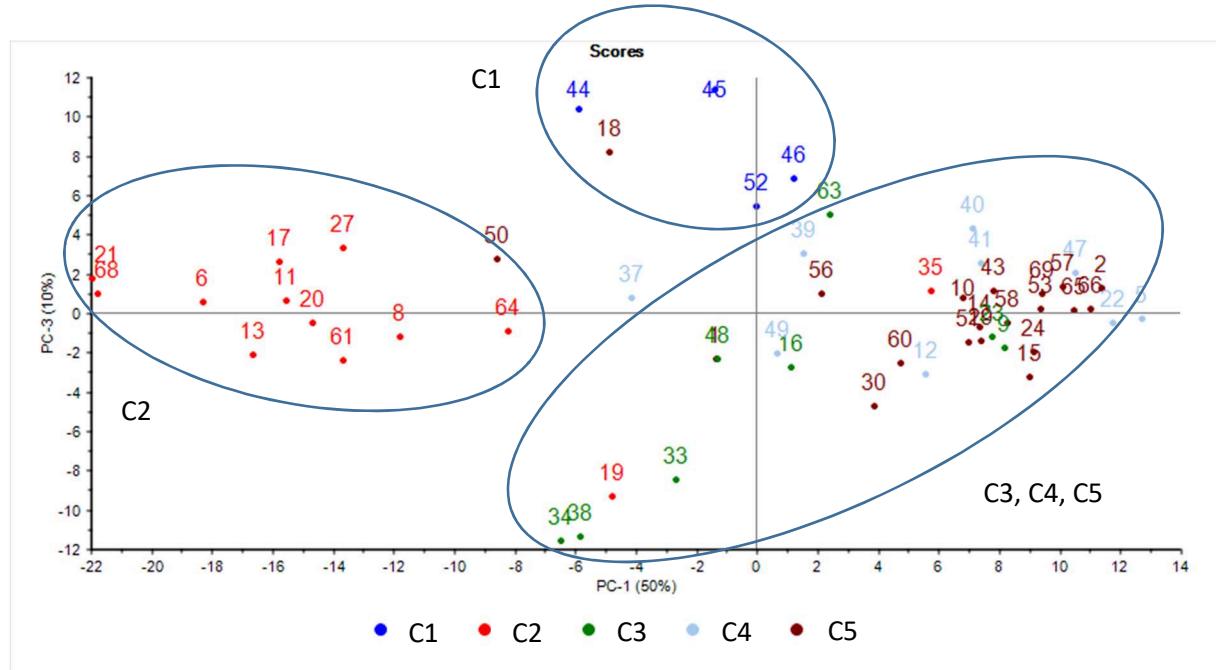
Figure 95: ACP: composantes 1 et 3. Logiciel Unscrambler.

Il a été décidé de conserver les composantes 1 et 3. La composante 2 n'apportant aucune information supplémentaire quant à la composition chimique des échantillons.

L'ACP avec PC 1 et PC 3 est représenté avec les groupes formés par CAH précédemment. Ces clusters ont été reportés dans l'ACP *via* l'utilisation de différents codes couleurs (Fig. 96).

Le cluster 1 (en bleu) est composé de 4 échantillons (pour rappel ce sont les 4 qui contiennent des HAP), sur l'ACP ils sont très proches ce qui montre une grande similarité au niveau de leur spectre infrarouge. L'échantillon 63 (Cluster 3 en CAH) est très proche également de ces échantillons, comme vu dans l'étude précédente, celui-ci contient également des HAP il est ce qui explique qu'il soit proche en ACP de ce cluster.

Le cluster 2 (en rouge) sur l'ACP, l'ensemble des échantillons de ce cluster est rassemblé du côté gauche, ils sont donc caractérisés par des polysaccharides comme attendu. L'échantillon 35 est très éloigné des autres ; il est difficile avec les données actuelles d'expliquer son éloignement des autres échantillons en ACP.



Les échantillons du cluster 3 (en vert) sont très éloignés les uns des autres et certains sont très proches des clusters 4 et 5. Les échantillons 34, 38, 33 et 48 ont des bandes caractéristiques des polysaccharides tandis que 63, 16, 23 et 9 sont caractérisés par des bandes attribuables aux corps gras et résines. Ceci corrobore les résultats obtenus par CAH.

Enfin les échantillons des clusters 4 et 5 ne sont pas séparés sur les composantes choisies (PC1 et PC3) de l'ACP. Ils sont caractérisés par les corps gras et les résines. Ces résultats sont en corrélation avec ceux obtenus par CAH après interprétation de chacun des spectres IR.

Pour conclure sur les statistiques réalisées à partir des spectres infrarouges, deux modules différents d'acquisition des données ont été utilisés correspondant respectivement au mode par transmission et par ATR ainsi qu'à deux techniques d'analyse statistiques respectives (CAH et ACP). L'ACP permet d'interpréter rapidement et directement l'ensemble des spectres infrarouge. Elle ne permet pas de connaître l'ensemble des matériaux utilisés pour la confection des baumes mais il est possible d'obtenir une idée préalable de leur composition sans avoir à passer par l'étape de l'interprétation individuelle de chacun des spectres.

Les résultats obtenus montrent des différences entre la CAH et l'ACP, ce qui est sûrement dû à l'hétérogénéité des matériaux présents au sein d'un même échantillon. Au regard des résultats de l'ACP, les clusters 1 et 2 sont complètement validés par la ressemblance des échantillons qui les composent. Le cluster 3 comprend des échantillons très éloignés les uns des autres et pourrait être regroupé avec les clusters 4 et 5.

3. Traitement des échantillons d'aspect sableux

Compte-tenu des observations macroscopiques préalablement réalisées, 4 échantillons d'aspect sableux (catégorie n°2) ont été observés au microscope optique à lumière polarisée, pour déterminer la nature isotrope ou anisotrope des échantillons. Ils ont été ensuite analysés par infrarouge et plus précisément par micro compression diamant et cartographie.

3.1. Observation par microscopie optique à lumière polarisée

Une étude microscopique a été réalisée sur ces prélèvements afin de déterminer la nature des différentes particules composant ces baumes. A noter que ces travaux ont été effectués avec l'aide de Elkamel Soufiane, étudiant stagiaire de Licence 3 chimie (Avignon Université).

Cette étude concerne quatre échantillons de baumes provenant de deux momies distinctes référencées 30000150 et 30000306 (Tableau 16).

Tableau 16: Référence des 4 échantillons ainsi que les zones de prélèvement.

Momie	Numéro	Zone de prélèvement
30000150	20	intracrânier
	33	externe du crâne
30000306	30	externe du crâne
	31	intrabuccale

Les échantillons n°20 et 33 proviennent de la momie 30000150 et ont été respectivement prélevés au niveau intracrânier et en externe du crâne. Tandis que les échantillons n°30 et 31 proviennent de la momie 30000306 qui ont respectivement été prélevés en externe du crâne et au niveau intrabuccal.

Pour les quatre échantillons étudiés ici, quelle que soit la position de la platine mobile toutes les particules restent éteintes, ce qui signifie la présence d'un matériau isotrope. Néanmoins pour l'échantillon 30, une particule s'éclaire et s'éteint en fonction de l'angle de la platine mobile (Fig. 97).



Figure 97: Observation au microscope optique X40 de l'échantillon 30 (momie 30000306) : (A) sans lumière polarisée, (B) avec lumière polarisée et un angle de 90°, (C) avec lumière polarisée et un angle de 45°.

Il s'agit donc d'un composé anisotrope possédant un réseau cristallin. Cette particule a été isolée, pour être analysée par IR-TF parallèlement aux autres cristaux.

A l'issue de ces observations par microscopie optique à lumière polarisée, sur les quatre prélèvements étudiés, seul l'échantillon 30 comporte des particules isotropes et anisotropes, tandis que les trois autres sont constitués uniquement de particules isotropes.

Afin de caractériser la nature de ces particules avec ou sans réseau cristallin, une étude par IR-TF a été réalisée.

3.2. Analyse par IR-TF par micro-compression diamant

Au vu des différences de tailles des particules à analyser et pour rendre le traitement de ces échantillons automatique, l'assistant « Particles Wizard » de l'appareil a été employé. Cet outil d'analyse de particules localise les échantillons présents sur une carte (*map* angl.), mesure la taille de chaque particule et utilise ces dimensions afin de régler la taille du faisceau IR pour chacune d'entre-elles. Après avoir collecté tous les spectres, le logiciel va déterminer l'emplacement du bruit de fond (*background* angl.) approprié.

La figure 98 présente la capture de la mosaïque de l'échantillon n°30, ainsi que les différentes particules étudiées avec la taille du faisceau lors de l'analyse correspondant. La particule notée A est la particule blanche précédemment isolée (cf. partie 3.1.). Les particules B, C et D sont des particules de couleurs respectives orange, marron et noire.

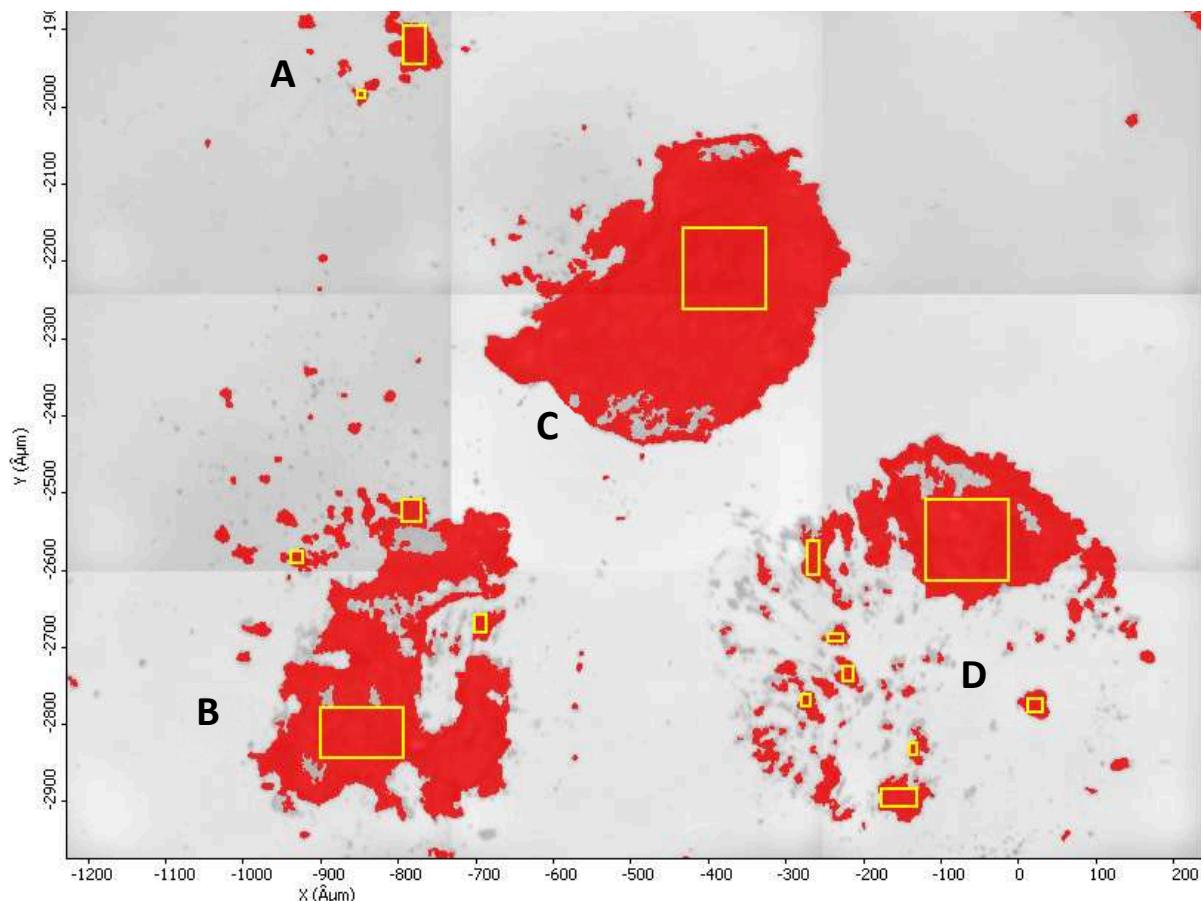


Figure 98: Mosaïque observée au microscope infrarouge représentant les 4 particules isolées suite à l'étude macroscopique : (A) particule blanche, (B) particule orange, (C) particule marron, (D) particule noire.

Le spectre infrarouge de la particule A (Fig. 99) est caractéristique d'un composé inorganique car il possède plusieurs bandes entre 1 200 et 600 cm^{-1} et n'absorbe pas entre 4000 et 1200

cm^{-1} . Deux bandes à 1150 et 1110 cm^{-1} et deux autres à 640 et 614 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'elongation de la liaison S-O du sulfate de sodium (Maglione et Carn 1975). Le sulfate de sodium est un des constituants principaux du natron (Josset 1996).

Pour les trois autres particules (B, C et D), celles-ci possèdent des spectres infrarouge quasi identiques ; aussi seul le spectre de la figure B est présenté ici (Fig. 100). De nombreuses bandes sont visibles sur ce spectre, notamment des bandes caractéristiques de la matière organique : les bandes d'elongation à 3420 cm^{-1} , caractéristiques des liaisons O-H, vers 2960 cm^{-1} caractéristiques des liaison C-H, à 1705 cm^{-1} pour la liaison C=O, et les bandes de déformation à 1460, 1380 et 1235 cm^{-1} de ces liaisons. La correspondance de ce spectre avec la banque de données de l'appareil traduit une corrélation à plus de 80% avec de la résine mastic.

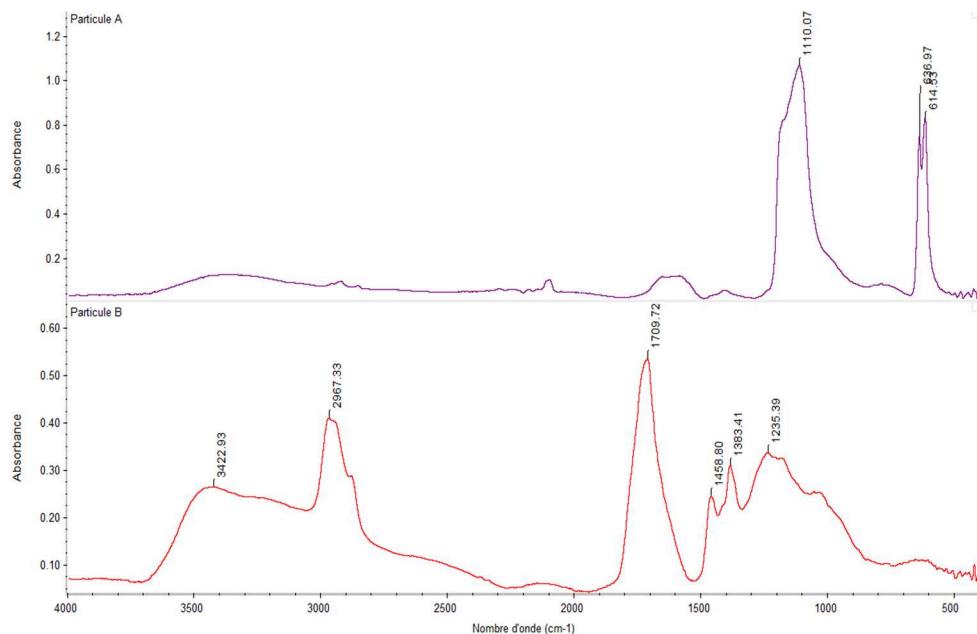


Figure 99: Spectres infrarouge de la particule A et de la particule B.

Les autres échantillons de baumes de momies, n°20, 31 et 33 ont également été traités avec cette méthodologie. Les analyses par infrarouge ont confirmé l'absence de substance minérale au sein de ces échantillons. De plus, la comparaison de ces spectres avec la banque de données de l'appareil montre aussi une très forte corrélation avec de la résine mastic (82 %).

4. Conclusion de l'étude spectroscopique

Une méthodologie générale de traitement des échantillons archéologiques a été mise en place dans cette partie (Fig. 100). Une observation macroscopique a permis de séparer les échantillons en deux catégories : ceux d'aspect amorphe (catégorie n°1) et ceux d'aspect sableux (catégorie n°2). Ces échantillons ont été ensuite analysés par infrarouge à transformée de Fourier.

Les échantillons d'aspect amorphe (catégorie n°1) ont été analysés sur pastille de KBr ainsi qu'en mode ATR. L'ensemble des données spectrales collectées pour les 61 échantillons a donné lieu à des traitements statistiques de données.

- Ceux obtenus par Classification Ascendante Hiérarchique ont formés 5 groupes d'échantillons. La formation de certains groupes, tels que les clusters 1 et 2, est parfaitement validée par les interprétations spectrales individuelles de chaque échantillon. Les clusters 3, 4 et 5 ne sont pas validés, car après interprétation individuelle de chacun des spectres correspondants, ils pourraient ne former qu'un seul groupe. Ceci pourrait s'expliquer par la différence non pas des diverses substances utilisées pour la réalisation des baumes mais par des variations de leurs proportions en mélange ainsi que leur état de dégradation et/ou altération respectif.
- Ceux obtenus par Analyse en Composantes Principales ont permis de montrer 3 groupes distinct pouvant s'apparenter, en référence aux résultats de la CAH, aux clusters 1 et 2 ainsi qu'au regroupement des clusters 3, 4 et 5.

L'utilisation des traitements statistiques de données dans le cas d'échantillons de baume de momies permet de faire un premier tri, en regroupant les échantillons et ainsi de faciliter leur interprétation. Cependant, l'emploi de ces outils statistiques possède certaines limites dans le sens où le but était de regrouper des échantillons qui sont très dissemblant individuellement.

Les échantillons d'aspect sableux (catégorie n°2) ont tout d'abord été traités par micro-compression diamant et cartographie. Cette technique a permis d'identifier deux types de

types de composés : inorganique et organique. La fraction inorganique (en très faible proportion) a été identifiée à du natron, substance utilisée en Egypte ancienne avant application du baume, afin d'enlever toutes traces d'eau éventuelles et donc d'éviter tout développement bactérien. La fraction organique a été caractérisée comme étant de la résine triterpénique mastic (Anacardiacée, *Pistacia*). Cette fraction organique a ensuite été traitée par transmission en mode pastille de KBr.

Pour ce qui est de l'interprétation individuelle de chaque spectre infrarouge et des substances identifiées, la caractérisation des bandes spectrales issues de l'étude des échantillons archéologiques (mélange qui peut avoir été chauffé et dégradé/altéré) a été moins évidente comparativement à celle des substances naturelles contemporaines et de référence :

- Les résines contemporaines ou en très grande proportion dans un mélange peuvent être distinguées en IR qu'elles soient diterpénique ou triterpénique avec la bande des C=O qui est, respectivement, avant ou après 1700 cm^{-1} . Cependant, dans certains mélanges, les bandes des C=O peuvent se décaler et ainsi empêcher la fine distinction du type de résine.
- La détection de bitume au sein d'échantillons archéologiques est délicate. En effet, les bandes caractéristiques du bitume sont identiques à celles d'autres substances comme les corps gras par exemple. L'identification du bitume a été possible dans un seul échantillon car les bandes des C-H n'étaient pas accompagnées d'autres bandes.
- La cire d'abeille n'a pas été identifiée par infrarouge car les bandes caractéristiques de celle-ci sont communes à celle des huiles ou des résines. L'intensité des quatre bandes à 1730, 1470, 1170 et 724 cm^{-1} pourrait renseigner sur leur nature, néanmoins au vu de la superposition des bandes en IR, il est difficile de détecter celles-ci avec assurance dans un mélange.
- Les corps gras, quant à eux, sont identifiables par infrarouge car ils possèdent des bandes très intenses vers 1740 cm^{-1} .
- Enfin les gommes sont également facilement caractérisables, cependant l'origine de ces dernières n'est pas certaine. Elles peuvent être dues à la présence de gomme végétale, tout comme à celle de gommo-résine ou bien provenir du textile des bandelettes employées lors de la momification.

L'étude par spectroscopie infrarouge a permis d'avoir une franche idée quant à la composition chimique des divers échantillons. Au sein des 61 échantillons étudiés, il a été identifié quasi-systématiquement la présence de corps gras, il y a également de la résine dans la moitié des échantillons ainsi que des polysaccharides. Les autres substances telles que la cire d'abeille et le bitume n'ont pas été identifiées.

Dans cette étude et par cette technique spectroscopique, il a été possible d'identifier uniquement les composants majoritaires des mélanges que constituent les baumes. De plus, les interprétations spectrales ont permis de mettre en évidence des proportions importantes de corps gras.

L'étape suivante est donc d'utiliser une technique d'analyse séparative couplée à un détecteur universel pour la matière organique, afin d'affiner la détection et la caractérisation des diverses substances naturelles présentes au sein des baumes mais également d'obtenir une idée quant à leur état de dégradation et/ou conservation.

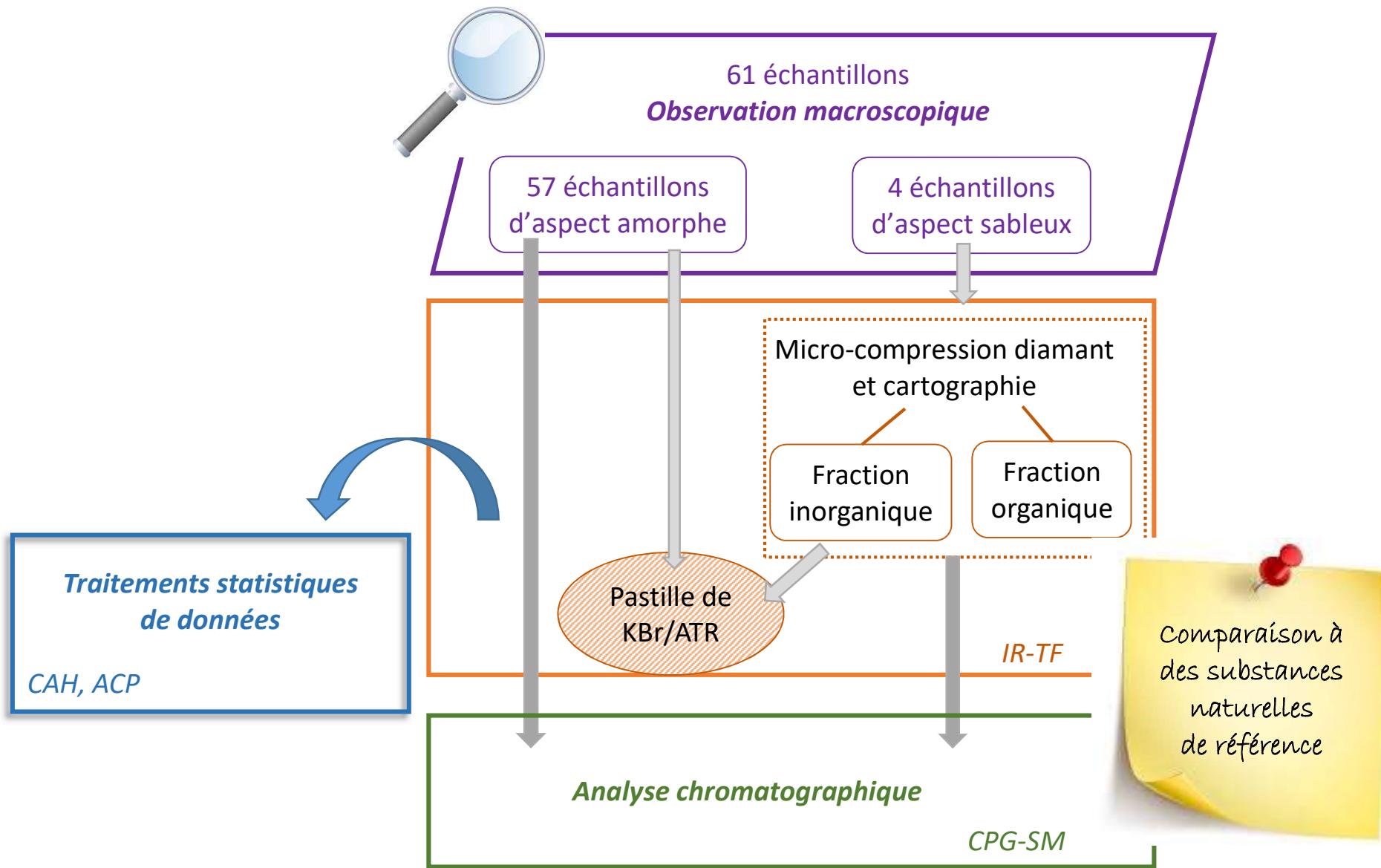


Figure 100: Méthodologie générale de traitement des échantillons.

Chapitre 5.

Etude par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

Ce chapitre a pour but d'affiner l'identification moléculaire de la composition des baumes. La chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse va permettre d'identifier des marqueurs et biomarqueurs chimiques qui ont un rôle important dans l'identification de processus de dégradation. En effet, les matériaux utilisés ont pu subir des processus d'oxydation et d'altération naturellement avec le temps ou en raison de facteurs anthropiques.

L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM) pour l'analyse de la partie organique des baumes de momies est la technique analytique la plus répandue dans la littérature (Colombini *et al.* 2002; Buckley 2001; Modugno, Ribechini, et Colombini 2006; Charrié-Duhaut *et al.* 2009; Bera *et al.* 2016; Jones *et al.* 2018). Elle permet de séparer et d'identifier un grand nombre de composés organiques provenant d'une matrice complexe même à l'état de traces.

Dans un premier temps, une analyse par CPG-SM des divers matériaux de référence présentés dans les chapitres précédents, tels que les corps gras, les résines, le bitume et la cire d'abeille, a été réalisée pour identifier les principaux marqueurs. Ensuite l'ensemble des échantillons a été analysé en utilisant une méthode d'extraction avec un solvant unique, dite aussi conventionnelle, dans le but d'avoir le maximum d'informations avec un minimum de préparation d'échantillons. Cette étude par CPG-SM faisant suite et lien avec celle par IR-TF, il a été choisi de présenter les résultats chromatographiques des échantillons appartenant aux clusters préalablement définis en infrarouge. Le but étant d'approfondir la caractérisation des baumes et d'identifier des marqueurs chimiques de dégradation et d'altération et des biomarqueurs.

Une étude statistique a ensuite été réalisée sur l'ensemble des échantillons contenant de la résine diterpénique, ce qui a permis d'obtenir graphiquement des informations complémentaires plus visibles qu'à la seule lecture du tableau de données.

Enfin, au vu des résultats obtenus par la méthode d'extraction conventionnelle, il s'est avéré que certaines familles chimiques sont difficiles à caractériser avec précision en raison de leur faible concentration mais également de la forte proportion d'autres substances tels que les acides gras donc en raison des mélanges complexes des baumes. Ainsi, une étape de préparation des échantillons par extraction en phase solide (SPE) a été développée pour séparer et concentrer chaque famille chimique présente et ainsi augmenter la connaissance de la composition chimique et de la formulation des baumes.

1. Etude des substances naturelles contemporaines

L'étude des substances naturelles contemporaines, telles que les huiles, les résines di- ou triterpéniques, la cire d'abeille et le bitume est primordiale pour l'interprétation des chromatogrammes, d'autant plus lorsque ces substances sont présentes sous la forme de mélange. La détermination des temps de rétention de la majorité des composés et leurs spectres de masse permet de caractériser chacune de ces molécules et donc de faciliter leur identification en contexte archéologique.

1.1. Caractérisation des corps gras

Dans les conditions d'analyse appliquées (gradient p77) les acides gras, sont élués entre 8 et 25 minutes. Sur une huile végétale d'huile (huile d'olive Puget), préalablement saponifiée, il a été possible d'identifier l'acide palmitoléique (C 16 :1), l'acide palmitique (C 16 :0), l'acide oléique (C 18 :1) et l'acide stéarique (C 18 :0) (Fig. 101). Les stérols, cholestérol et campestérol ont été injectés séparément, ils ont respectivement un temps de rétention de 46,6 et 49,2 minutes.

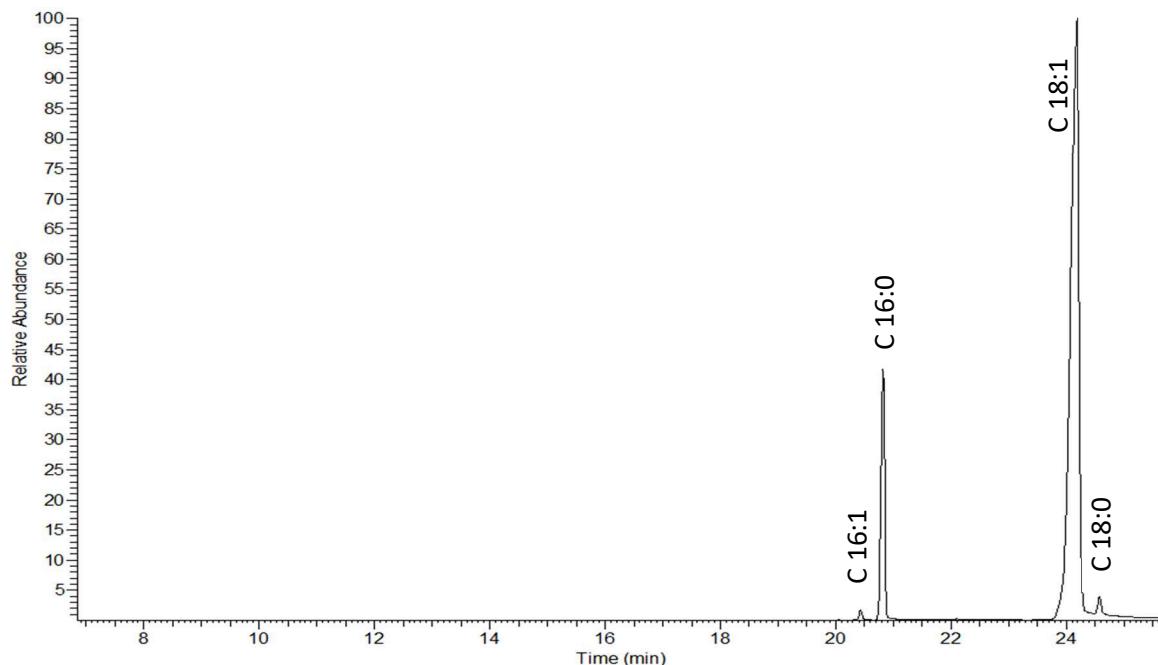


Figure 101: Chromatogramme d'une huile d'olive Puget.

Les temps de rétention, le nom des composés, la masse molaire et les principales fragmentations en masse de chaque molécule détectée sont présentés dans le tableau 17. Il est à noter que dans ce manuscrit l'ensemble des masses molaires Mw données sont les masses molaires des composés après triméthylsilylation. Les pics de base sont notés en bleu ; de plus les fragments indiqués sont ceux qui représentent plus de 20% de l'abondance relative de chacun des spectres de masse.

Tableau 17: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans les huiles et graisses végétales.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
20.4	C 16 :1	326	326,311,129,117,73
20.8	C 16 :0	328	328,313,129,117,73
24.2	C 18 :1	354	354,339,129,117,73
24.6	C 18 :0	356	356,341,129,117,73
46.6	Cholestérol	458	458,443,368,353,329,145,95,73
49.2	Campestérol	472	472,457,382,367,343,145,95,73

Il est possible d'observer la présence du fragment $m/z=73$, c'est un fragment non caractéristique des molécules étudiées mais dû à la triméthylsilylation : ${}^2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$

D'autres acides gras saturés, tels que l'acide laurique (C 12 :0) ou l'acide myristique (C 14 :0) par exemple, sont souvent présents dans d'autres huiles (huile de coco ou l'huile de palmiste, ...). Le spectre de masse d'un acide gras est facilement identifiable car il possède une empreinte caractéristique. Seuls, les pics moléculaires varient et renseignent quant au nombre d'atomes de carbone sur la chaîne aliphatique.

1.2. Caractérisation de la cire d'abeille

Du fait de sa composition chimique, la cire d'abeille nécessite une étape préalable de saponification avant injection en CPG-SM. En effet, elle est composée d'esters de masses molaires élevées, il est donc préférable de réaliser ce traitement préalable afin de détecter les acides carboxyliques et alcools correspondants. Les molécules de cire d'abeille ainsi hydrolysées sont éluées à partir de 20 minutes et jusqu'à 55 minutes. Pour interpréter le chromatogramme suivant (Fig. 102), il a fallu diminuer l'énergie d'ionisation de la source du spectre de masse. A 70 eV, les pics moléculaires des alcools n'étaient pas présents. Des essais

ont été réalisés à 50, 40 et 30 eV. L'ionisation optimale pour obtenir leur masse molaire a été fixée à 30 eV.

Les molécules détectées dans la cire d'abeille sont les acides palmitique, oléique, stéarique, des alcanes, et des alcools en C24, C26, C28, C30 et C32.

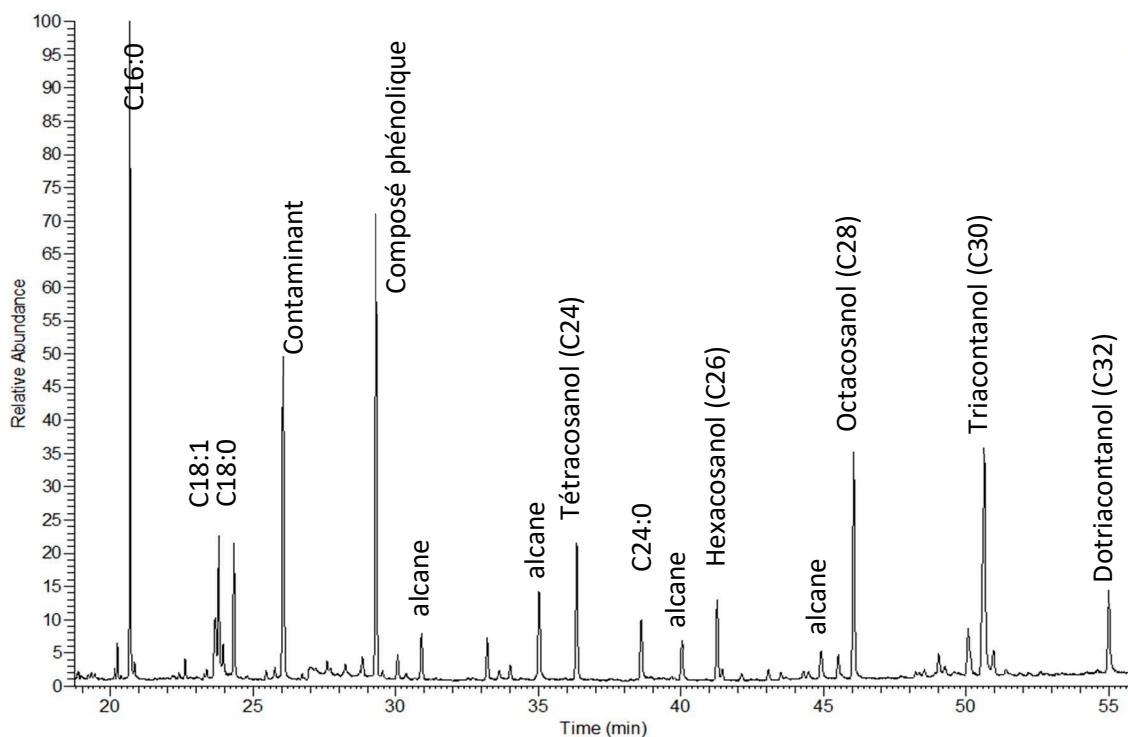


Figure 102: Chromatogramme de la cire d'abeille.

Le tableau suivant regroupe l'ensemble des données obtenues par CPG-SM sur ces molécules (Tableau 18).

Tableau 18: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans la cire d'abeille. Pics de base sont notés en bleu.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
20.7	C 16:0	328	328,313,143,129, 117 ,73
23.8	C 18:1	354	354,339,143,129, 117 ,73
24.3	C 18:0	356	356,341,143,129, 117 ,73
36.3	Tétracosanol	426	426,411,337,138,110, 97 ,73
38.6	C 24:0	440	440,425,143,129, 117 ,73
41.3	Hexacosanol	454	454,439,365,138,110, 97 ,73
46	Octacosanol	482	482,467,393,138,110, 97 ,73
50.64	Triacontanol	510	510,495,420,138,110, 97 ,73
55	Dotriacontanol	538	538,523,449,138,110, 97 ,73

1.3. Caractérisation des résines

1.3.1. Résine diterpénique

Dans les conditions d'analyses appliquées (gradient p77), les molécules des résines diterpéniques sont éluées avec des temps de rétention entre 25 et 35 minutes. Une résine de Pinacées, la colophane, a permis d'identifier les acides pimarique, sandaracopimarique, isopimarique, palustrique, déhydroabiétique (DHA), abiétique, 3-hydroxy-déhydroabiétique (3-hydroxy-DHA), 7-hydroxy-déhydroabiétique (7-hydroxy-DHA), déhydro-déhydroabiétique (DH-DHA) et 7-oxo-déhydroabiétique (7-oxo-DHA) (Fig. 103).

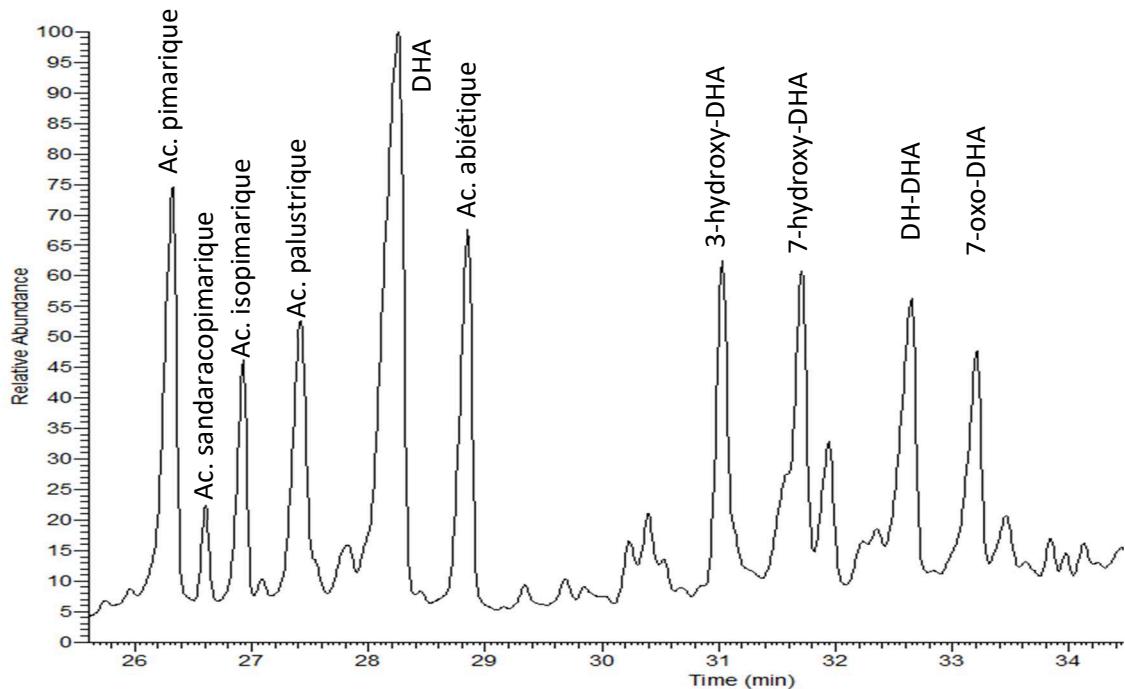


Figure 103: Chromatogramme d'une résine de pin.

Les temps de rétention, le nom des composés, la masse molaire et les principales fragmentations en masse de chaque molécule détectée sont rassemblés dans le tableau 19.

Tableau 19: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans une résine de pin.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
26.3	Ac. pimarique	374	374,359,257,241, 121 ,105,91,73
26.6	Ac. sandaracopimarique	374	374,359,346,256,241, 121 ,105,91,73
26.9	Ac. isopimarique	374	374,359,256, 241 ,185,91,73
27.4	Ac. palustrique	374	374,359,256, 241 ,213,185,73
28.2	DHA	372	372,357,250, 239 ,73
28.8	Ac. abiétique	374	374,359,256,241,213, 185 ,73
31	3-hydroxy-DHA	460	460,445,417,341,299,253,237,211, 191 ,73
31.7	7-hydroxy-DHA	460	460,445,417,199,253,237,211, 191 ,155,73
32.6	DH-DHA	370	370,355, 255 ,237,183,131,73
33.2	7-oxo-DHA	386	386,371,327,296,285,268, 253 ,187,73

1.3.2. Résine triterpénique

Les molécules des résines triterpéniques sont éluées (avec le gradient p77) avec des temps de rétention entre 50 et 61 minutes. La résine étudiée ici est une résine mastic, les molécules détectées sont le lanostérol, la β -amyrine, l'oléandièn-3-one, l'acide moronique, l'acide oléanonique, l'aldéhyde oléanonique, l'acide masticadiénonique et l'acide isomasticadiénonique (Fig. 104).

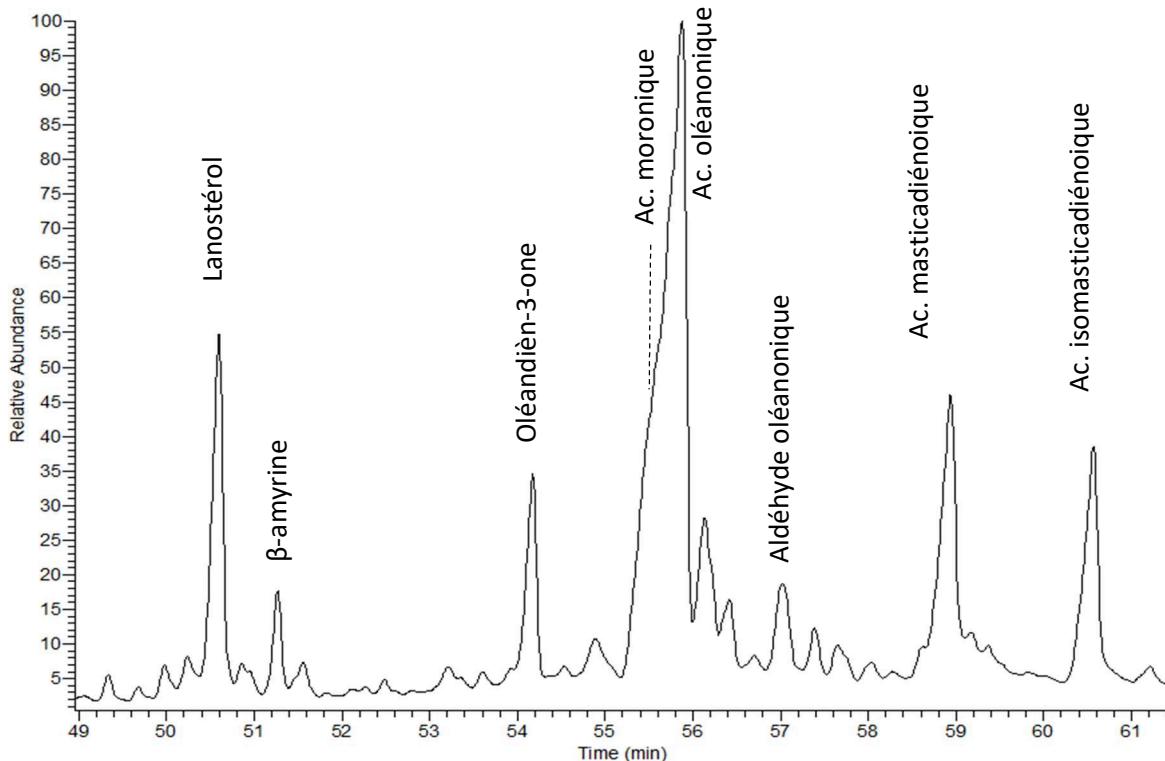


Figure 104: Chromatogramme de la résine mastic.

Le tableau suivant regroupe l'ensemble des données obtenues par chromatographie sur ces molécules (Tableau 20).

Tableau 20: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans une résine mastic.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
50.6	Lanostérol	498	498,483,393,203,190,175,161,147,133,119,95, 81 , 73
51.3	β -amyrine	498	498,408,393,218, 203 , 189, 175, 161, 147, 119, 105, 73
54.2	Oléandièn-3-one	422	422,407,325, 216 , 203, 188, 175, 161, 145, 119, 105, 91, 73
55.5	Ac. moronique	526	526,409,391,306,281,213,203, 189 , 175, 119, 105, 91, 73
55.8	Ac. oléanonique	526	526,409,391,306,281,213, 203 , 189, 175, 119, 105, 91, 73
57	Aldéhyde oléanonique	438	438,407,257,203, 187 , 175, 159, 145, 133, 119, 107, 91, 73
58.9	Ac. (iso)masticadiénoïque	526	526,511,493,421,403,393,257,213,203,189, 159 , 73
60.6	Ac. (iso)masticadiénoïque	526	526,511,493,421,403,393,257, 213 , 203, 189, 159, 73

1.4. Caractérisation du bitume

Le bitume possède trois familles chimiques de molécules ; ici est étudié du bitume de la mer Morte. Les alcanes sont élués en début du chromatogramme de 10 à 25 minutes. Les hopanes et stéranes sont élués de 37 à 50 minutes (Fig. 105).

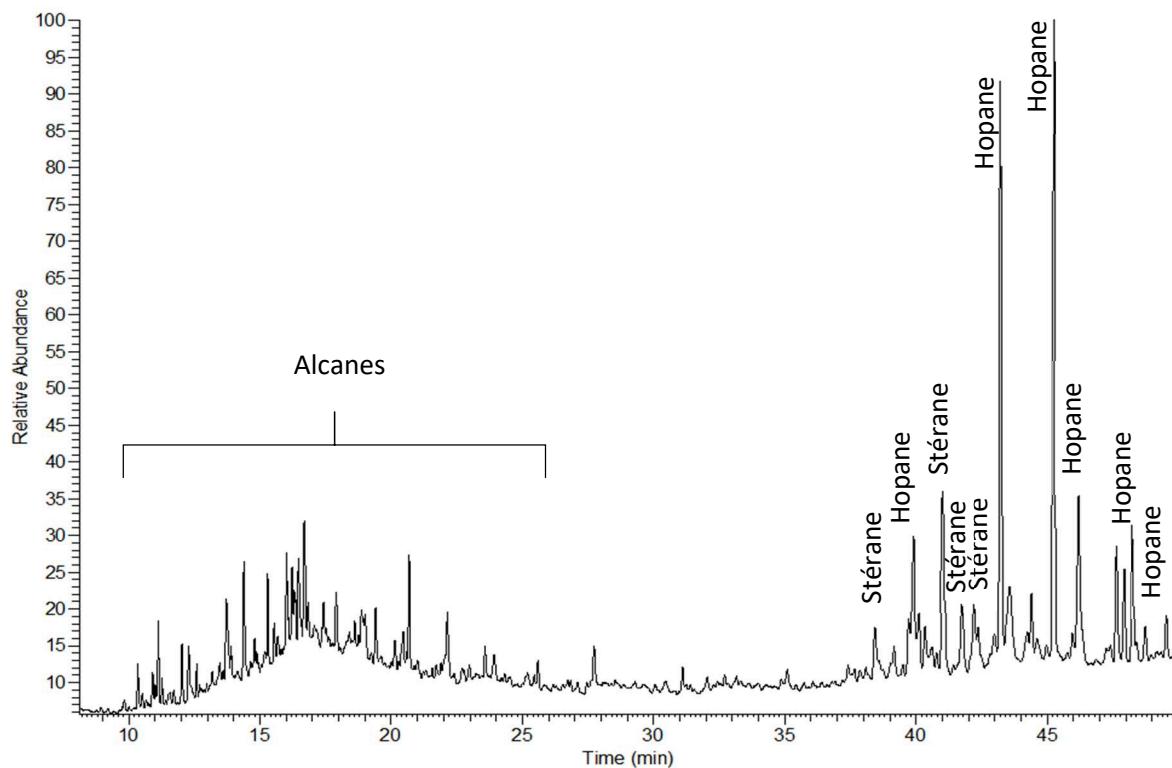


Figure 105: Chromatogramme de bitume provenant de la mer Morte.

Les temps de rétention, le nom des composés et les principaux fragments en masse de chaque molécule détectée sont rassemblés dans le tableau 21.

Tableau 21: Temps de rétention et fragmentation des composés présents dans un bitume archéologique.

Tr (min)	Composé	Fragmentation
10 à 20	Alcanes	153,139,125,111,97,83,69,55,41
38.4	Stérane	217 ,203,148,121,107,95,81
39.9	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68
41	Stérane	217 ,203,148,121,107,95,81
41.7	Stérane	217 ,203,148,121,107,95,81
42.1	Stérane	217 ,203,148,121,107,95,81
43.2	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68
45.2	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68
46.2	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68
48.2	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68
48.7	Hopane	217, 191 ,135,121,109,95,79,68

Dans nos conditions d'analyse, les spectres de masse des hopanes sont tous identiques, il est donc difficile de caractériser spécifiquement chaque molécule de cette famille, ce qui est également le cas pour les stéranes. Une diminution de l'énergie d'ionisation fixée ici à 70 eV, permettrait très certainement de visualiser le pic moléculaire de chacun de ces composés et ainsi permettre une plus fine identification de ces derniers. Cependant, la caractérisation des familles des hopanes et des stéranes suffit, à elle seule, à déterminer la présence de bitume, qui est l'objectif ciblé ici dans cette étude. Pour cela, deux rapports de m/z sont ciblés correspondant aux fragments majoritairement formés à partir de ces deux familles chimiques : pour les hopanes il s'agit de m/z 191 et pour les stéranes du m/z 217 (Fig. 106 et 107).

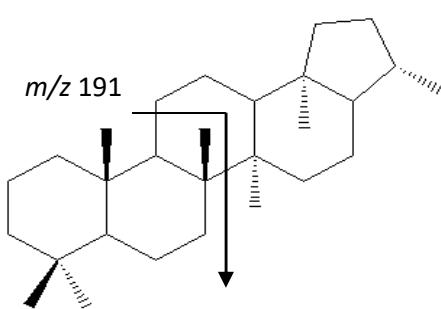


Figure 106: Schéma de fragmentation des hopanes.

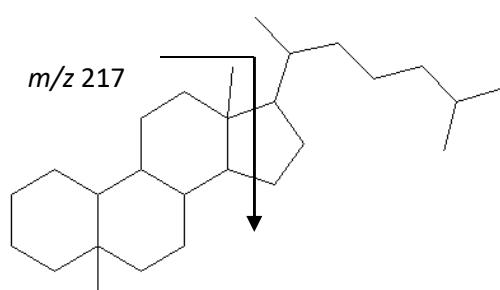


Figure 107: Schéma de fragmentation des stéranes.

Ainsi, l'ensemble des substances ayant été analysé, il est possible d'observer que certaines des substances possèdent des zones de rétention similaires à d'autres. Le bitume par exemple est élué au même temps de rétention que les acides gras, les résines diterpéniques et la cire d'abeille (Fig. 108).

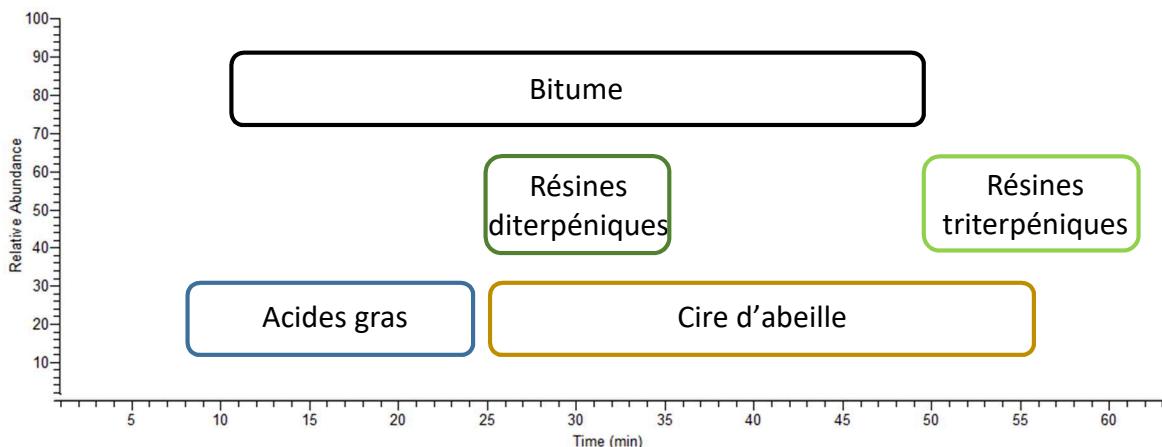


Figure 108: Temps de rétention des différentes substances naturelles présentes au sein de baumes.

2. Application aux échantillons archéologiques : approche conventionnelle

En première analyse, il a été décidé d'extraire les échantillons avec une méthode conventionnelle, en utilisant un solvant classique d'extraction, dans le but d'avoir en un minimum de temps (manipulations et temps d'analyse), une majorité d'informations concernant les substances présentes au sein des 61 échantillons de l'étude.

Tous les échantillons de baumes ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse et la totalité des chromatogrammes sont présentés en annexe de ce manuscrit de thèse. Seuls certains d'entre eux seront commentés dans la partie résultat.

Pour rappel, des clusters ont été formés à partir des données obtenues par infrarouge. Premièrement, il a été décidé d'aborder par cluster les résultats de CPG et de les comparer avec ceux de l'infrarouge. Ensuite les résultats ont été discutés par famille chimique afin de montrer les apports de la chromatographie.

2.1. Résultats : Composés identifiés par CPG-SM

2.1.1. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 1

Les 4 échantillons de ce cluster, 52, 44, 45 et 46 ont des chromatogrammes très similaires (Fig. 109). Les molécules détectées par ordre d'élution sont le naphtalène, l'acénaphthène, le

phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthrène, le pyrène, le triphénylène, le benzanthracène, le pérylène, le benzopyrène, le benzopérylène et le dibenzopyrène. Ces molécules sont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) identifiés à l'aide de la banque de données et de molécules standards.

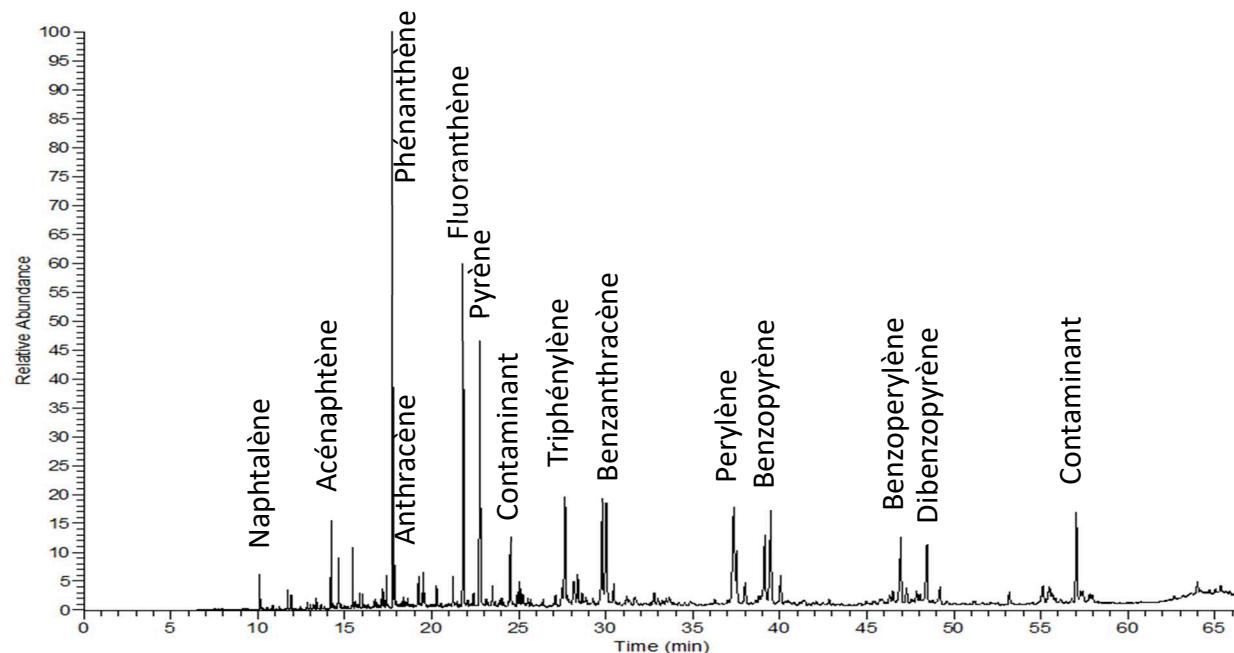


Figure 109 Chromatogramme TIC de la momie 52.

Les fragmentations de ces molécules en masse sont rassemblées dans le tableau 22.

Tableau 22: Temps de rétention et fragmentation des HAP identifiés par CPG-SM.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
10.2	Naphtalène	128	128 ,102,74,50
14.1	Acénaphthène	154	154 ,126,76,63,50
17.7	Phénanthrène	178	178 ,152,87,76,63,50
17.8	Anthracène	178	178 ,152,87,76,63,50
21.8	Fluoranthène	202	202 ,174,100,88,76
22.7	Pyrène	202	202 ,174,100,88,76
27.6	Triphénylènes	228	228 ,202,112,101,88,74
29.8	Benzanthracène	228	228 ,202,112,101,88,74
37.3	Pérylène	252	252 ,224,123,113,98,74
39.5	Benzopyrène	252	252 ,224,123,113,98,74
46.9	Benzopérylène	276	276 ,248,138,124,112,91
48.5	Dibenzopyrène	276	276 ,248,138,124,112,91

D'autres substances chimiques ont été détectées dans ces échantillons (Tableau 23), telles que de l'acide palmitique et des traces de résine de Pinacées.

Tableau 23: Autres substances présentes dans les échantillons du cluster 1.

ECH	AG	RESINE
44	C16:0	Rétène (tr)
52	C16:0	Rétène (tr)
45	C16:0	Rétène (tr)
46	C16:0	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA

Il est possible d'observer une homogénéité des résultats des échantillons de ce cluster.

2.1.2. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 2

Au sein de ce cluster, certains composés sont comparés entre eux *via* une analyse semi-quantitative basée sur le calcul de pourcentage d'aire relatif. Celui-ci a été élaboré à partir de la somme totale des aires de tous les composés détectés, c'est-à-dire présents sur les chromatogrammes. Cette aire totale a été par la suite normalisée à 100%.

Les chromatogrammes obtenus pour les échantillons de ce cluster 2 traduisent pour l'ensemble des 14 échantillons une proportion relative minimale de 60 % en acides gras et pour 10 d'entre eux, ces proportions sont supérieures à 70 %. Cinq échantillons contiennent des acides dicarboxyliques avec des proportions inférieures à 5%, ce qui représente un faible pourcentage relatif de ces composés au sein des baumes de ce cluster (comparativement aux autres clusters étudiés). Hormis l'échantillon 35, tous les autres échantillons contiennent du cholestérol et 4 d'entre eux contiennent du campestérol. Une résine diterpénique de Pinacées a été identifiée au sein des 7 échantillons : les 8, 11, 17, 64, 6, 68 et 61. L'échantillon 20 possède les marqueurs chimiques d'une résine triterpénique nommée mastic, du genre *Pistacia* et de la famille des Anacardiacées. Aucun échantillon ne semble contenir de cire d'abeille suite à cette extraction par approche conventionnelle. Pour les échantillons 35, 61, 8 et 11, la présence de bitume est suspectée avec la détection de deux familles chimiques : des molécules alkanes et des hopanes (Tableau 24).

Tableau 24: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 2.

ECH	AG (C)	AG (DC)	STEROLS	RESINE	CIRE D'ABEILLE	BITUME
35	9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:0	7, 9	-	-	-	Alcanes, hopanes
3	9:0, 12:0, 14:0, 16:1, 16:0, 18:1, 18:0	-	Cholestérol (tr)	-	-	-
21	9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	9 (tr)	Cholestérol	-	-	-
6	9:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0, 20:0	9	Cholestérol, campestérol	Rétène (tr), DHA (tr), 7-oxo-DHA	-	-
28=68	9:0, 14:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0	-	Cholestérol	DHA, 7-oxo-DHA	-	-
61	9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:1 (tr), 16:0, 17:1, 17:0, 18:1, 18:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	Cholestérol	DHA (tr), 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes
8	9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0	9	Cholestérol, campestérol	Rétène, DHA, 7-hydroxy, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes
11	14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	-	Cholestérol, campestérol	Rétène, DHA, 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes
17	14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	-	Cholestérol, campestérol	Rétène, DHA, 7-oxo-DHA	-	-
64	14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, 20:1, 20:0, 22:1, 22:0, 24:0	8, 9	Cholestérol	DHA, 7-oxo-DHA	-	-
19	14:0, 16:1, 16:0, 18:1, 18:0		Cholestérol	-	-	-
20	9:0, 10:0, 12:0, 13:0, 14:2, 14:1, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 18:1, 18:0, 17:1, 17:0, 18:1, 18:0, 20:1, 20:0, 22:0, 24:0	4, 8, 9	Cholestérol	Ac. moronique, ac. oléanonique	-	-
13	9:0, 14:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0	-	Cholestérol	-	-	-
27	8:0, 9:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0	-	Cholestérol	-	-	-

La formation du cluster C2 est expliquée par les grandes proportions d'acides gras monocarboxyliques et la quasi absence d'acides gras dicarboxyliques. La totalité des baumes étudiés ici comporte du cholestérol et certains d'entre eux du campestérol. Enfin, 4 échantillons pourraient contenir du bitume.

2.1.3. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 3

Après analyse chromatographique il s'avère que tous les baumes de ce cluster sont composés d'acides gras monocarboxyliques entre 5 et 40%. Pour trois échantillons, de l'acide azélaïque a été détecté. Tous les échantillons contiennent également de la résine di et/ou triterpénique. En effet, l'échantillon 34 contient des traces d'acide déhydroabiétique et des marqueurs de résine mastic. La cire d'abeille a été détectée dans l'échantillon 9. Du bitume est suspecté dans l'échantillon 34. Enfin l'échantillon 63, comme l'indiquait l'analyse infrarouge comporte effectivement des HAP (Tableau 25).

Tableau 25: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 3.

ECH	AG (C)	AG (DC)	STEROLS	RESINE	CIRE D'ABEILLE	BITUME	HAP
33	9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	-	-	24-noroléanane, β -amyrine, hydroxy-28-noroléanane, oléan-12B-diène, ac. moronique, ac. oléanonique	-	-	-
34	9:0, 10:0, 14:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0 (tr)	9	Cholestérol	DHA (tr), ac. moronique, ac. oléanonique, ac. isomasticadiénique	-	Alcanes, hopanes	-
38	9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	-	Cholestérol	Rétène (tr)	-	-	-
63	9:0, 16:0, acide ricinoléique	-	Cholestérol, campestérol	Rétène (tr), DHA (tr), 7-oxo-DHA	-	-	Fluoranthène, pyrène, triphénylène, benzanthracène, pérylène, benzopyrène
16	9:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0	9	Cholestérol	DHA, 7-hydroxy-DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
48	9:0, 14:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0	-	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
23	8:0 9:0, 14:0, 16:0, 17:0, 18:0	9	-	DHA (tr), 7-oxo-DHA (tr)	-	-	-
9	8:0 9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0	7, 8, 9	-	Rétène, DHA, 7-oxo-DHA	24:0, 26:0, 28:0	Alcanes, hopanes	-

A l'interprétation de l'ensemble de ces résultats, aucune tendance générale dans la composition de ces baumes se dégage. De plus, les profils moléculaires se distinguent au niveau des proportions en acides gras pouvant aller de 5 à 40%. Il en est de même pour la famille des résines qui peut être de nature di- ou triterpénique et dont les proportions au sein des baumes varient. A titre d'exemple, la résine mastic est le matériau majoritaire dans l'échantillon 33.

2.1.4. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 4

Ce cluster contient 9 échantillons, 37, 40, 5, 22, 41, 47, 39, 12 et 49. Après l'analyse chromatographique, tous ces baumes sont composés d'acides gras, avec des proportions très variées allant de 15% à 90% et de résine hormis pour l'échantillon 37. Trois échantillons contiennent de la cire d'abeille : 5, 41 et 47. Enfin du bitume est présent dans l'échantillon 41 et il est suspecté dans les échantillons 5, 22 et 12 (Tableau 26).

Pour l'échantillon 37, les bandes qui avaient été attribuées au bitume semblent correspondre à un ensemble de molécules à faible poids moléculaire. Sur le chromatogramme, un grand nombre de molécules éluées entre 10 et 20 minutes, n'a pas été identifié mais montre des squelettes de sesquiterpène (molécule bicyclique à 15 carbones), ce qui explique l'éloignement de cet échantillon par rapport aux autres dans le dendrogramme.

Tableau 26: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 4.

ECH	AG (C)	AG (DC)	STEROLS	RESINE	CIRE D'ABEILLE	BITUME
37	14:0, 16:0, 18:0	-	-	-	-	-
40	9:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0 (tr)	9	Cholestérol	Ac. pimarique, ac. sandaracopimarique, ac. isopimarique, DHA, ac. abiétique, 3-hydroxy-DHA, 7-hydroxy-DHA, 15-hydroxy, 7-oxo-DHA	-	-
5	8:0 9:0, 10:0, 14:0, 16:0, 17:0, 18:1 (tr), 18:0, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), DHA (tr), 7-oxo-DHA	26:0, 28:0, 30:0	Alcanes, hopanes
22	8:0 9:0, 10:0, 14:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0	9	-	Rétène (tr), DHA (tr), 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes
41	8:0 9:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0, 24:0	6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	26:0 (tr), 28:0 (tr)	Alcanes, hopanes, stéranes
47	8:0 9:0, 12:0, 13:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0, 24:0	4, 5, 6, 7, 8, 9	-	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	26:0, 28:0, 30:0	-
39	9:0, 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0, 24:0	-	Cholestérol	DHA (tr), 7-oxo-DHA (tr)	-	-
12	8:0 9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, ricinoléique	5, 7, 8, 9	-	Rétène, DHA, 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes
49	9:0, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, 20:1, 20:0, 22:1, 22:0	6, 7, 8, 9, 10, 11	Cholestérol	DHA	-	-

Ce cluster rassemble des échantillons contenant une grande diversité d'acides gras monocarboxyliques et dicarboxyliques. L'ensemble des baumes contient une résine polyterpénique. L'échantillon 37 est un peu à part dans ce cluster (Cf chapitre 4).

2.1.5. Composés identifiés dans les échantillons du cluster 5

Ce cluster comprend 26 échantillons, c'est à dire le tiers des prélèvements de cette étude. Après analyse chromatographique, la totalité des baumes contient des acides gras monocarboxyliques divers allant de l'acide C 8 :0 à l'acide C 24 :0, avec des proportions très variées (15% à 90%). Ils sont également riches en acides gras dicarboxyliques (du DC 4 au DC 12). Seuls 3 échantillons comportent du cholestérol : 18, 62 et 1. Hormis 3 échantillons (25, 56 et 50), tous les autres contiennent de la résine de Pinacées ou du mastic. Pour la cire d'abeille, l'échantillon 43 possède les marqueurs caractéristiques de cette substance, l'échantillon 25 présente uniquement l'acide gras à 26 atomes de carbone ce qui n'est pas suffisant pour certifier la présence de ce matériau. Enfin, le bitume est détecté dans l'échantillon 58 et il est suspecté dans les échantillons 43, 50, 2, 14 et 4 (Tableau 27).

Tableau 27: Molécules détectées par CPG-SM dans les échantillons du cluster 5.

ECH	AG (C)	AG (DC)	STEROLS	RESINE	CIRE D'ABEILLE	BITUME	HAP
18	8:0, 9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0	4, 6, 7, 8, 9, 10	Cholestérol	Rétène (tr), DHA, 7-hydroxy-DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
25	8:0, 9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	-	26:0	-	-
29	8:0, 9:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0	6, 7, 8, 9	-	Rétène (tr), DHA	-	-	-
56	9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0, ricinoléique, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	-	-	-	-
43	9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, 20:0, 24:0	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10	-	DHA, 7-oxo-DHA	26:0, 28:0	Alcanes, hopanes	-
50	9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1 (tr), 18:0	7, 8, 9, 10	-	-	-	Alcanes, hopanes	-
59	14:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0	7, 8, 9, 10, 11	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes, stéranes	-
31	6:0, 8:0 9:0, 14:0, 15:0, 16:1 16:0, 17:0, 18:1 (tr), 18:0	9, 10	-	Noroléanane-14,17-diène-3-one, 24-noroléanane-3,12-diène, 28-noroléanane-12-ène-3-one, β -amyrine, hydroxy-28-noroléanane, oléane-12B-diène, ac. moronique, ac. oléanonique	-	-	-
30	6:0, 8:0 9:0, 14:0, 15:0, 16:1 16:0, 17:0, 18:1 (tr), 18:0	9, 10	-	Noroléanane-14,17-diène-3-one, 24-noroléanane-3,12-diène, 28-noroléanane-12-ène-3-one, beta-amyrine, hydroxy-28-noroléanane, oléane-12B-diène, ac. moronique, ac. oléanonique	-	-	-

60	9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 18:1, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
7=62	8:0, 9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, ricinoléique, 22:0, 24:0	7, 8, 9, 10, 11	Cholestérol	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
58	9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	Fluoranthène, pyrène, perylène, benzopyrène, benzopérylène, dibenzopyrène
15	8:0, 9:0, 10:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:0	7, 8, 9, 10	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
26	8:0, 9:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0	6, 7, 8, 9	-	Rétène (tr), 7-oxo-DHA	-	-	-
24	8:0, 9:0, 10:0, 14:0, 16:0, 18:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	DHA (tr), 7-oxo-DHA (tr)	-	-	-
51	9:0, 12:0, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
2	8:0, 9:0, 10:0, 14:0, 16:0, 18:1, 18:0	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12	-	7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes	-
1	8:0, 9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0	5, 7, 8, 9, 10	Cholestérol	Rétène (tr), DHA, 7-hydroxy-DHA, 7-oxo-DHA	-	-	-
14	8:0, 9:0, 10:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:1, 18:0, ricinoléique	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA	-	Alcanes, hopanes	-
57	9:0, 10:0, 14:0, 15:0, 16:1, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, ricinoléique, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-

65	9:0, 16:0, 18:0	9	-	Rétène, ac. pimarique, ac. sandaracopimarique, ac. isopimarique, DHA, abiétique, 3-hydroxy-DHA, 7-hydroxy-DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-
10	8:0, 9:0, 10:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène, DHA (tr), 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-
69	9:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:1, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0	5, 6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-
4	8:0, 9:0, 16:0, 18:1, 18:0	8, 9	-	Rétène, DHA, 7-oxo	-	Alcanes, hopanes	-
53	9:0, 14:0, 16:0, 18:1 (tr), 18:0	6, 7, 8, 9, 10	-	Rétène (tr), pimarique, sandaracopimarique, DHA, 3-hydroxy-DHA, 7-hydroxy-DHA, 15-hydroxy-DHA, 7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-
66	9:0, 14:0, 16:1 (tr), 16:0, 18:0	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11	-	7-oxo-DHA, 15-hydroxy-7-oxo-DHA	-	-	-

Au vu de la composition chimique de chaque échantillon, il est possible de souligner une tendance qui explique la formation de ce cluster C5. Les échantillons contiennent une grande diversité d'acides gras monocarboxyliques et dicarboxyliques. La quasi-totalité des individus présente également une matière résineuse. Il est possible de noter l'absence de cholestérol dans les échantillons de ce cluster (hormis pour 3 échantillons sur les 26).

2.2. Discussion : apport de la chromatographie gazeuse

2.2.1. Corps gras

De nombreux marqueurs de corps gras ont été détectés par la méthode conventionnelle d'extraction, que ce soit des acides gras monocarboxyliques, dicarboxyliques, hydroxylés et des stérols.

Les acides monocarboxyliques saturés peuvent donner de nombreuses informations quant à la nature du corps gras utilisé. Tout d'abord il y a le rapport des aires du C 16:0/C 18:0. Dans la littérature, il est possible de déterminer la nature du corps gras à l'aide de ce rapport. Si celui-ci est inférieur à 1, il y a forte probabilité d'être en présence d'une graisse animale et à contrario si le rapport est supérieur à 1, d'une huile végétale (Clark 2006). Cette méthode n'est cependant pas applicable en contexte archéologique car les proportions de ces molécules peuvent changer avec la dégradation du matériau (*Confer chapitre 1*) ou même être dues à des mélanges d'huile et de graisse. Cette méthode n'est donc pas adaptée pour l'analyse de baumes de momie. De même que les proportions des acides gras saturés pairs à courte chaîne carbonée, qui ne donne pas beaucoup d'informations car ces molécules sont certainement issues d'une dégradation du corps gras. Par contre les acides gras saturés impairs C13 :0, C15 :0 et/ou C17 :0, détectés dans 24 échantillons, sont des acides peu présents dans le règne végétal. Ils sont généralement rencontrés en faible quantité dans de la graisse animale de ruminant, dans le lait (Bosze 2007) et peuvent également provenir de bactéries provenant du sol qui sont capables de les métaboliser (Gottschalk et Gottschalk 1986; Eldor 2006). Sur les 24 échantillons, beaucoup ne contiennent qu'un seul acide gras impair, hormis l'échantillon 20 qui possède les 3 acides gras impairs (Fig. 110 et tableau 28) et il n'y a pas forcément de cholestérol donc il est difficile de conclure sur l'origine animale de la graisse ou dégradation bactérienne (Łucejko *et al.* 2012).

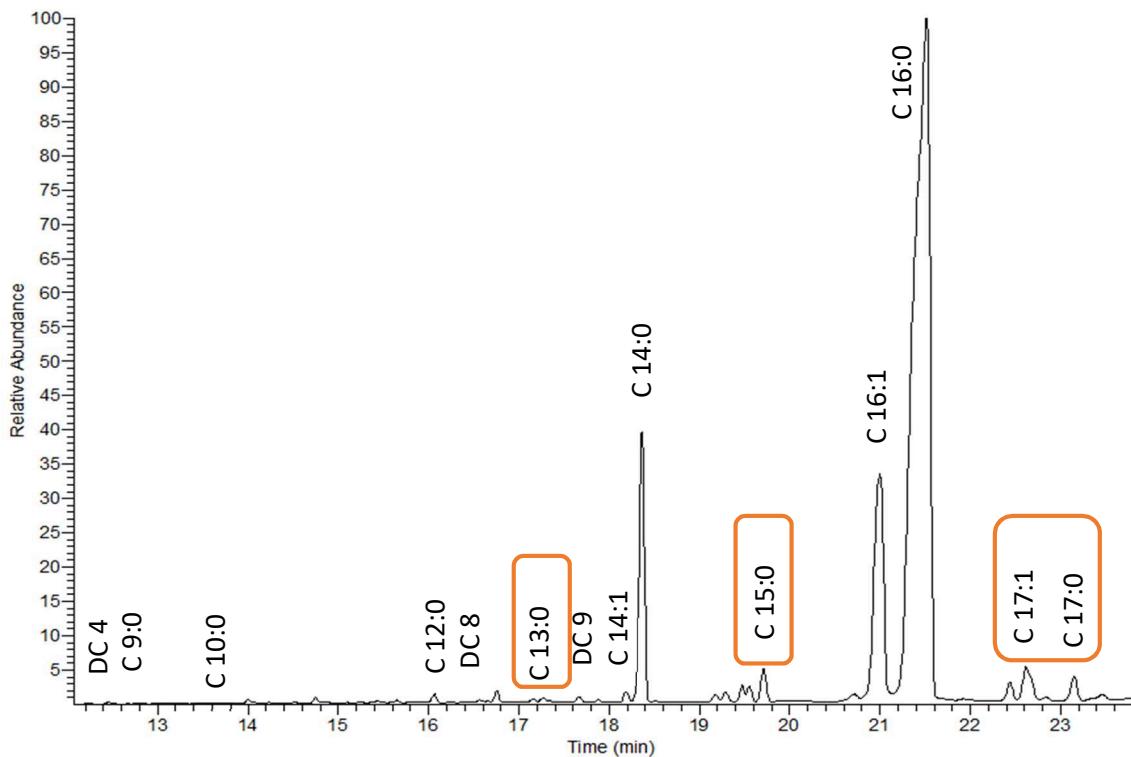


Figure 110: Chromatogramme TIC de l'échantillon 20, zone des acides gras entre 12 et 24 minutes.

Tableau 28: Temps de rétention et fragmentation des acides gras impairs.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
17.1	C 13 :0	286	286,271,129,117,73
19.8	C 15 :0	314	314,299,129,117,73
22.7	C 17 :1	340	340,325,129,117,73
23.1	C 17 :0	342	342,327,129,117,73

Les acides gras insaturés majoritaires tels que l'acide palmitoléique et l'acide oléique ne donnent pas beaucoup d'informations car ils sont présents en grande quantité dans les huiles végétales comme dans les graisses animales, contrairement aux acides gadoléique (C 20 :1) et érucique (C22 :1) qui sont des marqueurs d'huile végétale (Forêt 2018). Ces deux derniers ont été détectés dans les échantillons 64 et 49.

Pour ce qui est des acides gras dicarboxyliques, comme expliqué dans le chapitre 1, ceux-ci sont des marqueurs d'une dégradation naturelle des corps gras. Ainsi les échantillons compris dans les clusters 4 et 5 sont composés de corps gras dégradés (Fig. 111 et tableau 29).

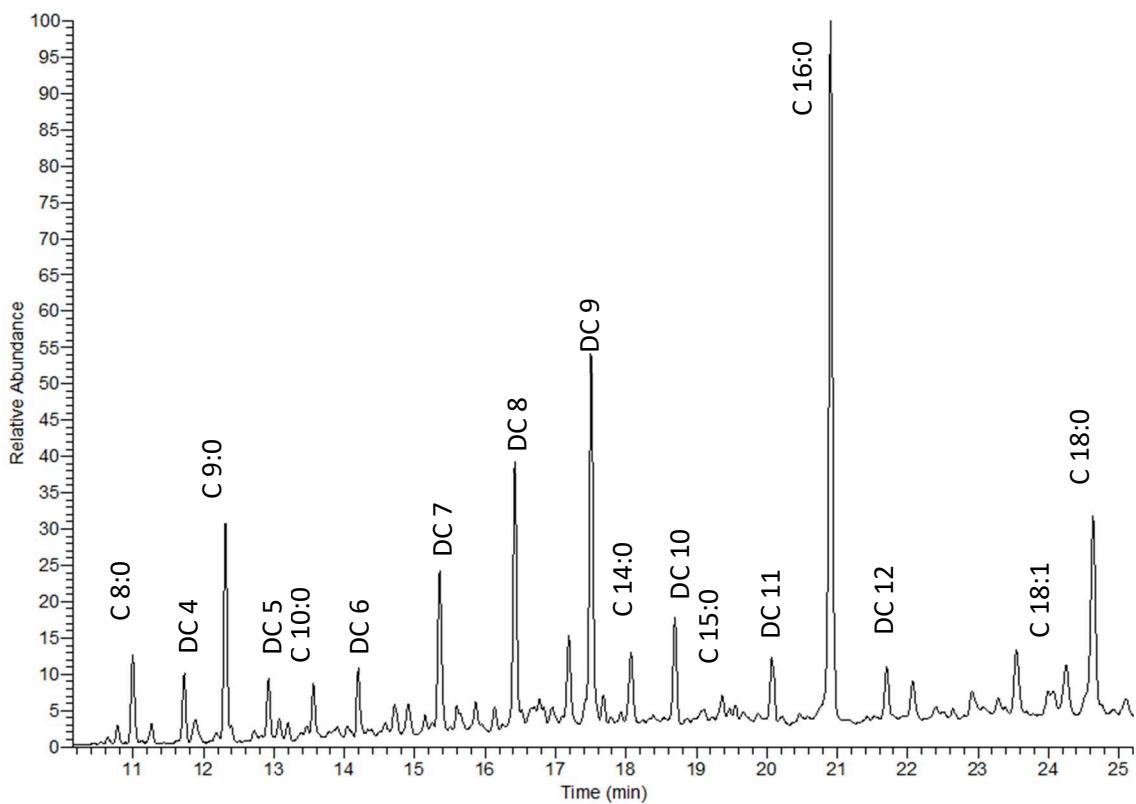


Figure 111: Chromatogramme TIC de la momie 2, zone des acides gras entre 10 et 25 minutes.

Tableau 29: Temps de rétention et fragmentation des acides gras dicarboxyliques.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation en masse
11.7	DC 4	262	262,247,149,73
12.9	DC 5	276	276,261,149,73
14.2	DC 6	290	290,275,149,73
15.4	DC 7	304	304,289,149,73
16.4	DC 8	318	318,303,149,73
17.5	DC 9	332	332,217,149,73
18.7	DC 10	346	346,331,149,73
20	DC 11	360	360,345,149,73
21.7	DC 12	374	374,359,149,73

L'acide ricinoléique (Tableau 30), un acide gras hydroxylé, est un marqueur de l'huile de ricin (Aboelazayem *et al.* 2018). Cette molécule a été détectée dans 6 échantillons 63, 12, 62, 56, 57 et 14.

Tableau 30: Temps de rétention et fragmentation de l'acide ricinoléique.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation
28.7	Acide ricinoléique	442	442,427,411,357,328,217,204,187,103,97,73

Enfin, les stérols peuvent également fournir des informations sur la nature du corps gras utilisé. Le cholestérol est un marqueur de l'utilisation de graisse animale. Néanmoins, au sein d'échantillons archéologique il peut provenir de contaminations externe tel que du défunt lui-même, de la manière dont le défunt a été transporté et de bactéries provenant du sol. Le marqueur des huiles végétales est le campestérol ; il a été détecté au sein de 5 échantillons : 6, 8, 11, 17 et 63.

Pour conclure, au vu de ces informations, il a été possible de caractériser l'emploi d'huile végétale au sein de 12 échantillons : 6, 8, 11, 17, 63, 12, 62, 56, 57, 14, 64 et 49.

2.2.2. Cire d'abeille

La cire d'abeille est une substance qui contient des esters à haut poids moléculaire. Ces esters peuvent parfois subir une hydrolyse et former des alcools à longues chaînes carbonées qui par oxydation avec le temps vont former des acides gras libres à 26, 28 et 30 atomes de carbone. Ce sont ces marqueurs chimiques qui ont été détectés dans 5 échantillons : 5, 41, 47, 9 et 43 (Tableau 31). Celle-ci est seulement suspectée dans l'échantillon 25 car il ne présente que le C26 :0.

Tableau 31: Temps de rétention et fragmentation des acides gras de la cire d'abeille.

Tr (min)	Composé	Mw	Fragmentation
43.9	C 26:0	468	468,453,143,129, 117 ,73
48.7	C 28:0	496	496,481,143,129, 117 ,73
53.2	C 30:0	524	524,509,143,129, 117 ,73

Ainsi, pour élucider la présence de cire d'abeille dans les autres échantillons, une saponification a été réalisée sur l'ensemble des prélèvements. Après analyse, 22 échantillons ont montré la présence de cire d'abeille : 68, 8, 19, 13, 34, 63, 9, 5, 41, 47, 18, 25, 43, 31, 58, 15, 57, 50, 65, 69, 53 et 66.

2.2.3. Résines et dégradation des diterpènes : utilisation de traitements statistiques de données

La résine mastic a été identifiée dans 5 échantillons, 20, 34, 33, 31 et 30. De la résine de Pinacées a été détectée au sein de 50 individus. Au sein de ces derniers, cette résine a été

retrouvée en grande quantité dans 25 échantillons. Étudier les différents marqueurs chimiques présents permet de renseigner quant à l'état de dégradation de la résine.

Les molécules d'intérêt pour cette étude sont celles appartenant à la famille des diterpènes et plus particulièrement des molécules abiétanes qui ont été détectées dans les 25 échantillons. Les composés majeurs qui ont été détectés dans les échantillons sont le rétène, l'acide déhydroabiétique (DHA), les acides 3, 7 et/ou 15-hydroxy-déhydroabiétique (hydroxy-DHA) et 7-oxo-déhydroabiétique (7-oxo-DHA) (Fig. 112).

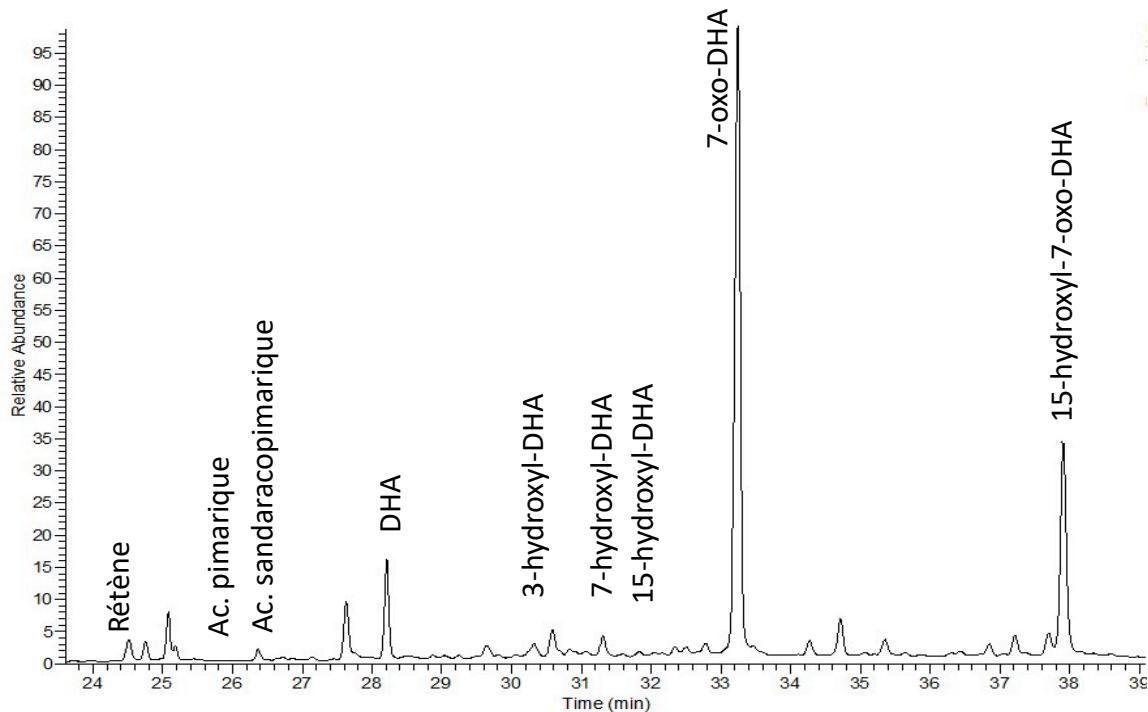


Figure 112: Chromatogramme TIC de la momie 53, zone des diterpènes entre 24 et 39 minutes.

Le traitement de données statistique en archéologie peut être un outil puissant pour comprendre directement, à l'aide de graphiques, l'état de conservation d'un objet archéologique, son état de dégradation ainsi que la façon dont il a pu être élaboré. L'objectif est donc, en appliquant une ACP sur des données obtenues par CPG-SM, de définir l'état et l'origine de dégradation de la résine contenue dans 25 baumes de momies.

Il a été décidé de réaliser une ACP et de prendre 4 variables en compte, le rétène, qui est un marqueur de dégradation anthropique par chauffage intense, le DHA, qui est un marqueur d'une résine peu dégradée et le 7-oxo DHA ainsi que l'ensemble des hydroxy-DHA qui sont des marqueurs d'une dégradation de vieillissement naturel. Les proportions relatives de chacune de ces molécules normalisées à 100% (Tableau 32), obtenues à partir des aires des

chromatogrammes, ont été utilisées pour réaliser ce traitement statistique. Normaliser à 100% l'ensemble des molécules appartenant aux résines diterpéniques revient donc à négliger totalement les autres substances pouvant être présentes dans le baume, l'idée étant ici faire un focus uniquement sur le matériau diterpénique employé afin de déterminer et de discuter son état de dégradation et/ou de conservation.

Tableau 32: Pourcentage relatif des molécules diterpéniques identifiées par CPG-SM.

ECH	RETENE	DHA	7-OXO-DHA	HYDROXY-DHA
1	0.00	16.01	80.04	3.95
2	0.00	0.00	45.80	54.20
4	18.30	34.85	46.84	0.00
8	36.40	5.90	48.10	9.60
9	10.00	0.00	90.00	0.00
10	28.41	0.00	48.70	22.89
11	21.50	30.30	48.20	0.00
12	0.00	21.43	78.57	0.00
14	4.44	21.14	74.43	0.00
16	0.00	16.17	67.32	16.51
17	28.50	39.50	32.00	0.00
18	7.54	43.28	49.18	0.00
40	0.00	62.18	5.47	32.33
41	0.00	34.88	55.80	9.32
43	0.00	10.54	89.46	0.00
46	15.74	0.00	84.26	0.00
47	1.47	7.70	68.79	22.04
48	0.00	26.93	73.07	0.00
53	0.05	8.13	61.73	28.78
58	0.00	30.36	69.64	0.00
63	0.00	78.93	5.72	15.33
64	0.00	58.90	33.33	0.00
65	0.00	29.82	45.17	21.88
66	0.00	0.00	41.51	58.49
69	1.25	4.62	61.38	32.76

L'ACP indique que 3 composantes principales (PC) expliquent 99,25% de la variabilité, avec 40,45% pour PC1, 33,18% pour PC2 et 25,65% pour PC3. La variance expliquée par les principales composantes est directement liée à la corrélation entre les variables initiales. Dans la présente recherche, il s'agit d'une corrélation significative entre les différentes molécules d'abiétanes.

Dans le biplot représentant les axes PC1 et PC2 (Fig. 113), trois variables doivent être prises en compte. DHA, hydroxy-DHA et 7-oxo-DHA. En effet, le DHA et le 7-oxo-DHA contribuent pour 94,3% de la composante 1 et l'hydroxy-DHA pour 63,68% de la composante 2. Le rétène est une variable qui représente moins de 15 % de ces deux composantes, elle n'est donc pas décisive dans le plan PC1 / PC2.

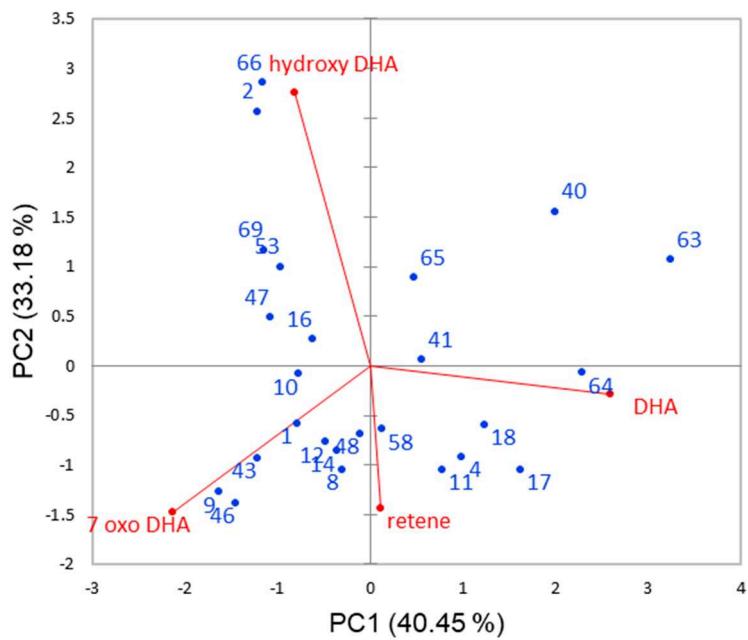


Figure 113: Diagramme biplot des variables et des composantes principales PC1 et PC2.

Les trois variables principales de ce biplot sont le DHA, le 7-oxo-DHA et les hydroxy-DHA. Cependant, dans ce plan, les variables hydroxy-DHA et 7-oxo-DHA ne sont pas liées entre elles alors que ce sont des molécules qui fournissent les mêmes informations quant à l'état d'altération, c'est-à-dire un vieillissement naturel avec le temps.

Ainsi il a été décidé de regarder le plan PC1 et PC3. Sur le biplot représentant les axes PC1 et PC3 (Fig. 114), trois variables doivent être prises en compte. DHA, 7-oxo-DHA et le rétène. En effet, le rétène contribue à 74,8 % de la composante 3. L'hydroxy-DHA est une variable qui représente moins de 5 % de ces deux composantes, elle n'est donc pas déterminante dans le plan PC1 / PC3.

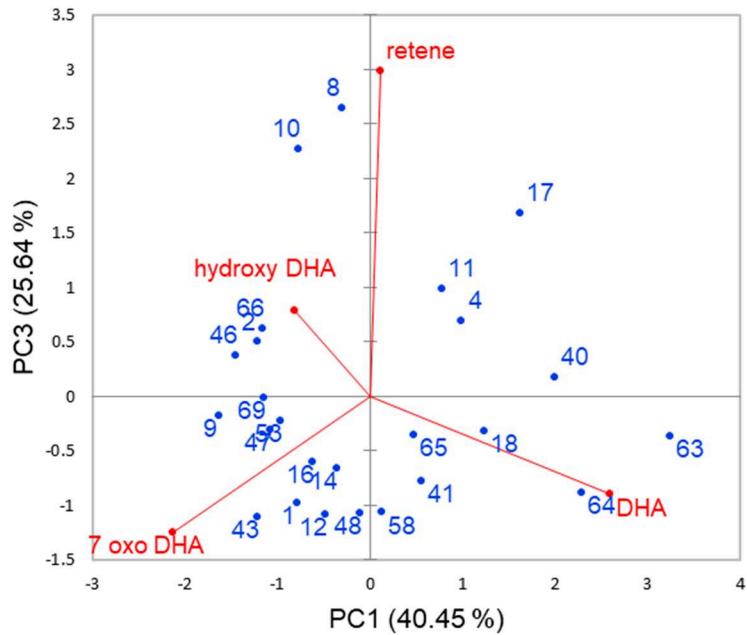


Figure 114: Diagramme biplot des variables et des composantes principales PC1 et PC3.

La lecture graphique de l'ACP permet donc de classer les échantillons selon leur état de conservation ou dégradation. Ceux proches de l'axe DHA possèdent une résine peu dégradée. Le 7-oxo DHA va induire une résine dégradée naturellement et le rétène induit une dégradation de nature anthropique par chauffage intense.

Les échantillons 63, 64, 65 et 18 au vu de leur proximité avec la variable DHA, ont subi une faible dégradation. Les échantillons 66, 2, 46, 9, 69, 53, 47, 16, 14, 43, 1, 12, 48, 58, 40 et 41 sont corrélés aux variables hydroxy-DHA et 7-oxo-DHA, ce qui implique une dégradation de ces échantillons par vieillissement naturel.

Les échantillons 4, 17, 11, 10 et 8 sont corrélés avec la variable rétène. Ainsi, il est possible de conclure que ces échantillons ont subi une dégradation anthropique, ce qui signifie un fort processus de chauffage de la résine afin de la mettre en œuvre.

Sur les 25 échantillons de baumes, 4 ont été peu dégradés, 16 ont subi un vieillissement naturel et possèdent donc des marqueurs de dégradation tels que l'acide 7-oxo-déhydroabiétique. Enfin, 5 échantillons ont été soumis à un chauffage très intense d'une température minimale de 300°C au vu de la détection du rétène en grande proportion.

2.2.4. Bitume

La chromatographie a permis de détecter du bitume au sein de 2 échantillons 41 et 59. Cette méthode conventionnelle d'extraction avec un solvant unique permet difficilement de détecter la famille chimique des stéranes, cette famille est la seule à ne pas avoir été détectée dans 14 échantillons 61, 5, 22, 12, 34, 9, 8, 11, 35, 43, 50, 2, 14 et 4. Naturellement, les familles chimiques hopanes et stéranes sont en très faible proportion (de l'ordre de 5%) au sein d'un bitume archéologique (Connan 2005). Pour les détecter il est donc nécessaire d'utiliser des protocoles spécifiques de fractionnement afin de les concentrer (Charrié-Duhaut *et al.* 2009; Hauck *et al.* 2013).

2.2.5. HAP

Au total 6 échantillons : le 44, 52, 45, 46, 63 et 58 contiennent des HAP.

Les proportions relatives des HAP après extraction représentent plus de 80% des composés détectés au sein des échantillons 44, 52, 45 et 46. L'origine de ces HAP peut être obtenue en considérant les rapports des aires sous les pics du phénanthrène (Phe)/anthracène (Ant) et fluoranthène (Fluo)/pyrène (Pyr). Ce sont des molécules qui sont stables dans le temps et qui subissent, en contexte archéologique, peu de variations de leurs concentrations. Ainsi les rapports Phe/Ant > 30 et Fluo/Pyr<1 indiquent une origine pétrogénique des HAP et les rapports Phe/Anth <10 et Fluo/Pyr>1 indiquent une origine pyrolytique des HAP. Ceci s'explique par le fait que ces molécules sont des marqueurs notables de processus d'altération (Perra *et al.* 2009). Par exemple, sous haute température le phénanthrène va former de l'anthracène et ainsi abaisser le rapport des deux (Magi *et al.* 2002).

Au regard des rapports obtenus dans les 4 échantillons (Tableau 33), les HAP proviennent d'une combustion de matière organique, donc d'un processus d'altération pyrolytique d'origine anthropique.

Tableau 33: Rapport des aires Phe/Ant et Fluo/Pyr des échantillons 44, 52, 45 et 46.

Référence échantillon	44	52	45	46
Phe/Ant	8,26	7,06	6,85	7,30
Fluo/Pyr	1,02	1,00	1,02	1,06

La nature des HAP au sein des échantillon 63 et 58 ne peut être déterminée car les deux molécules anthracène et phénanthrène n'ont pas été détectées.

2.3. Conclusion de l'approche conventionnelle

Cette approche conventionnelle, c'est-à-dire une extraction classique des baumes par mono-solvant suivi d'une TMS et injection en CPG-SM, a permis d'identifier de nombreux composés. Premièrement de très grandes proportions d'acide gras variés ont été détectées au sein de l'ensemble des échantillons. Certains stérols ont été caractérisés, permettant de définir la nature du corps gras employés tel que le campestérol pour les huiles végétales. Des composés résiniques ont aussi pu être identifiés avec cette méthode d'extraction, que ce soit des diterpènes ou des triterpènes. L'identification des HAP, a également été possible par cette approche.

Cependant, deux difficultés sont apparues suite à cette approche conventionnelle. Le bitume contient plusieurs types de molécules, les alcanes, les hopanes et les stéranes. Les fractions hopanes (m/z 191) et stéranes (m/z 217) ne sont présentes à l'état naturel qu'en très faible proportion (Connan 2005). Donc détecter du bitume au sein d'un mélange complexe qu'est un baume apparaît comme la première difficulté. Deuxièmement, au vu des résultats précédemment obtenus, la famille chimique des corps gras est très majoritaire dans de nombreux baumes, représentant une proportion relative de 60% minimum de l'ensemble des composés extraits, ne facilitant pas la détection des hydrocarbures provenant de la famille du bitume.

3. Développement analytique d'un protocole d'extraction en phase solide

En raison de la présence (i) de mélanges de substances naturelles dans les baumes, (ii) de processus d'altération, (iii) d'une très faible proportion de certains ingrédients ou au contraire d'une concentration élevée d'autres, un protocole plus sélectif par SPE a été mis au point, permettant de séparer et concentrer les différentes familles chimiques constituant les baumes, rendant leur détection et leur caractérisation moléculaire plus précise en CPG-SM.

3.1. Mise au point du protocole par Extraction en Phase Solide (SPE)

L'élaboration de ce protocole fait suite à des travaux de recherche antérieurs réalisés au laboratoire (Bondetti 2014). Chaque paramètre, tels que le choix de la cartouche SPE, des solvants d'extraction et d'élution, ont été repris et/ou modifiés afin de comprendre les différents phénomènes d'élution des différents composés.

Les essais ont été préalablement réalisés avec les substances naturelles contemporaines étudiées précédemment, prises séparément. Cependant, en mélange, les diverses espèces chimiques ne se comportent pas de la même façon. Les diverses familles chimiques ont des interactions qui influent sur leur séparation dans les différentes fractions. Il a donc été décidé de poursuivre les essais uniquement sur les échantillons de baumes de momies. Les momies 33, 30 et 9 ont été choisies, les baumes de momies 33 et 30 contiennent un mélange d'acides gras et de résine triterpénique tandis que le baume de momie 9 contient un mélange acides gras, résine diterpénique et cire d'abeille. Ces 3 échantillons représentent donc le panel des différentes formulations des baumes. De plus ce sont des échantillons en assez grandes quantités disponibles pour permettre la réalisation des essais.

3.1.1. Choix de la cartouche

Le type de matrice à étudier a fortement influencé le choix de la cartouche SPE adéquate pour ces travaux. Une étape préliminaire a été réalisée afin de déterminer la nature du greffage de la phase à employer. Plusieurs phases ont été testées telles qu'une phase apolaire C18, une phase greffée avec un groupement cyano et également une phase greffée avec des groupements amine.

L'arbre de décision donné par Phenomenex a permis de choisir la cartouche (Fig. 115).

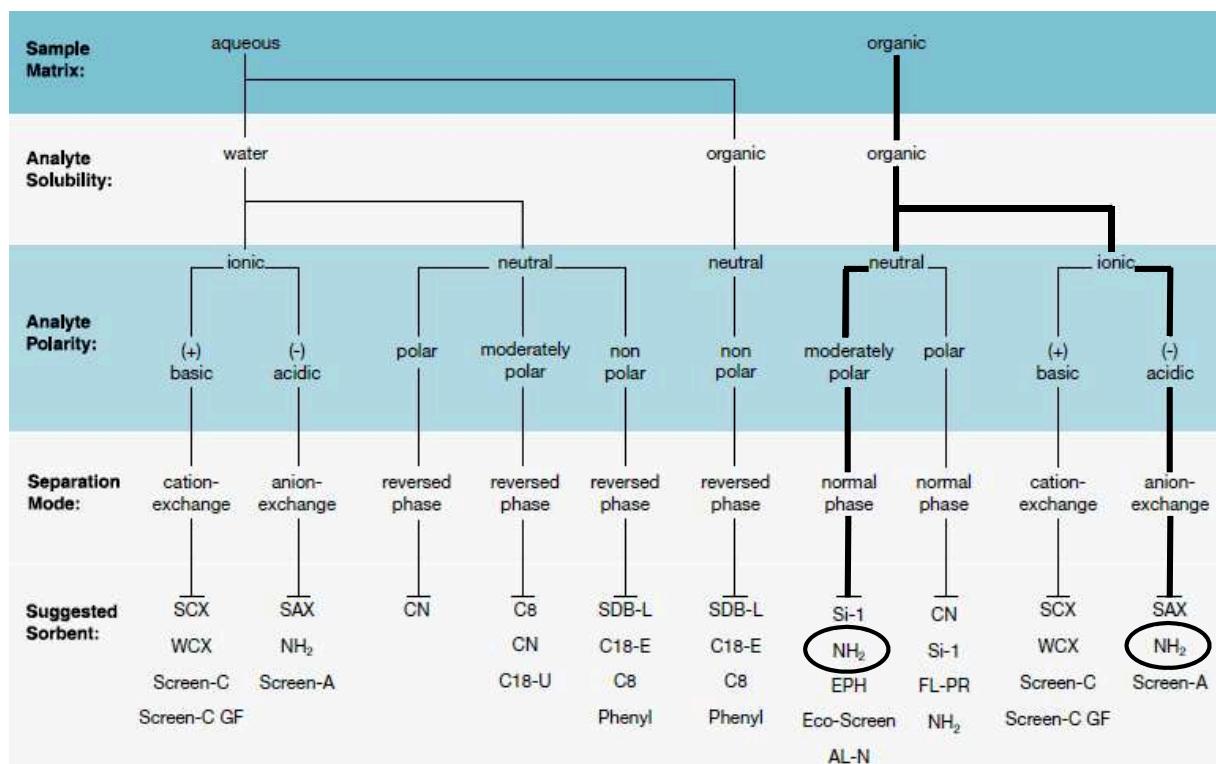


Figure 115: Schématisation d'un arbre de décision pour le choix du greffage des cartouches SPE (Phenomenex).

Le baume de momie est une matrice non aqueuse avec des molécules d'intérêt solubles dans des solvants organiques, c'est pourquoi, au vu de l'arbre de décision la partie de droite est la plus intéressante. Les molécules d'intérêt, tels que les acides gras ou les diterpènes, sont des molécules globalement apolaires ce qui nous a dirigé vers une cartouche en phase normale comme par exemple les cartouches Si-1, NH₂, EPH... Néanmoins, la plupart des molécules à séparer contiennent des fonctions alcool ou acide carboxylique, ces fonctions peuvent permettre d'obtenir des charges partielles, il est donc possible de les séparer à l'aide de cartouches échangeuses d'ions. Il existe différentes cartouches échangeuses d'ions, la SAX, NH₂ et Screen-A. Deux types de cartouche peuvent être choisis, une en phase normale ou une échangeuse d'ions. La cartouche greffée NH₂ est celle qui permet les deux types de séparation.

La cartouche retenue est la Strata NH₂ (Fig. 116). La Strata NH₂ permet de retenir les composés en fonction de l'attraction électrostatique du groupe fonctionnel chargé du composé d'intérêt au groupement NH₂ lié à la surface de la cartouche SPE.

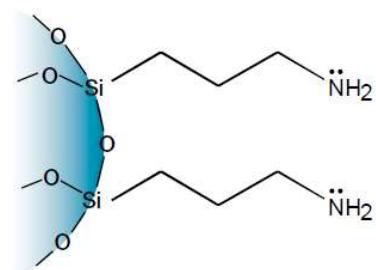


Figure 116: Greffage de la cartouche Strata NH₂ (Phenomenex).

3.1.2. Choix du solvant d'extraction

Une solubilisation de l'échantillon est préalablement nécessaire car déposer directement celui-ci sur la cartouche de SPE l'obstrue et empêche l'élution. Le solvant à utiliser doit permettre l'extraction la plus exhaustive possible des composés d'intérêt, et ce, qualitativement et quantitativement. Celui-ci doit être modérément apolaire pour extraire les composés présents au sein des baumes.

Des tests ont été réalisés avec du tétrahydrofurane (THF), qui est un solvant à polarité proche de celle du chloroforme ou du dichlorométhane, mais qui est un solvant miscible à l'eau donc qui devrait avoir des capacités supérieures de solubilisation de molécules polaires. L'extraction au THF a été conduite sur la momie 9, le chromatogramme obtenu a été comparé avec celui de l'extraction au DCM de cette même momie. L'extraction au THF a permis de détecter en même intensité la totalité des molécules détectées avec le précédent protocole mais aussi de performer sur la détection de certains acides gras mono et dicarboxyliques tels que le C 6 :0, DC 4, DC 6, C13 :0, C17 :1, C18 :1. Cette extraction a également permis d'extraire de la cire d'abeille non saponifiée avec un temps de rétention de 60 minutes. Le THF est donc le solvant choisi afin d'extraire l'échantillon avant SPE.

De plus, un mélange est obligatoirement utilisé avec de l'hexane. En effet, il y a des contraintes dues au conditionnement de la cartouche et au solvant de la première élution (cf. partie choix des solvants d'élution). Pour cela plusieurs proportions de mélange hexane/THF ont été testées : hexane/THF (1/1, v/v), hexane/THF (2/1, v/v) et hexane/THF (4/1, v/v) sur la momie 30 (Fig. 117).

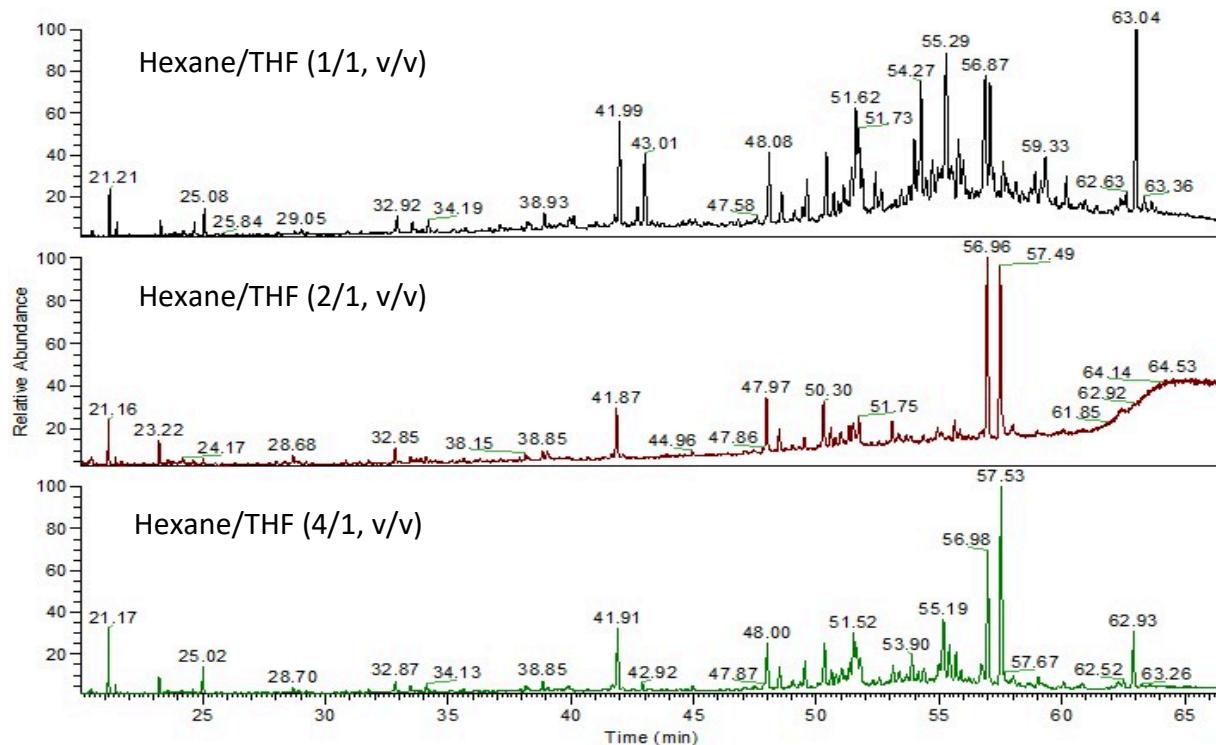


Figure 117: Chromatogrammes TIC de la momie 30 après extraction à l'hexane/THF en différentes proportions.

Au vu des résultats obtenus, qualitativement il y a le même nombre de composés détectés dans les trois extractions. Par contre, quantitativement il est possible d'observer une meilleure extraction des composés pour l'extraction hexane/THF (1/1, v/v). L'ensemble des molécules éluées entre 40 et 65 minutes a des pics beaucoup plus intenses. Un mélange d'hexane/THF (1/1, v/v) a donc été choisi pour réaliser l'extraction des baumes avant extraction en phase solide.

3.1.3. Choix des solvants d'élution

Une première élution est réalisée avec de l'hexane. Le choix de ce solvant peut s'expliquer de la manière suivante : début de l'élution avec un solvant apolaire car la phase stationnaire est une phase polaire, de plus, l'hexane est également le solvant de conditionnement de la cartouche. L'obtention de cette fraction va permettre d'éluer les molécules d'alcanes de la solution, tels que les hopanes et les stéranes du bitume. C'est l'hexane comme premier solvant d'élution qui induit la composition du mélange de solvant pour l'extraction préalable des baumes. En effet, si l'extraction se fait uniquement au THF lors du dépôt de la charge et lors de l'ajout d'hexane pour la 1^{ère} élution, il y a formation d'un précipité qui engendre une

obstruction de la cartouche. Ce phénomène ne se produit pas avec un mélange hexane/THF (1/1, v/v) pour le dépôt de charge.

La deuxième fraction est réalisée avec de l'éthanol qui permet d'éluer les molécules polaires telles que les résines diterpéniques. Au départ cette fraction était éluée à l'aide d'isopropanol, les temps de manipulations étaient très longs car l'élution de 4 mL de solvant prenait environ 20 minutes et son évaporation environ 1h sous flux d'azote. Afin d'éluer les résines, le solvant optimum est un alcool, avec une volatilité plus élevée que l'isopropanol, une polarité quasi similaire et un temps d'élution réduit. Le choix s'est porté sur l'éthanol (Tableau 34) qui s'est révélé être un solvant prometteur. En effet, l'éthanol a une polarité semblable à celle de l'isopropanol et divise par deux le temps d'élution de cette fraction. De plus, l'éthanol est un solvant dit « vert » comparé à l'isopropanol.

Tableau 34: Comparaison des caractéristiques de l'isopropanol et de l'éthanol.

	Isopropanol	Ethanol
Température d'évaporation (°C)	82,4	78,5
Polarité relative*	0,546	0,654
Temps d'élution (min)	20	10

* Les valeurs de polarité relative sont normalisées à partir de mesures de déplacements de spectres d'absorption du solvant et ont été extraites de Christian Reichardt, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, Wiley-VCH Publishers, 3e éd., 2003.

La dernière élution est réalisée à l'aide de diéthyléther avec de 2% d'acide acétique. Ce solvant est très apolaire, de plus il est acidifié ce qui permet d'éluer les acides gras même en grande quantité tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique.

3.1.4. Théorie de l'élution des différents composés

Tout d'abord les hydrocarbures saturés, hopanes et stéranes sont élués avec de l'hexane car ceux-ci n'ont aucune affinité avec la phase stationnaire et ne peuvent donc faire aucun type de liaison avec elle.

Ensuite ce sont les molécules de la famille des terpènes qui sont éluées par l'éthanol car elles ont une plus grande affinité avec la phase mobile qu'avec la phase stationnaire. Le pH de la

solution est de 7. A ce pH, la phase stationnaire est sous la forme NH_3^+ car elle a un pKa de 9,8, tandis que les composés diterpéniques ont un pKa aux alentours de 6 et sont donc sous la forme COOH et OH. Ainsi il n'y a pas de liaison faible entre analytes et phase stationnaire. De plus, les composés terpéniques sont solubles en solution alcoolique.

Pour la dernière fraction, à pH = 7 les acides gras sont sous la forme COO^- , en effet ils ont un pka de 5, il est donc nécessaire d'acidifier le diéthyléther afin de rompre les liaisons entre les acides gras et la phase greffée amine qui est sous la forme NH_3^+ . C'est pour cela qu'un mélange diéthyléther avec 2% d'acide acétique a été utilisé.

Ce protocole, schématisé en figure 118, permet de répondre à la problématique initiale et donc de séparer les différentes familles chimiques du bitume, des résines et des acides gras. Il a été réalisé sur la totalité des échantillons de baumes de momies.

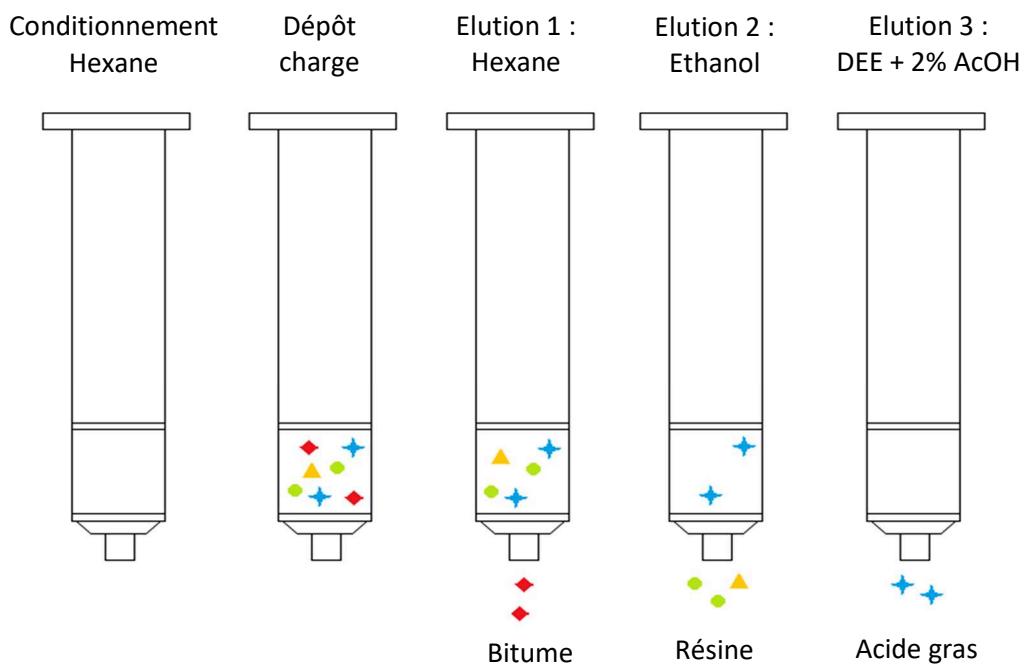


Figure 118: Schématisation du protocole final de SPE mis au point avec les substances majoritairement détectées dans chaque fraction d'élution.

3.2. Application du protocole de SPE sur les échantillons archéologiques

Le protocole a été appliqué sur l'ensemble des échantillons hormis les échantillons numéro 26 et 27 en raison de la faible quantité de matière. Après application de la SPE toutes les fractions ont été injectées en CPG-SM (SPE-CPG-SM). Les résultats de l'ensemble des

échantillons sont donnés sous forme de tableau récapitulatif, seuls quelques échantillons seront détaillés ici.

3.2.1. Fraction 1

La première fraction par SPE est réalisée avec de l'hexane et permet d'éluer les molécules les plus apolaires du mélange telles que les molécules aliphatiques, les alcanes linéaires, ramifiés ou cyclisés.

D'après l'extraction conventionnelle, si l'on prend comme exemple l'échantillon 34, du cholestérol, des acides gras, de la résine triterpénique et des HAP ont été détectés. Après extraction par SPE, la fraction 1 a été injectée en GC-MS. Le chromatogramme (Fig. 119) montre les trois familles chimiques de bitume. Les alcanes sont élués à 29,7, 34,4, 34,9, 40,5 et 43,34 minutes. Les hopanes sont élués à des temps de rétention de 34,9, 37,8 et 40,4 minutes. Enfin, les stéranes sont élués à 32,5, 36 et 37,6 minutes. La détection de toutes ces molécules a confirmé la présence de bitume dans cet échantillon.

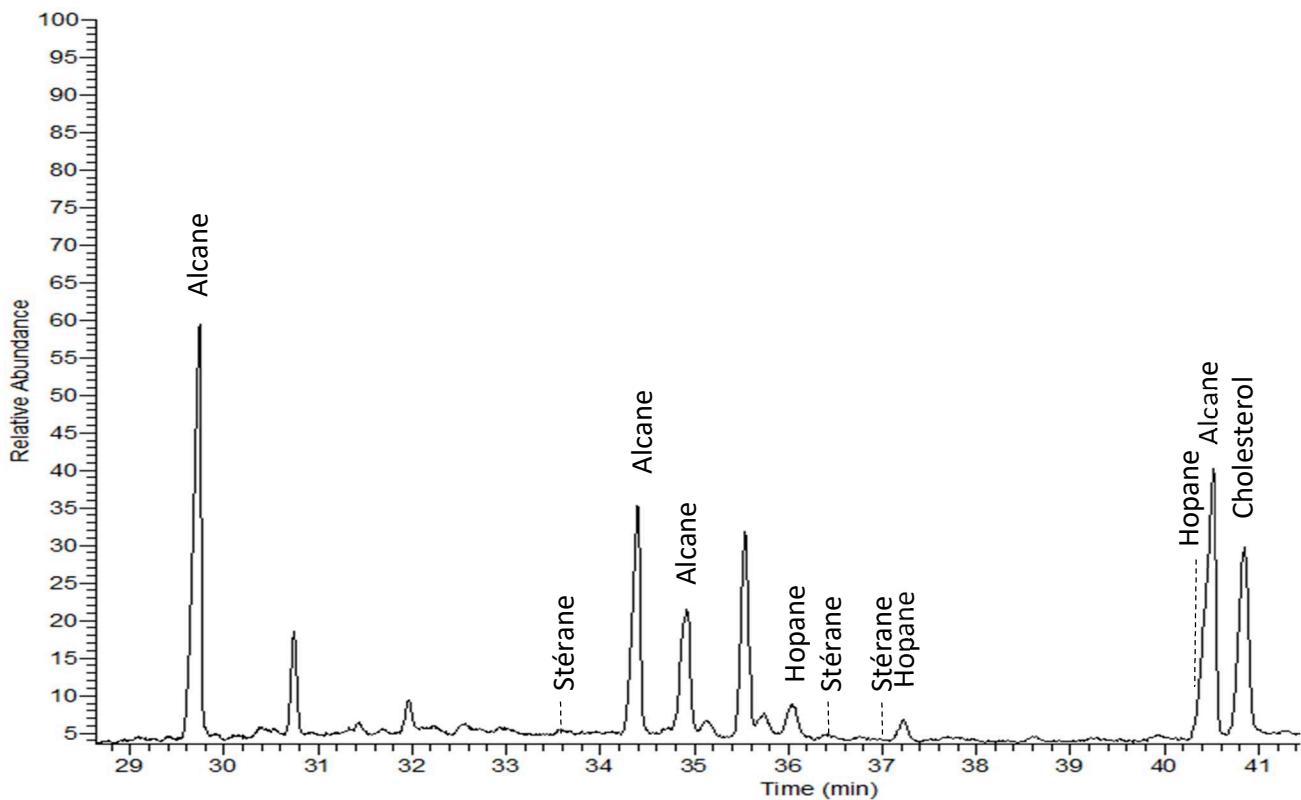


Figure 119: Chromatogramme TIC de l'échantillon 34, fraction 1 de la SPE entre 29 et 41 minutes.

Sur les 59 échantillons, du bitume a été détecté au sein de 18 baumes avec certitude. Pour 7 autres échantillons les composés stéranes (m/z 217) n'ont pu être identifiés.

3.2.2. Fraction 2

La fraction éluée à l'éthanol permet d'obtenir plus de composés polaires tels que les résines végétales qui sont composées de nombreuses fonctions organiques (cétone, aldéhyde, alcool, acide). Au sein de cette fraction, l'ensemble des molécules polyterpéniques détectées par méthode conventionnelle a pu être caractérisé également. De plus, il a été possible d'identifier des composés supplémentaires. Tout d'abord, l'ester déhydroabiétate de méthyle (DHAM) a été identifié avec un temps de rétention de 20,4 minutes (Fig. 120) au sein de 7 échantillons : 11, 17, 64, 12, 18 et 2. Ce composé est obtenu par méthanolyse lors du chauffage à très haute température de l'écorce de bois et de la résine diterpénique et il est absent lors du chauffage de la résine seule (Colombini et Modugno 2009). Il est à noter que du DHAM, de l'acide déhydroabiétique (DHA) et du 7-oxo-DHA ont également été détectés dans la fraction 1. Au final, le DHAM a été détecté dans 6 échantillons.

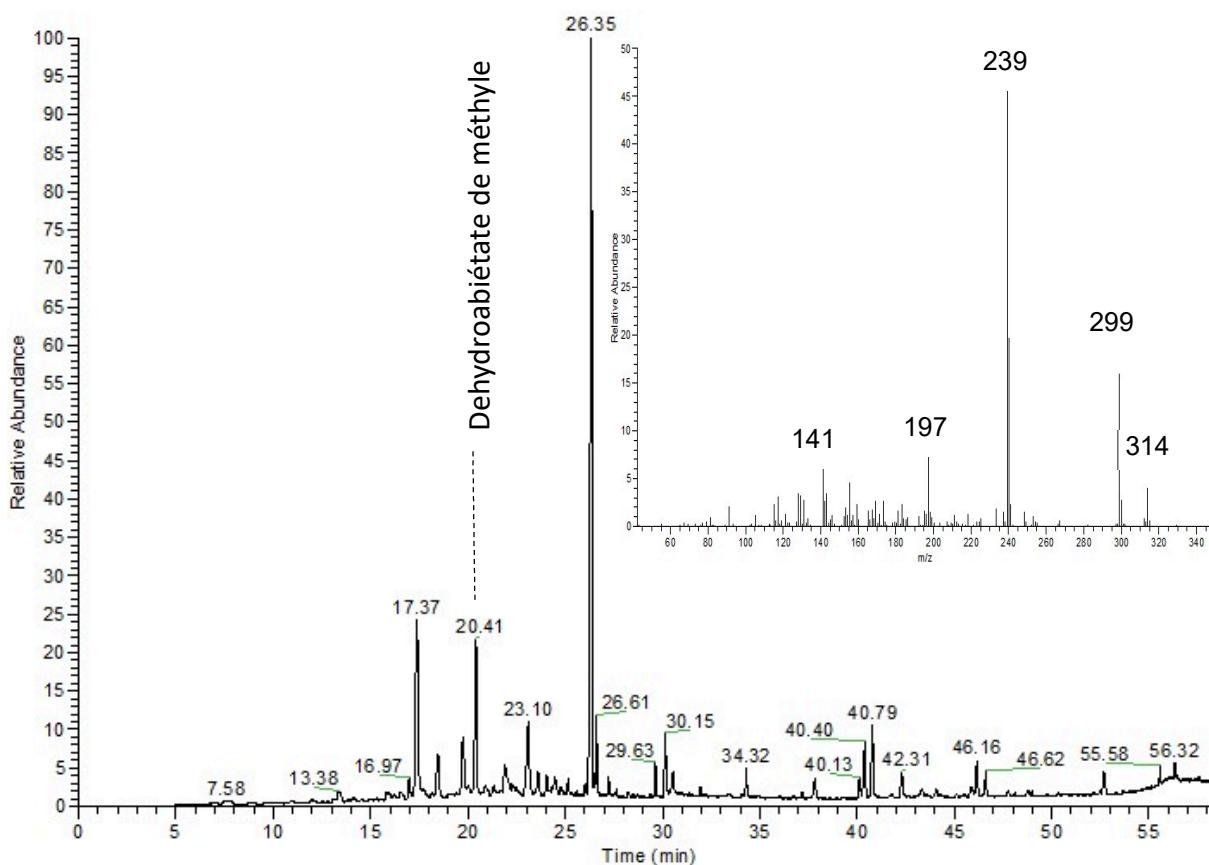


Figure 120: Chromatogramme de l'échantillon 15 et spectre de masse du déhydroabiétate de méthyle.

Ensuite, de la cire d'abeille sous forme d'esters a été identifiée au sein de cette fraction avec des temps de rétention supérieurs à 55 min. Compte tenu de l'apolarité de ces molécules, ce n'est pas un phénomène défini qui a permis de comprendre pourquoi elles étaient éluées en fraction 2. Une hypothèse possible étant la formation d'une phase stationnaire semi greffée. En effet, la phase amine stationnaire se présente sous la forme NH_3^+ en raison du pH de la solution, les acides gras libres, eux, se présentent sous la forme COO^- . Une liaison ionique pourrait se former entre les deux espèces et ainsi créer une phase greffée semi-polaire. Les esters de cire d'abeille pourraient former des liaisons de Van der Waals (interactions de London) avec la chaîne carbonée des acides gras libres, ce qui expliquerait pourquoi ils ne sont pas élués par l'hexane. L'ajout subséquent d'éthanol, solvant protique et donc capable de générer des liaisons hydrogène, pourrait créer un déséquilibre ce qui permettrait d'éluer les esters. La cire d'abeille a été caractérisée au sein de 21 échantillons.

La fraction 3, éluée avec l'éther diéthylique et 2% d'acide acétique n'est pas détaillée car elle ne permet pas de performer sur la détection de nouvelles molécules, les mêmes résultats ont été trouvés par SPE et par méthode conventionnelle.

3.3. Comparaison de l'extraction conventionnelle à la SPE

Au total, sur les 59 échantillons, le protocole de SPE a apporté de nouvelles informations sur 43 échantillons. Que ce soit sur l'identification de bitume, de la cire d'abeille, du DHAM ou des trois familles chimiques en même temps. Au final, le bitume a été détecté dans 18 échantillons avec certitude et supposé dans 7 échantillons après SPE-GC-MS comparativement à 4 échantillons par méthode conventionnelle. La cire d'abeille a été détectée par SPE-GC-MS dans 21 échantillons, ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus après saponification de tous les échantillons. Enfin, de la résine de Pinacées a été identifiée dans 7 échantillons supplémentaires avec la caractérisation du DHA dans les échantillons 3, 21 et 56, du 7-oxo-DHA dans les échantillons 35, 23, 37 et 24. Et enfin, du DHAM a été détecté au sein de 6 échantillons.

Ce nouveau protocole d'extraction permet également de réduire par deux le nombre d'expérimentations car l'étape de saponification n'est plus nécessaire. Il permet de réduire plus de moitié le temps d'expérimentation. La masse de l'échantillon a également été réduite

de deux, 10 mg sont nécessaires avec ce protocole, ce qui est intéressant d'un point de vue archéologique car souvent peu de matériel est disponible. Enfin, la SPE réduit la consommation de solvant de presque 50% par rapport à la méthode conventionnelle. Au niveau du temps d'analyse par chromatographie, les analyses après SPE prennent 13 minutes de plus que par la méthode conventionnelle (Tableau 35).

Tableau 35: Comparaison de la méthode conventionnelle à la SPE.

Pour 3 échantillons:	méthode conventionnelle			SPE
	saponification	extraction	total	
Masse par échantillons (mg)	10	10	20	10
Temps expériences	3h30	2h	5h30	2h30
Solvant (mL)	66	12	78	48
Temps d'analyse (min)	67	67	134	147

3.4. Conclusion de l'extraction par SPE

Ce nouveau protocole d'extraction en phase solide a répondu à l'ensemble des objectifs fixés. Il permet tout d'abord de pallier les difficultés liées aux grandes proportions d'acides gras en les séparant des autres substances présentes dans les baumes, de performer sur la détection du bitume et d'augmenter le nombre de composés extraits.

4. Conclusion de l'étude chromatographique

Dans ce chapitre, une méthode conventionnelle d'extraction des échantillons a tout d'abord été utilisée après avoir analysé chaque substance naturelle contemporaine. Ceci a permis de caractériser une centaine de molécules appartenant à l'ensemble des différentes substances naturelles employées dans la formulation des baumes.

Les clusters obtenus par méthode conventionnelle permettent de grouper les échantillons selon leur composition. Le cluster 1 est formé par des baumes contenant des HAP. Le cluster 2 comprend en majorité des acides gras jusqu'à 95% et du cholestérol. Le cluster 3, comme en infrarouge, est un cluster comprenant des échantillons très différents les uns des autres. Et les clusters 4 et 5 pourraient être regroupés car ils contiennent des formulations similaires de baumes : corps gras et résines.

Grâce aux différents marqueurs identifiés, il a été possible de déterminer l'état de dégradation de certains échantillons, que ce soit au niveau des corps gras avec les acides dicarboxyliques ou au niveau des résines diterpéniques. Suivant les stérols identifiés, il a été en outre possible de déterminer la nature des corps gras utilisés.

Ensuite une mise au point d'une nouvelle méthode d'extraction par « extraction en phase solide » a été réalisée. Ce nouveau protocole d'extraction en phase solide a permis de :

- Identifier d'autres familles chimiques notamment les hopanes et stéranes de bitume archéologique.
- Augmenter le nombre de composés identifiés pour les résines.
- Identifier un marqueur de goudron végétal.
- Diminuer le nombre d'expériences en supprimant l'étape de saponification.
- Réduire la masse d'échantillon, ce qui est très intéressant d'un point de vue archéologique car de très petites quantités sont disponibles en accord avec la préservation des objets du patrimoine culturel.

Ainsi, il est possible de fournir un tableau de l'ensemble des substances identifiées au sein de chaque baume (Tableau 36).

Tableau 36: Récapitulatif des substances naturelles identifiées par extraction conventionnelle et SPE. NI : Non identifié ; tr : traces ; + présence ; - : absence.

Echantillon	Corps gras	Cholestérol	Campestérol	Cire d'abeille	Diterpène	Triterpène	Bitume	HAP
1	NI	+	-	-	+	-	-	-
2	NI	-	-	-	+	-	+	-
3	NI	tr	-	-	+	-	-	-
4	NI	-	-	-	+	-	?	-
5	NI	-	-	+	+	-	-	-
6	végétale	+	+	-	+	-	+	-
8	végétale	+	+	+	+	-	+	-
9	NI	-	-	+	+	-	-	-
10	NI	-	-	-	+	-	-	-
11	végétale	+	+	-	+	-	-	-
12	végétale (huile de ricin)	-	-	-	+	-	-	-
13	NI	+	-	+	-	-	-	-
14	ricin	-	-	-	+	-	?	-
15	NI	+	-	+	+	-	+	-
16	NI	+	-	-	+	-	-	-
17	végétale	+	+	-	+	-	+	-
18	NI	-	-	+	+	-	?	-
19	NI	+	-	+	-	-	-	-
20	NI	+	-	-	-	+	-	-
21	NI	+	-	-	+	-	-	-
22	NI	-	-	-	+	-	+	-
23	NI	-	-	-	+	-	+	-
24	NI	-	-	-	+	-	+	-
25	NI	-	-	+	-	-	-	-

Echantillon	Corps gras	Cholestérol	Campestérol	Cire d'abeille	Diterpène	Triterpène	Bitume	HAP
26	NI	-	-	-	+	-	-	-
27	NI	+	-	-	-	-	-	-
29	NI	-	-	-	+	-	-	-
30	NI	-	-	-	-	+	-	-
31	NI	-	-	+	-	+	-	-
33	NI	-	-	-	-	+	-	-
34	NI	+	-	+	-	+	+	-
35	NI	-	-	-	+	-	+	-
37	NI	-	-	-	+	-	+	-
38	NI	+	-	-	tr	-	-	-
39	NI	+	-	-	tr	-	-	-
40	NI	+	-	-	+	-	-	-
41	NI	-	-	+	+	-	+	-
43	NI	-	-	+	+	-	?	-
44	tr	-	-	-	tr	-	-	+
45	tr	-	-	-	tr	-	-	+
46	tr	-	-	-	+	-	-	+
47	NI	-	-	+	+	-	+	-
48	NI	-	-	-	+	-	-	-
49	végétale	+	-	-	+	-	+	-
50	NI	-	-	+	-	-	+	-
51	NI	-	-	-	+	-	-	-
52	tr	-	-	-	tr	-	-	+
53	NI	-	-	+	+	-	?	-

Echantillon	Corps gras	Cholestérol	Campestérol	Cire d'abeille	Diterpène	Triterpène	Bitume	HAP
56	végétale (huile de ricin)	-	-	-	-	-	?	-
57	végétale (huile de ricin)	-	-	+	+	-	-	-
58	NI	-	-	+	+	-	-	+
59	NI	-	-	-	+	-	+	-
60	NI	-	-	-	+	-	+	-
61	NI	+	-	-	+	-	+	-
63	végétale (huile de ricin)	+	+	+	+	-	-	+
64	végétale	+	-	-	+	-	-	-
65	NI	-	-	+	+	-	+	-
66	NI	-	-	+	+	-	-	-
69	NI	-	-	+	+	-	+	-
28=68	NI	+	-	+	+	-	-	-
7=62	végétale (huile de ricin)	+	-	-	+	-	-	-

Enfin, dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur les baumes et l'identification des composés présents le plus exhaustivement possible. Remettre ces résultats en contexte archéologique, c'est-à-dire en se basant sur chaque individu plutôt que sur chaque échantillon, est une étape nécessaire et même indispensable en archéométrie moléculaire.

Parmi les 46 momies étudiées, 13 d'entre elles ont fait l'objet de plusieurs prélèvements réalisés à différents emplacements. L'objectif de diversifier le nombre d'échantillons sur un même individu est d'observer le caractère homogène ou non homogène du baume d'une même momie.

La momie 30000133 a fait l'objet de trois prélèvements distincts : n°22 a été prélevé à la base du crâne en externe, n°23 a été pris en intrabuccale en interne, n°24 est un morceau de baume externe. Ils ont des compositions chimiques très similaires avec la présence de corps gras et de diterpènes. Ces échantillons sont également tous composés de bitume. Ainsi, sur une même tête, les trois baumes en externe possèdent la même composition chimique ce qui indique une homogénéité des échantillons du même baume analysé.

Pour la momie 30000139, l'échantillonnage de baume a été effectué au niveau de la narine droite en externe (n°15) et en intrabuccale en interne (n°16). Ces deux échantillons possèdent des acides gras d'origine non déterminée et de la résine de Pinacées. Le n° 15 contient en plus de la cire d'abeille et de bitume, contrairement au n°16. Enfin au vu des marqueurs rencontrés (acides dicarboxyliques) l'échantillon n°15 qui est en externe de la tête de momie est plus altéré. De plus, ces deux prélèvements de baume n'ont pas la même composition. Ce qui induit une hétérogénéité dans la composition et au niveau de l'altération de ces deux baumes.

Sur la momie 30000142 ont été prélevés deux échantillons : à l'arrière de la tête, du côté droit en externe (n°62) et sur le foramen magnum, en interne (n°63). Les deux prélèvements ont des compositions chimiques très différentes. Le n°62 possède de la résine de Pinacées tandis que le n°63 comprend de la cire d'abeille, des diterpènes et des HAP. L'huile végétale utilisée dans la formulation est identique pour les deux, il s'agit d'huile de ricin. Donc, la composition de ces baumes prélevés sur la même tête est hétérogène sur ces deux prélèvements.

Pour la momie 30000143, l'échantillonnage de baume a été effectué au niveau de la cavité orbitale droite en externe (n°12) et au niveau du canal rachidien cervical en interne (n°37). Hormis de la résine de Pinacées qui a été identifiée dans les deux échantillons, les deux

baumes sont de compositions différentes. Le n°12 contient de l'huile de ricin tandis que le n°37 est composé de bitume. Ces deux échantillons ont donc une composition chimique différente.

Pour la momie 30000148, l'échantillonnage de baume a été effectué au niveau de la partie supérieure du cou en interne (n°17) et en externe du crâne à gauche (n°18). Ils possèdent tous deux des corps gras, du bitume et des stérols avec caractérisation d'une huile végétale pour le n°17. De la cire d'abeille a été identifié au sein de l'échantillon n°17. De plus, au vu des marqueurs chimiques, l'échantillon 18 est plus altéré. Donc, la composition de ces 2 baumes prélevés sur la même tête est hétérogène.

Sur la momie 30000150, ont été prélevés quatre échantillons : n°19 au niveau externe de l'oreille gauche, n°20 un échantillon d'aspect sableux prélevé en interne de la tête, n°21 au niveau externe de la tempe droite, n°33 un échantillon d'aspect sableux prélevé en externe au niveau de l'oreille droite. Ces quatre échantillons possèdent tous des corps gras. Le n°19 comprend de la cire d'abeille. Le n° 21 comprend de la résine diterpénique. Les n° 20 et 33 possèdent tous les deux de la résine triterpénique mastic. Globalement, les compositions chimiques de ces 4 prélèvements de baumes échantillonnés sur cette tête de momie sont hétérogènes ; seuls les échantillons n°20 et 33 possèdent une composition moléculaire identique.

Pour la tête de momie 30000286, l'échantillonnage de baume a été effectué au niveau du cou en externe (n°10) et sur la mandibule en externe (n°11). Ils possèdent tous deux de la résine de Pinacées et des acides gras. L'échantillon n°10 possède de nombreux marqueurs de dégradation d'une huile. La composition chimique de ces échantillons est différente ce qui montre une hétérogénéité dans l'altération du baume mais une homogénéité de la composition.

La tête de momie 30000306 a fait l'objet de trois prélèvements distincts : n°3 a été prélevé au niveau de la tempe droite en externe, n°30 qui est un échantillon d'aspect sableux prélevé en externe au niveau de la mâchoire et n°31 qui est également un échantillon d'aspect sableux prélevé en intrabuccale. Au sein de l'échantillon n°3, de la résine de Pinacées, du cholestérol et des acides gras monocarboxyliques ont été identifiés. Pour les n°30 et 31, de la résine mastic, de la cire d'abeille et des acides gras mono- et dicarboxyliques ont été détectés, ce qui

indique une composition homogène de ces deux échantillons. A contrario, le n°3 à une composition très différentes des deux autres.

Sur la momie 90001402, ont été réalisé deux prélèvements : n°8 en haut du crâne en externe et n°9 au niveau du pubis en externe. Ces échantillons possèdent des corps gras, de la cire d'abeille et de la résine de Pinacées. Ils ne diffèrent que par la présence de bitume et de stérols uniquement caractérisés dans l'échantillon 8. Ces deux échantillons ont une composition légèrement différente mais il n'est pas possible de conjecturer l'homogénéité ou l'hétérogénéité de ces baumes car le bitume et les stérols peuvent ne pas être détectés en fonction de leur proportion dans le mélange notamment.

Sur la momie 90001635 ont été prélevés deux échantillons : le n°38 sur le rachis lombaire L4 en interne et le n°39 en intracrânien au niveau du foramen magnum en interne. Ces deux échantillons ont quasiment la même composition avec une présence d'acides gras, de cholestérol et des traces de marqueurs diterpéniques. Ils ont donc une composition homogène.

La tête de momie 90001948A a fait l'objet de 3 prélèvements : le n°44 sur la tête en externe, le n°45 qui est un échantillon externe et le n°46 qui a été prélevé à l'arrière du crâne à la base du cou en externe. Ces trois échantillons ont exactement la même composition (des HAP) ils sont donc homogènes.

Pour la tête de momie 90001951A, l'échantillonnage a été réalisé sous l'oreille gauche en externe (n°50) et derrière la mandibule à gauche en externe (n°51). Ces deux échantillons sont composés en grande proportion de corps gras. Ils diffèrent de par les autres substances naturelles utilisées. En effet, le n°50 est composé de cire d'abeille et de bitume tandis que le n°51 est composé de résine de Pinacées. Il s'agit donc de deux baumes de composition hétérogène.

Sur la momie 90001257 ont été prélevés deux échantillons : au niveau du tampon abdominal en interne (n°43) et dans la cavité abdominale près de l'orifice d'éviscération en interne (n°69). Ils ont une composition chimique très similaire, avec la présence d'acide gras en grande proportion. Ils comportent également de la résine diterpénique et de la cire d'abeille et du bitume. Ces deux échantillons de baumes ont une composition homogène.

Ainsi, au regard de l'ensemble des prélèvements des 13 individus, il est possible d'observer deux tendances :

- Les prélèvements en externe montrent une plus forte altération que les prélèvements en interne.
- Il n'y a pas de généralité quant à l'application des baumes sur les individus, ils peuvent être homogènes ou hétérogènes.

Suite à l'étude et la comparaison de divers échantillons de baumes provenant d'un même individu, il est à remarquer que des distinctions de compositions chimiques existent entre les échantillons prélevés en interne et en externe au sein d'une même momie. Cependant, il existe également des dissemblances moléculaires indépendantes des facteurs internes/externes des zones de prélèvements. La conclusion de cette étude suggère donc qu'il est nécessaire de réaliser plusieurs prélèvements au sein d'une même momie afin d'avoir la plus fine et la plus exhaustive composition chimique de son baume de momification.

Conclusion générale et perspectives

Ces travaux ont eu pour objectif de déterminer la composition exhaustive globale des baumes d'un ensemble d'individus provenant d'Égypte ancienne, de tout âge, de tout sexe, d'époques différentes et de diverses zones géographiques de Haute Egypte. La réalisation, la mise au point et/ou l'optimisation des protocoles appliqués en IR-TF ou en CPG-SM a permis d'obtenir un ensemble de résultats qui ont amené à définir et à affiner la composition des baumes de chaque échantillon.

Une observation macroscopique a tout d'abord rendu possible le classement des échantillons selon deux catégories : les échantillons d'aspect amorphe (catégorie n°1) et les échantillons d'aspect sableux (catégorie n°2). L'analyse par infrarouge a permis de caractériser des bandes remarquables dans les échantillons, attribuables à des matériaux organiques et/ou inorganiques tels que des résines polyterpéniques, des corps gras, des polysaccharides ou même des oxydes de fer. De plus, l'ensemble des données obtenues a été utilisé pour réaliser des traitements statistiques de données par Classification Ascendante Hiérarchique, afin de classer les échantillons selon leur ressemblance sous forme de clusters. Après des analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse ont été réalisées, en utilisant une méthode d'extraction conventionnelle à solvant unique. Ces analyses ont permis d'identifier un grand nombre de composés correspondant soit à des marqueurs moléculaires de certaines familles de résines végétales, ou d'huiles, soit à des marqueurs de dégradation ou d'altération. Des protocoles plus spécifiques ont été mis au point afin d'affiner la caractérisation moléculaire des baumes, notamment en élucidant la présence de bitume au sein de nombreux échantillons archéologiques, en supprimant l'étape préalable de saponification de la cire d'abeille et en réduisant le temps d'expérience ainsi que la durée d'analyse. La composition de chacun des baumes, déterminée à l'aide des analyses en infrarouge et des divers protocoles utilisés en chromatographie, est déclinée dans le Tableau 37.

Tableau 37: Composition des baumes des 61 prélevements.

Référence	Ech.	Composition	Référence	Ech.	Composition
30000104	29	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale	30000306	31	Corps gras, résine mastic, cire d'abeille, gomme végétale
30000107	68	Corps gras, résine de Pinacées, cire d'abeille, gomme végétale	30000308	27	Corps gras, gomme végétale
30000110	14	Huile de ricin, résine de Pinacées, bitume	30000364	13	Corps gras, cire d'abeille, gomme végétale
30000111	34	Corps gras, résine mastic, bitume, cire d'abeille, gomme végétale	90001169	41	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille
30000114	1	Corps gras, résine de Pinacées	90001257	43	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille, gomme végétale
30000125	5	Corps gras, résine de Pinacées, cire d'abeille		69	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille
30000133	22	Corps gras, résine de Pinacées, bitume	90001258	40	Corps gras, résine de Pinacées
	23	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale	90001259	47	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille
	24	Corps gras, résine de Pinacées, bitume	90001265	48	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale, ocre
30000134	4	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale	90001402	8	Huile végétale, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille, gomme végétale
30000139	15	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille		9	Corps gras, résine de Pinacées, cire d'abeille, gomme végétale
30000139	16	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale	90001597	66	Corps gras, résine de Pinacées, cire d'abeille
30000142	62	Huile de ricin, résine de Pinacées	90001598	53	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille
	63	Huile de ricin, résine de Pinacées, cire d'abeille, HAP, gomme végétale	90001626	59	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale
30000143	12	Huile de ricin, résine de Pinacées	90001627	61	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale
	37	Corps gras, résine de Pinacées, bitume	90001635	38	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale
30000144	6	Huile végétale, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale		39	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale
30000146	35	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale	90001948	44	Corps gras, résine de Pinacées, HAP
30000148	17	Huile végétale, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale		45	Corps gras, résine de Pinacées, HAP
	18	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille, gomme végétale		46	Corps gras, résine de Pinacées, HAP
30000150	19	Corps gras, cire d'abeille, gomme végétale	90001949	49	Huile végétale, résine de Pinacées, bitume
	20	Corps gras, résine mastic, gomme végétale	90001950	52	Corps gras, résine de Pinacées, HAP
	21	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale	90001951	50	Corps gras, bitume, cire d'abeille, gomme végétale
	33	Corps gras, résine mastic, gomme végétale, ocre		51	Corps gras, résine de Pinacées
30000152	2	Corps gras, résine de Pinacées, bitume	90001953	58	Corps gras, résine de Pinacées, cire d'abeille, HAP
30000285	26	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale	90001954	65	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, cire d'abeille
30000286	10	Corps gras, résine de Pinacées	90001955	64	Huile végétale, résine de Pinacées, gomme végétale
	11	Huile végétale, résine de Pinacées, gomme végétale	90001956	56	Huile de ricin, bitume, gomme végétale
30000304	25	Corps gras, cire d'abeille, gomme végétale	90001957	57	Huile de ricin, résine de Pinacées, cire d'abeille
30000306	3	Corps gras, résine de Pinacées, gomme végétale	90002978	60	Corps gras, résine de Pinacées, bitume, gomme végétale
	30	Corps gras, résine mastic, gomme végétale			

A partir des résultats obtenus par IR-TF, des analyses statistiques ont été réalisées notamment par Classification Ascendant Hiérarchique. L'outil statistique a donc été un moyen simple de traiter visuellement l'ensemble des échantillons *via* la formation de groupes des prélèvements. Ces clusters ont donc permis de classer les échantillons selon leur ressemblance et de faciliter ainsi l'interprétation des résultats. Les clusters obtenus sont au nombre de 5 :

- C1 comprend des échantillons contenant des HAP,
- C2 est formé par des échantillons possédant des polysaccharides et pour la fraction organique, une grande majorité d'acides gras,
- C3 est un cluster rassemblant des échantillons très différents les uns des autres en infrarouge et par CPG-SM. Leur point commun réside en la présence de résines di ou triterpénique,
- C4 et C5, sont deux clusters non différenciables et représentés par la présence de marqueurs d'altération tels que des acides gras dicarboxyliques.

D'un point de vue plus spécifique, il y a tout de même quelques incohérences à noter. Certains clusters tels que les 3, 4 et 5 pourraient n'en former qu'un et certains échantillons pourraient être dans d'autres groupes compte-tenu de leur composition chimique. Les données employées dans la formation de clusters proviennent d'analyses infrarouge, technique universelle pour les substances organiques et inorganiques. Cet outil spectroscopique permet donc d'étudier un large panel de molécules, cependant aucune séparation des composés n'est réalisée et les spectres obtenus sont donc la résultante de l'additivité de toutes les bandes spectrales de l'ensemble des molécules présentes. Les analyses par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse sont plus fines dans le sens d'une caractérisation voire une identification moléculaire plus précise, mais de fait, également plus restrictive. Ce constat implique une réelle complémentarité dans l'utilisation de ces deux techniques pour l'analyse de baumes de momies.

Une suite à ces travaux est envisagée notamment par la réalisation de recherches plus approfondies sur la famille des corps gras et leur dégradation. En effet, la nature des corps

gras utilisés, dans le panel d'échantillons étudiés, a été déterminée avec assurance pour 5 d'entre eux avec l'identification d'huile de ricin. L'utilisation d'autres techniques telles que des analyses isotopiques ou la caractérisation des diverses protéines pourrait, par exemple, permettre d'identifier la nature des huiles végétales et/ou des graisses animales employées.

De plus, en collaboration avec l'équipe Biotechnologie Environnementale et Chimiométrie (BEC) de l'UMR IMBE d'Aix-Marseille université , un projet est en cours portant sur l'utilisation d'un algorithme appelé SIMPLISMA (SIMPLe to use Interactive Self-Modelling Algorithm) permettant à partir des données infrarouge, d'isoler pour chaque analyse IR, des spectres bruts de substances naturelles de référence ce qui pourrait permettre de déterminer la composition chimique des baumes ainsi que la proportion de ces substances au sein de chaque échantillon.

Enfin, remettre l'ensemble de ces résultats en contexte archéologique, c'est-à-dire en se basant sur chaque individu plutôt que sur chaque échantillon, est une étape nécessaire et même indispensable en archéométrie moléculaire. Ainsi, afin de corrélérer la formulation des baumes en fonction du sexe, de l'âge, de la localisation géographique et/ou la période historique des individus, différentes études en ACP ont été réalisées. Pour cela, les mêmes données que celles du chapitre 4 partie 2.3.3. ont été utilisées, les variables étant les bandes infrarouges. Les paramètres précédemment cités relatifs aux échantillons, ont été ajoutés séparément (Fig. 121). Il est à noter que des traitements statistiques à partir des données chromatographiques ont également été réalisées mais ne se sont pas révélés concluants.

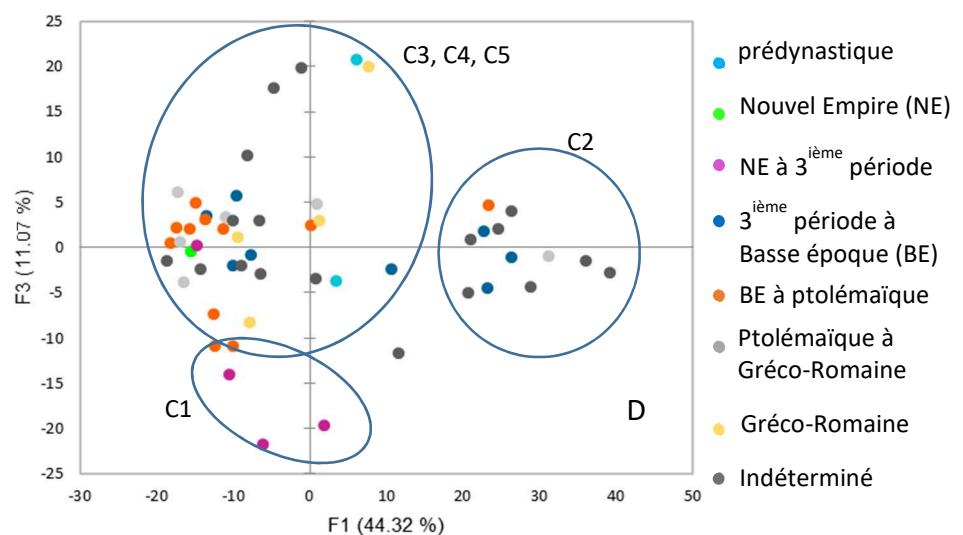
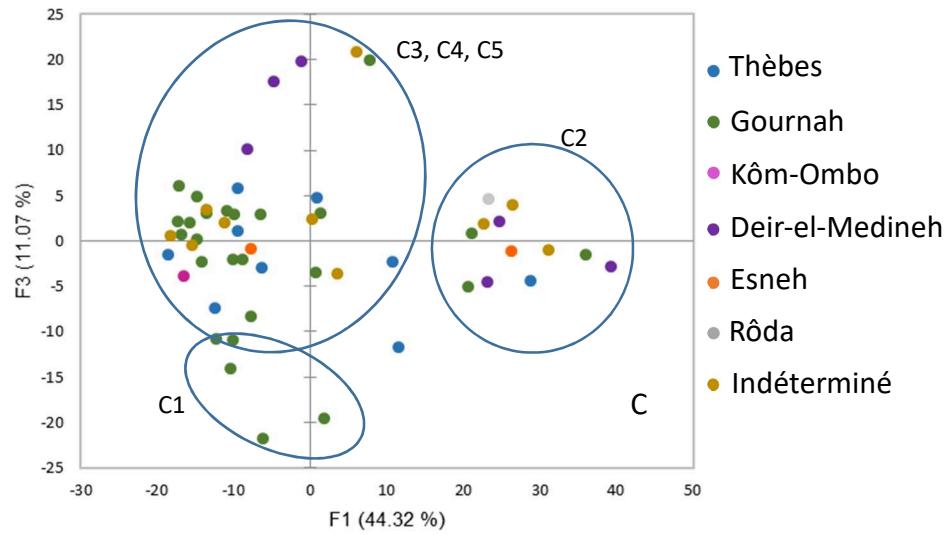
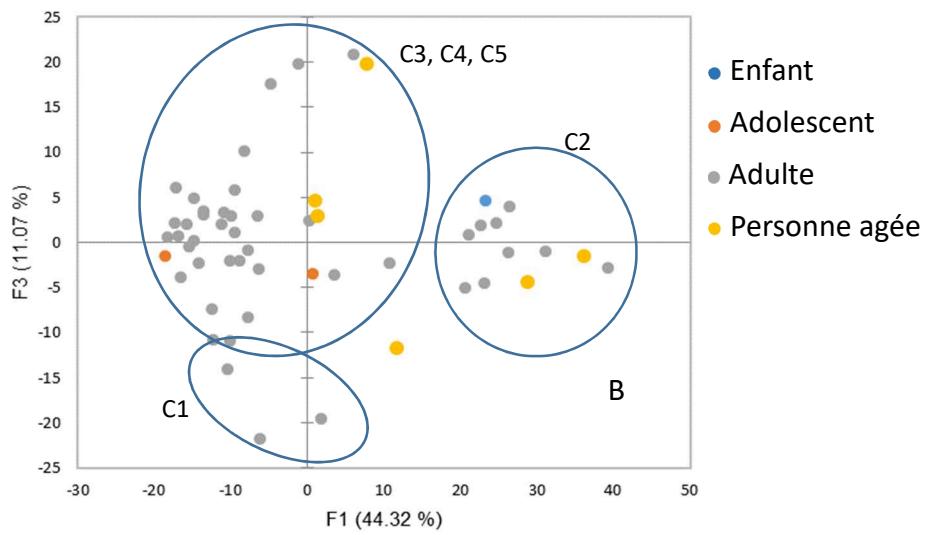
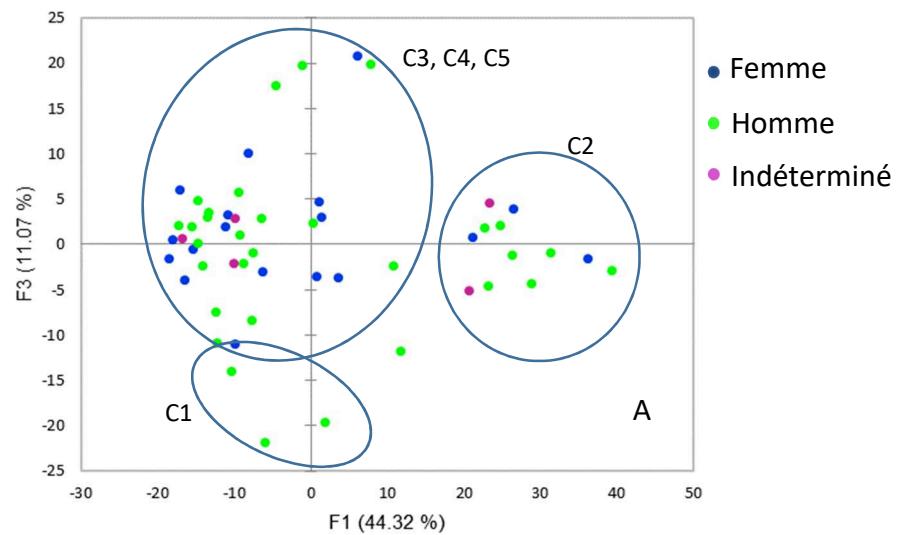


Figure 121: ACP en fonction du sexe (A), de l'âge (B), de la localisation géographique (C) et de la période historique (D). Logiciel XLStat.

Au regard des différentes ACP, aucune tendance n'est à noter. Le sexe des individus de cette étude (Fig. A) n'est pas un paramètre qui va influer sur les substances naturelles utilisées dans la confection des baumes, car les hommes et les femmes sont répartis uniformément dans l'ensemble des clusters.

Pour l'âge des individus (Fig. B), il y a seulement un individu qui est un enfant et deux qui sont des adolescents. De plus les 6 personnes âgées sont réparties sur deux clusters. Sur les 61 individus, il est donc impossible de tirer une tendance en fonction de l'âge.

Pour la provenance des individus (Fig. C), la majorité d'entre eux proviennent de Thèbes ou de Gournah. Les autres individus (au nombre de 10) proviennent de nécropoles situées à Kôm-Ombo, Deir-el-Medineh, Esneh ou Roda. Cependant ces derniers ne forment pas un panel assez large, en terme numérique, pour être représentatif. Il est donc impossible de tirer une tendance en fonction du paramètre de la provenance géographique des individus.

En ce qui concerne la période historique (Fig. D), aucune tendance n'est également à noter sur l'ACP. En revanche, la composition des baumes de chaque individu est cohérente avec leur période historique. Pour la momie prédynastique 90001635, des corps gras, des polysaccharides ont été détectés en grandes quantités ainsi que des traces de résine diterpénique. La composition chimique de ce baume est en adéquation avec des résultats publiés dans la littérature (Jones et al. 2014; 2018). Pour l'ensemble des baumes des autres individus, Leur composition correspond à des mélanges plus complexes avec de la cire d'abeille, du bitume etc... ce qui est cohérent avec leur période historique datant du Nouvel Empire où les recettes d'embaumement étaient plus élaborées (Łucejko et al. 2012; Jacqueline et al. 2016; Łucejko et al. 2017).

Au vu du grand nombre de paramètres différents : le sexe, l'âge, la période historique et les nombreuses provenances des divers individus, aucun lien ne peut être établi entre la composition chimique des baumes et ces différents paramètres. Il est possible de conclure que les différentes formulations de baumes, pour les momies de cette étude, ne dépendent pas du sexe, de l'âge et de la provenance. Pour ce qui est de la période historique les résultats semblent cohérents avec la littérature. Un échantillon, au vu de sa composition chimique, sort tout de même du lot : il s'agit de l'échantillon n°34, de la momie 30000111 qui est de sexe masculin et provient du site de Gournah et datant de la période Gréco-Romaine. Ce baume

est composé de corps gras, de résine mastic, de cire d'abeille et de bitume. D'après l'état actuel de nos connaissances sur la composition chimique des baumes, cette formulation à base des substances naturelles décrites ci-dessus n'est pas courante.

Ces résultats seront associés par la suite avec ceux de chacune des équipes participant au projet HELYCOM, afin de contribuer à l'amélioration des connaissances relatives à la chronologie de la momification, à l'évolution des différentes pratiques et croyances au sein de la société égyptienne.

Bibliographie

- A Lucas, et J R Harris. 1962. « Ancient egyptian materials and industries », 1-9 270-326 429-456. <https://doi.org/28>.
- Abdel-Maksoud, G., et A.R. El-Amin. 2011. « A Review on the Materials Used during the Mummification Processes in Ancient Egypt ». *Mediterranean Archaeology & Archaeometry* 11 (2): 129-50.
- Aboelazayem, O., N.S. El-Gendy, A.A. Abdel-Rehim, F. Ashour, et M.A. Sadek. 2018. « Biodiesel Production from Castor Oil in Egypt: Process Optimisation, Kinetic Study, Diesel Engine Performance and Exhaust Emissions Analysis ». *Energy* 157: 843-52.
- Anderson, D. M. W., D. D. M. Brown, N. A. Morrison, et W. Wang. 1990. « Specifications for gum arabic (Acacia senegal), analytical data for samples collected between 1904 and 1989. » *Food Addit. Contam.* 7(3): 303-21.
- Bailly, L. 2015. « Caractérisation moléculaire et isotopique de goudrons et résines archéologiques dérivés de conifères en contexte maritime. » Strasbourg.
- Barguet, A., trad. 1964. *Hérodote - Thucydide Oeuvres complètes*. Gallimard. Paris: Bibliothèque de la Pléiade.
- Bashir, M., et S. Haripriya. 2016. « Assessment of Physical and Structural Characteristics of Almond Gum ». *International Journal of Biological Macromolecules* 93: 476-82.
- Bastien, C. 2011. « Etude chimique des substances contenues dans une collection exceptionnelle de poteries provenant de Deir-el-medineh (Egypte) : une population et ses produits ». Strasbourg.
- Baum, N. 1989. *Arbre et arbustes de l'Egypte Ancienne*. Peeters Publishers.
- Bellamy, L. J. 1980. *The infrared Spectra of Complex Molecules Volume Two Advances in Infrared Group Frequencies*. Springer Netherlands.
- Bera, S, S Dutta, S Paul, M Khan, et R Ghosh. 2016. « Dammar Resin from the Eocene Lignite of Bengal Basin, Eastern India: Terpenoid Composition and Botanical Origin ». *Geobios* 50 (1): 3-8.
- Berg, K.J., J. J. Boon, I. Pastorova, et L.F. Spetter. 2000. « Mass Spectrometric Methodology for the Analysis of Highly Oxidized Diterpenoid Acids in Old Master Paintings ». *Journal of Mass Spectrometry* 35 (4): 512-33.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi, et M. Sivakumar. 2005. *Chemistry of natural products*. Springer Sciences & Business.

- Bondetti, M. 2014. « Analyse chimique de la composition de baumes provenant de momies animales Egyptiennes ». Avignon: Master 2 histoire de l'art et patrimoine.
- Bosze, S. 2007. *Bioactive components of milk*. Springer Science & Business Media.
- Bouchonnet, S. 2009. *La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse*. Lavoisier.
- Brettell, R., W. Martin, S. Atherton-Woolham, B. Stern, et L. McKnight. 2017. « Organic Residue Analysis of Egyptian Votive Mummies and Their Research Potential ». *Studies in Conservation* 62 (2): 68-82. <https://doi.org/10.1179/2047058415Y.0000000027>.
- Buckley, S.A. 2001. « Chemical investigations of the organic embalming agents employed in ancient egyptian mummification. » Bristol.
- Buckley, S.A., K.A. Clark, et R.P. Evershed. 2004. « Complex organic chemical balms of Pharaonic animal mummies ». *Nature* 431 (7006): 294-99.
- Buckley, S.A., et R.P. Evershed. 2001. « Organic chemistry of embalming agents in Pharaonic and Graeco-Roman mummies ». *Nature* 413 (6858): 837-41.
- Charrié-Duhaut, A., P. Burger, J. Maurer, J. Connan, et P. Albrecht. 2009. « Molecular and isotopic archaeology: Top grade tools to investigate organic archaeological materials ». *Comptes Rendus Chimie* 12 (10–11): 1140-53.
- Čížová, K., K. Vizárová, A. Ház, A. Vykydalová, Z. Cibulková, et P. Šimon. 2019. « Study of the Degradation of Beeswax Taken from a Real Artefact ». *Journal of Cultural Heritage* 37: 103-12.
- Clark, K.A. 2006. « Tracing the evolution of organic balm use in Egyptian Mummification via molecular and isotopic signatures ». Bristol.
- Cockburn, T. A., E. Cockburn, et T. A. Reyman. 1998. *Mummies, disease and ancient cultures*. Cambridge University Press.
- Colombini, M. P, et F. Modugno. 2009. *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*. Wiley.
- Colombini, M.P., F. Modugno, R. Fuoco, et A. Tognazzi. 2002. « A GC-MS Study on the Deterioration of Lipidic Paint Binders ». *Microchemical Journal* 73 (1-2): 175-85.
- Colombini, M.P., F. Modugno, F. Silvano, et M. Onor. 2000. « Characterization of the Balm of an Egyptian Mummy from the Seventh Century B.C. » *Studies in Conservation* 45 (1): 19.

- Connan, J. 2005. « La momification dans l'Egypte ancienne : le bitume et les autres ingrédients organiques des baumes de momies ou Les ingrédients organiques des baumes de momies égyptiennes : bitume, cire d'abeille, résines, poix, graisses, huile, vin, etc. » In , S.H. Aufrère, Eruv III, OrMonsp XV, 163-211.
- Connan, J., et O. Deschesne. 1996. *Le bitume à Suze*. Réunion des Musées Nationaux. Musée du Louvre.
- Connan, J., et D. Dessort. 1989. « Du bitume de la Mer Morte dans les baumes d'une momie égyptienne : identification par critères moléculaires ». In *Compte rendu de l'Academie des Sciences*, 309, série II:1665-72. Paris.
- . 1991. « Du bitume dans des baumes de momies égyptiennes (1295 av. JC- 300 ap. JC): détermination de son origine et évaluation de sa quantité. » In *Compte rendu de l'Academie des Sciences*, 312, série II:1445-52. Paris.
- Cuní, J., P. Cuní, B. Eisen, R. Savizky, et J. Bové. 2012. « Characterization of the Binding Medium Used in Roman Encaustic Paintings on Wall and Wood ». *Analytical Methods* 4 (3): 659.
- Daher, C., L. Bellot-Gurlet, A.S. Le Hô, C. Paris, et M. Regert. 2013. « Advanced Discriminating Criteria for Natural Organic Substances of Cultural Heritage Interest: Spectral Decomposition and Multivariate Analyses of FT-Raman and FT-IR Signatures ». *Talanta* 115: 540-47. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.014>.
- Daher, C., V. Pimenta, et L. Bellot-Gurlet. 2014. « Towards a Non-Invasive Quantitative Analysis of the Organic Components in Museum Objects Varnishes by Vibrational Spectroscopies: Methodological Approach ». *Talanta* 129: 336-45.
- De Hoffmann, E., et V. Stroobant. 2005. *Spectrométrie de masse*. Dunod.
- Delgado-Robles, A. A. 2018. « Analytical and experimental approach for the characterization of Archaeological plant exudates and tars: Prehistory, Ethno-archaeology and Chemistry. » Institut de chimie de Nice.
- Derrick, M.R., D. Stulik, et J.M. Landry. 1999. *Infrared spectroscopy in conservation science. Scientific tools for conservation*. Getty publication.
- Dong, Y., K. M. Sørensen, S. He, et S. B. Engelsen. 2017. « Gum Arabic Authentication and Mixture Quantification by near Infrared Spectroscopy ». *Food Control* 78: 144-49.
- Duce, C., S. Orsini, A. Spepi, M. P. Colombini, M. R. Tiné, et E. Ribechini. 2015. « Thermal Degradation Chemistry of Archaeological Pine Pitch Containing Beeswax as an Additive ». *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 111: 254-64.

- Dunand, F., et R. Lichtenberg. 1991. *Les momies, un voyage dans l'éternité*. Découverte Gallimard. Archéologie 118.
- . 1998. *Les momies et la mort en Egypte*. Errance.
- . 2005. *Des animaux et des hommes*. Du Rocher.
- Eldor, A.P. 2006. *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Elsevier.
- Evershed, R.P. 1992. « Chemical composition of a bog body adipocere. » *Archaeometry* 34: 253-65.
- Evershed, R.P., S.N. Dudd, V.P. Anderson-Stojanovic, et E.R. Gebhard. 2003. « New Chemical Evidence for the Use of Combed Ware Pottery Vessels as Beehives in Ancient Greece ». *Journal of Archaeological Science* 30 (1): 1-12.
- Faix, O., D. Meier, et I. Fortmann. 1990. « Thermal Degradation Products of Wood ». *Holz Als Roh- Und Werkstoff* 48 (9): 351-54. <https://doi.org/10.1007/BF02639897>.
- Fletcher, J., et D. Montserrat. 1998. « The human hair in the tomb of Tutankhamun: a re-evaluation. » In , 401-7. C.Eyre.
- Font, J., N. Salvadó, S. Butí, et J. Enrich. 2007. « Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Suitable Technique in the Study of the Materials Used in Waterproofing of Archaeological Amphorae ». *Analytica Chimica Acta* 598 (1): 119-27.
- Forêt, R. 2018. *Dictionnaire des sciences de la vie*. De Boeck.
- Fritsch, C. W., et F. E. Deatherage. 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: 109-13.
- Gottschalk, G., et L.M. Gottschalk. 1986. *Bacterial metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Goyon, J.C. 1972. *Rituels funéraires de l'ancienne Egypte. Le rituel de l'Embaumement. Le rituel de l'Ouverture de la Bouche. Les livres des Respirations*. LAPO, Éd du cerf. Paris.
- Goyon, J.C., et P. Josset. 1988. *Un corps pour l'éternité. Autopsie d'une momie*. Le léopard d'or.
- Goyon, J.C., C. Mathe, et C. Vieillescizes. 2016. « A propos de la momie infantile du musée Calvet d'Avignon. » *ENiM*, 135-39.
- Hauck, T.C., J. Connan, A. Charrié-Duhaut, J. M. Le Tensorer, et H. Sakhel. 2013. « Molecular Evidence of Bitumen in the Mousterian Lithic Assemblage of Hummal (Central Syria) ». *Journal of Archaeological Science* 40 (8): 3252-62.

- Hepper, F. N. 1990. *Pharaoh's flowers: the botanical treasures of Tutankhamun*. University of Chicago Press.
- Hooykaas, P. J. J., M. A. Hall, et K. R. Libenga. 1999. *Biochemistry and molecular biology of plant hormones*. Vol. 33. Elsevier Science.
- Hornung, E., et D. Lorton. 1999. *History of Ancient Egypt: an introduction*. Cornell university press.
- Jacqueline, S., J. Bleton, I. Huynh-Charlier, S. Minchin, A.L. Muller, J. Poupon, et P. Charlier. 2016. « Les produits d'embaumement égyptiens: nouvelles données pharmacologiques. » In *Histoire des sciences médicales*. Vol. Tome L 1.
- Jones, J., T. F. G. Higham, R. Oldfield, T.P. O'Connor, et S.A. Buckley. 2014. « Evidence for Prehistoric Origins of Egyptian Mummification in Late Neolithic Burials ». Édité par L. Bondioli. *PLoS ONE* 9 (8): e103608. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103608>.
- Jones, J., T.F.G. Higham, D. Chivall, R. Bianucci, G.L. Kay, M.J. Pallen, R. Oldfield, F. Ugliano, et S.A. Buckley. 2018. « A Prehistoric Egyptian Mummy: Evidence for an 'Embalming Recipe' and the Evolution of Early Formative Funerary Treatments ». *Journal of Archaeological Science* 100: 191-200.
- Josset, P. 1996. « Emplois thérapeutique du natron dans l'Egypte antique et le monde gréco-romain. » *Revue d'Histoire de la Pharmacie*, n° 311: 385-96.
- Langenheim, J. H. 2003. *Plant resin, chemistry, evolution, ecology, ethnobotany*. Timber press, Portland, Cambridge.
- Lombardi, B. 2007. « Liants hydrocarbonés ». *Techniques de l'ingénieur*.
- Łucejko, J., J. Connan, S. Orsini, E. Ribechini, et F. Modugno. 2017. « Chemical Analyses of Egyptian Mummification Balms and Organic Residues from Storage Jars Dated from the Old Kingdom to the Copto-Byzantine Period ». *Journal of Archaeological Science* 85: 1-12.
- Łucejko, J., A. Lluveras-Tenorio, F. Modugno, E. Ribechini, et M.P. Colombini. 2012. « An Analytical Approach Based on X-Ray Diffraction, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Gas Chromatography/Mass Spectrometry to Characterize Egyptian Embalming Materials ». *Microchemical Journal* 103: 110-18.
- Machenaud, J. 2017. « Etude bibliographique et analytique des acides boswelliques et des guggulstérones, molécules constitutives des résines d'encens et de myrrhe, excipients

d'un médicament à usage humain dans un nouveau contexte réglementaire. »
Bordeaux.

Magi, E., R. Bianco, C. Ianni, et M. Di Carro. 2002. « Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediments of the Adriatic Sea ». *Environmental Pollution* 119 (1): 91-98.

Maglione, G., et M. Carn. 1975. « Spectres Infrarouges des minéraux salins et des silicates néoformés dans le bassin Tchadien ». *Cahier ORSTOM série géologie* 7 (1): 3-9.

Marshall, A., et R. Lichtenberg. 2013. *Les momies égyptiennes. La quête millénaire d'une technique*. Fayard.

Mathe, C., M. Hovaneissian, P. Archier, et C. Vieillescazes. 2005. « Identification de résines végétales datant de l'Egypte ancienne par Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse ». *ArchéoSciences*, n° 29: 157-61.
<https://doi.org/10.4000/archeosciences.658>.

Ménager, M, C Azemard, et C Vieillescazes. 2014. « Study of egyptian mummification balms by FT-IR spectroscopy ». *Microchemical Journal* 114: 32-41.

Mills, J.S., et R. White. 1994. *The organic chemistry of museum objects*. Butterworth-Heinemann, Second edition.

Modugno, F., E. Ribechini, et M.P. Colombini. 2006. « Chemical Study of Triterpenoid Resinous Materials in Archaeological Findings by Means of Direct Exposure Electron Ionisation Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Mass Spectrometry ». *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20 (11): 1787-1800.

Mokhtar, G., H. Riad, et S. Iskander. 1973. *Mummification in ancient Egypt*. Cairo: Cairo Museum.

Montagner, C., D. Sanches, J. Pedroso, M. J. Melo, et M. Vilarigues. 2013. « Ochres and Earths: Matrix and Chromophores Characterization of 19th and 20th Century Artist Materials ». *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 103: 409-16.

Moyo, S., D. Mphuthi, E. Cukrowska, C. Henshilwood, K. van Niekerk, et L. Chimuka. 2016. « Blombos Cave: Middle Stone Age Ochre Differentiation through FTIR, ICP OES, ED XRF and XRD ». *Quaternary International* 404: 20-29.

Nicholson, P.T., et I. Shaw. 2000. *Ancient Egyptian Materials and Technology*. Cambridge university press.

- Nissenbaum, A., et S. Buckley. 2013. « Dead Sea Asphalt in Ancient Egyptian Mummies-Why? » *Archaeometry* 55 (3): 563-68.
- Passi, S., M. Picardo, C. De Luca, M. Nazzaro-Porro, L. Rossi, et G. Rotilio. 1993. « Saturated dicarboxylic acids as products of unsaturated fatty acid oxydation. » *Biochimica y biophysica acta - Lipids and Lipid metabolism* 1168: 190-98.
- Pelletier, H. 2005. « Modification et photopolymérisation d'huiles végétales en vue de leur application dans les encres et vernis UV. » Institut National Polytechnique de Grenoble.
- Peris-Vicente, J., J.V. Gimeno Adelantado, M.T. Doménech Carbó, R. Mateo Castro, et F. Bosch Reig. 2006. « Characterization of Waxes Used in Pictorial Artworks According to Their Relative Amount of Fatty Acids and Hydrocarbons by Gas Chromatography ». *Journal of Chromatography A* 1101 (1-2): 254-60.
- Perra, G., M. Renzi, C. Guerranti, et S.E. Focardi. 2009. « Polycyclic aromatic hydrocarbons pollution in sediments: distribution and sources in a lagoon system (Orbetello, Central Italy). » *Transitional Waters Bulletin* 3: 45-58.
- Perraud, A. 2014. « Connaissance et représentations du cerveau en Egypte Ancienne. » Montpellier 3.
- Phillips, G.O., et P.A. Williams, éd. 2005. *Handbook of Hydrocolloids*. Repr. Woodhead Publishing in Food Science and Technology. Boca Raton, Fla.: CRC Press [u.a.].
- Pistre, M. S. 2001. « Contribution à l'étude d'Icones et de peintures Post-Bysantines par différentes techniques chromatographiques et spectroscopiques. » Avignon université.
- Podvin, J.L. 2009. *L'Egypte ancienne*. Ellipses.
- Posener, G. 1959. *Dictionnaire de la civilisation égyptienne*. Hazan. Paris.
- Rageot, M. 2015. « Les substances naturelles en Méditerranée nord-occidentale (Vie-lier millénaire BCE) : chimie et archéologie des matériaux exploités leurs propriétés adhésives et hydrophobes. » Nice Sophia Antipolis.
- Régert, M., H. A. Bland, S. N. Dudd, P. F. Van Bergen, et R. P. Evershed. 1998. « Free and bound fatty acid oxidation products in archaeological ceramic vessels. » *Proceedings of the Royal Society of London B* 265: 2027-32.

- Régert, M., S. Colinart, L. Degrand, et O. Decavallas. 2001. « Chemical Alteration and Use of Beeswax Through Time: Accelerated Ageing Tests and Analysis of Archaeological Samples from Various Environmental Contexts ». *Archaeometry* 43 (4): 549-69.
- Régert, M., J. Langlois, et S. Colinart. 2005. « Characterisation of Wax Works of Art by Gas Chromatographic Procedures ». *Journal of Chromatography A* 1091 (1-2): 124-36.
- Rullkötter, J., et A. Nissenbaum. 1988. « Dead sea asphalt in Egyptian mummies : molecular evidence. » *Naturwissen* 75: 196-98.
- Serpico, M., et R. White. 2000. « Ancient egyptian material and technology. » In . Cambridge University Press.
- Song, C., W.H. Fan, L. Ding, X. Chen, Z.Y. Chen, et K. Wang. 2018. « Terahertz and Infrared Characteristic Absorption Spectra of Aqueous Glucose and Fructose Solutions ». *Scientific Reports* 8 (1): 8964.
- Stacey, R.J., J. Dyer, C. Mussell, A. Lluveras-Tenorio, M.P. Colombini, Celia Duce, Jacopo La Nasa, et al. 2018. « Ancient Encaustic: An Experimental Exploration of Technology, Ageing Behaviour and Approaches to Analytical Investigation ». *Microchemical Journal* 138: 472-87. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.01.040>.
- Svečnjak, L., G. Baranović, M. Vincaković, S. Prđun, D. Bubalo, et I. Tlak Gajger. 2015. « An Approach for Routine Analytical Detection of Beeswax Adulteration Using FTIR-ATR Spectroscopy ». *Journal of Apicultural Science* 59 (2): 37-49.
- Taylor, J. H. 2001. *Death and the afterlife in ancient Egypt*. The university of Chicago press.
- Tchapla, A., J. Bleton, S. Goursaud, et P. Méjanelle. 1999. « Contribution à la connaissance des substances organiques utilisées en Egypte ancienne. » In *Encyclopédie religieuse de l'univers végétal Croyances phytoreligieuses de l'Egypte ancienne.*, S.H. Aufrère, Orientalia Monspeliensis X., 1:445-88. Université Paul Valéry - Montpellier III, Montpellier.
- Van de Velde, T., M. De Vrieze, P. Surmont, S. Bod, et P. Drechsler. 2015. « A Geochemical Study on the Bitumen from Dosariyah (Saudi-Arabia): Tracking Neolithic-Period Bitumen in the Persian Gulf ». *Journal of Archaeological Science* 57: 248-56.
- Vieillescizes, C., et S. Coen. 1993. « Caracterisation de Quelques Resines Utilisees En Egypte Ancienne ». *Studies in Conservation* 38 (4): 255-64.
- Welfringer, M. 2017. « La thériaque: analyse d'un contrepoison de l'Antiquité et héritage dans la pharmacie d'officine d'aujourd'hui. » Lorraine.

Yadav, M.P., J. Manuel Igartuburu, Y. Yan, et E.A. Nothnagel. 2007. « Chemical Investigation of the Structural Basis of the Emulsifying Activity of Gum Arabic ». *Food Hydrocolloids* 21 (2): 297-308.

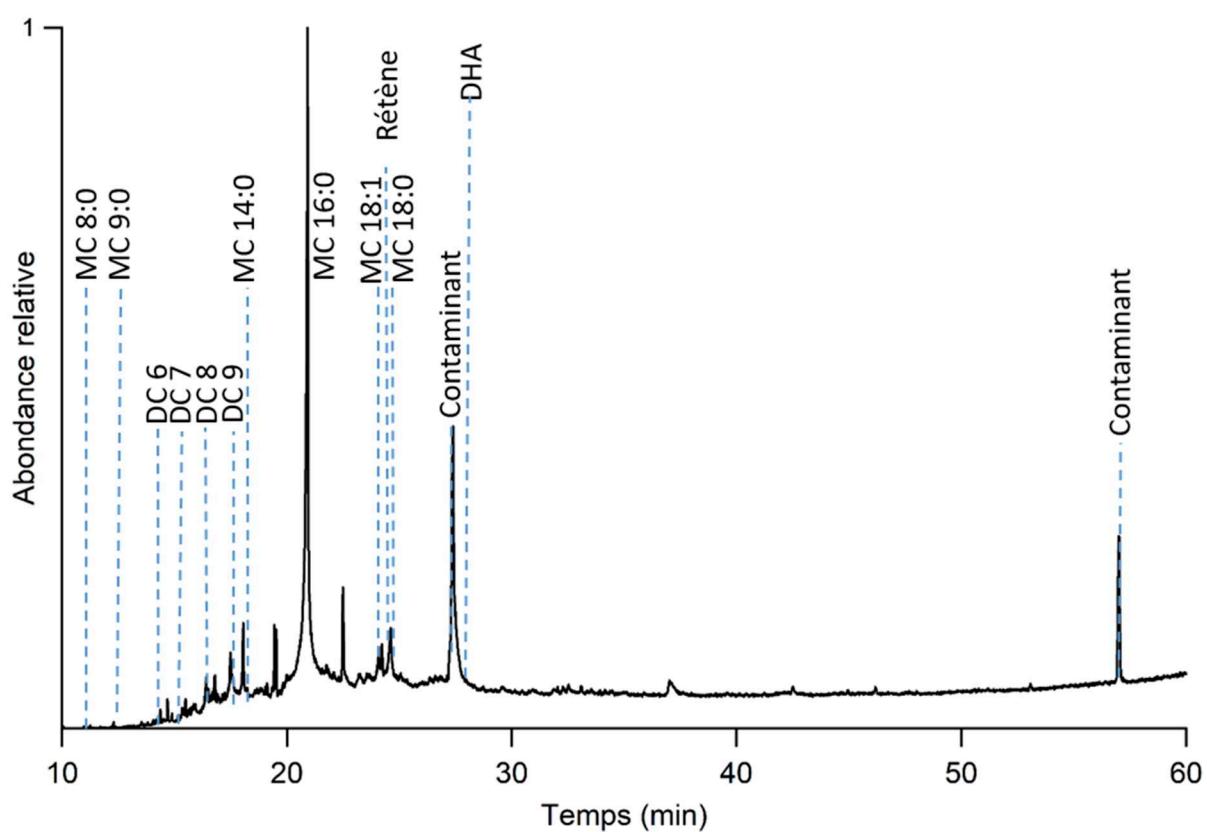
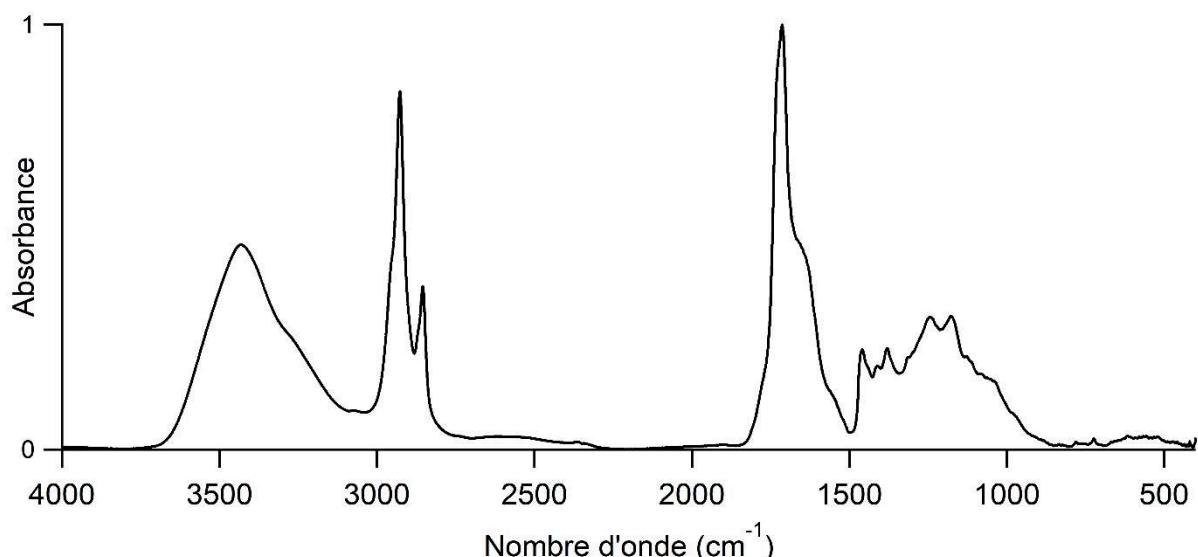
Annexes

Ces annexes vont présenter par individu l'ensemble des prélèvements effectués ainsi que leurs spectres infrarouges (pastilles de KBr) et leurs chromatogrammes TIC (extraction classique au DCM) associés.

Momie 30000104

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non identifiée
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

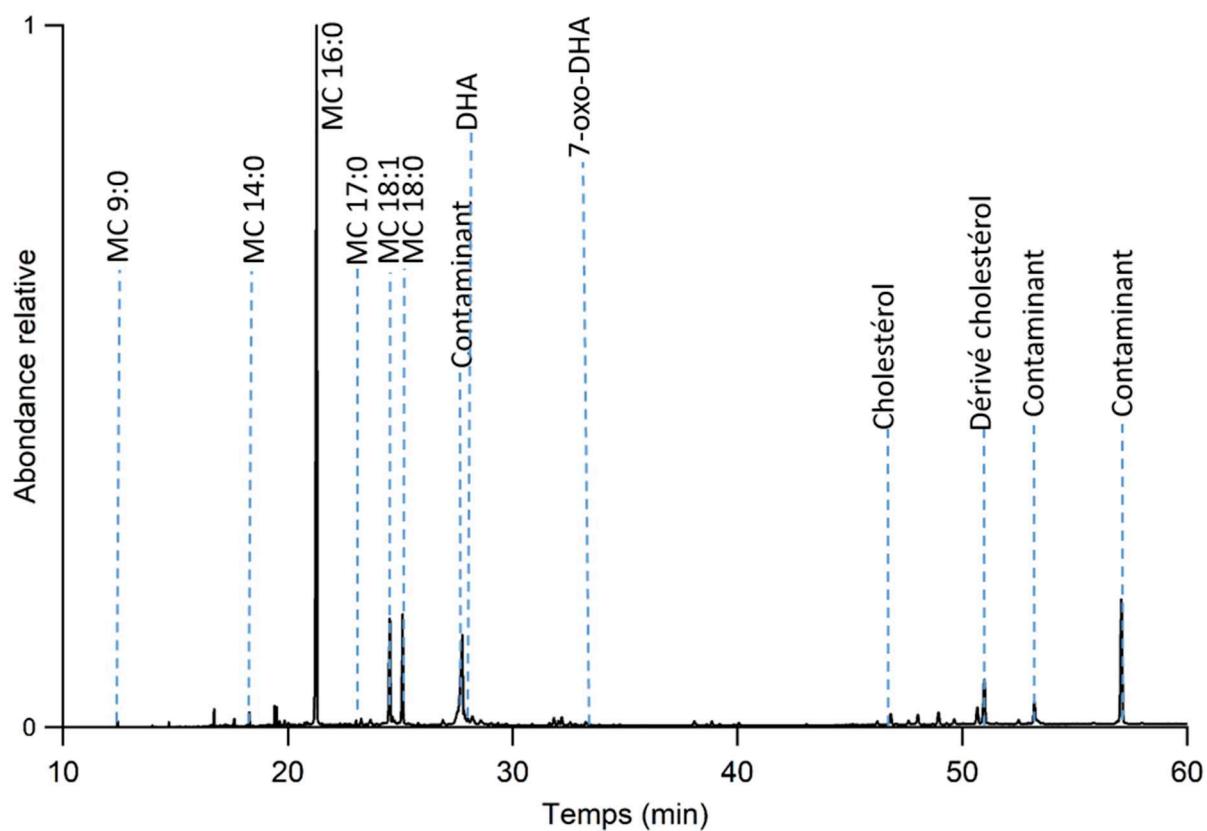
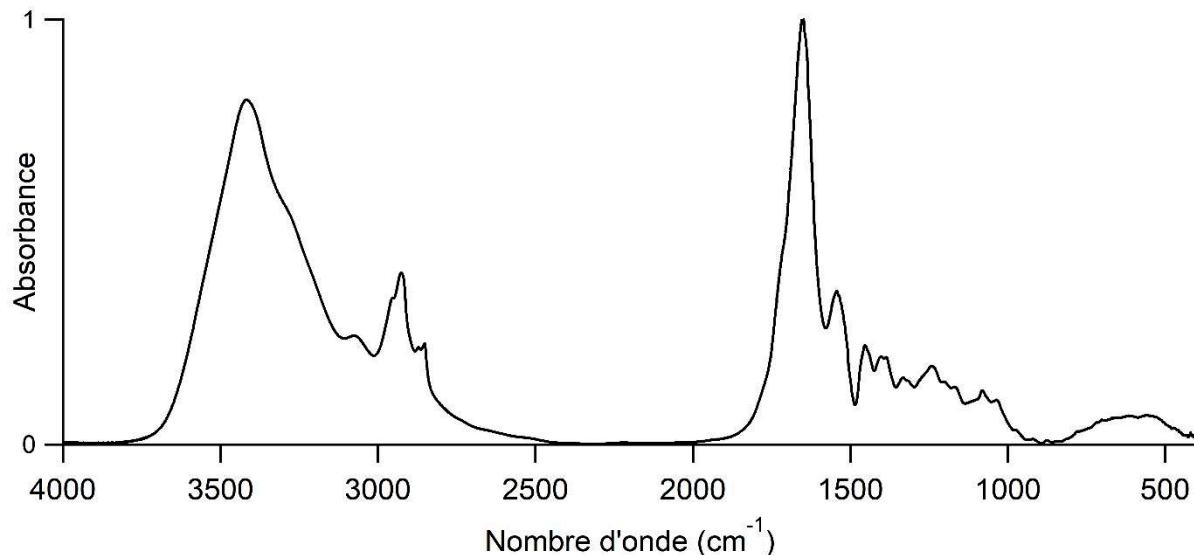
Prélèvement n°29 : Extérieur côté gauche



Momie 30000107

Sexe	Féminin
Age	Agée
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseignée

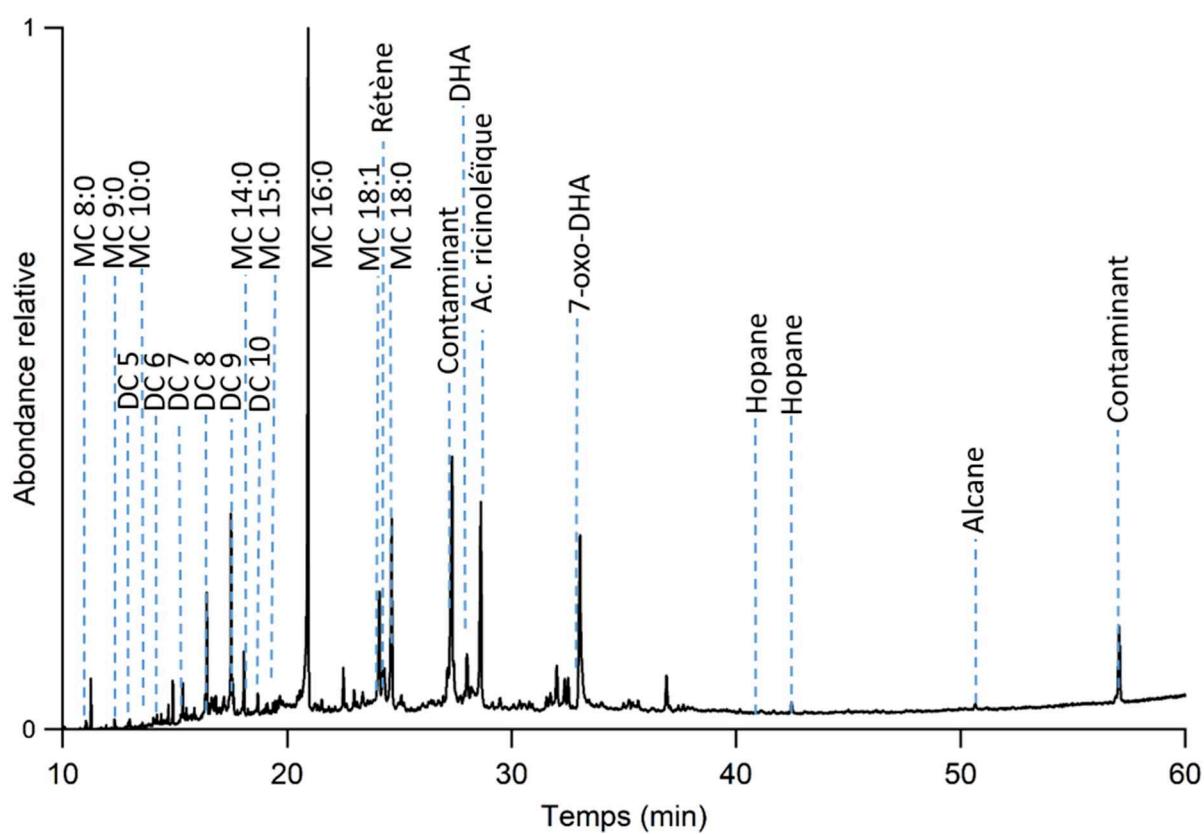
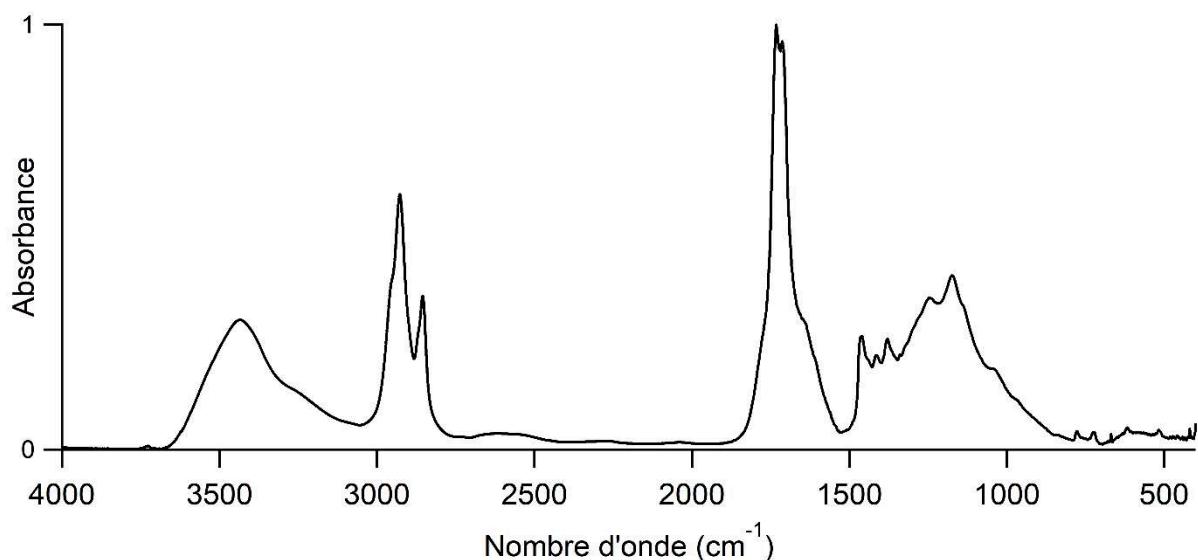
Prélèvement n°28 et 68 (idem) : Côté gauche sur le haut du crâne



Momie 30000110

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Thèbes-Gournah
Période historique	Époque Romaine

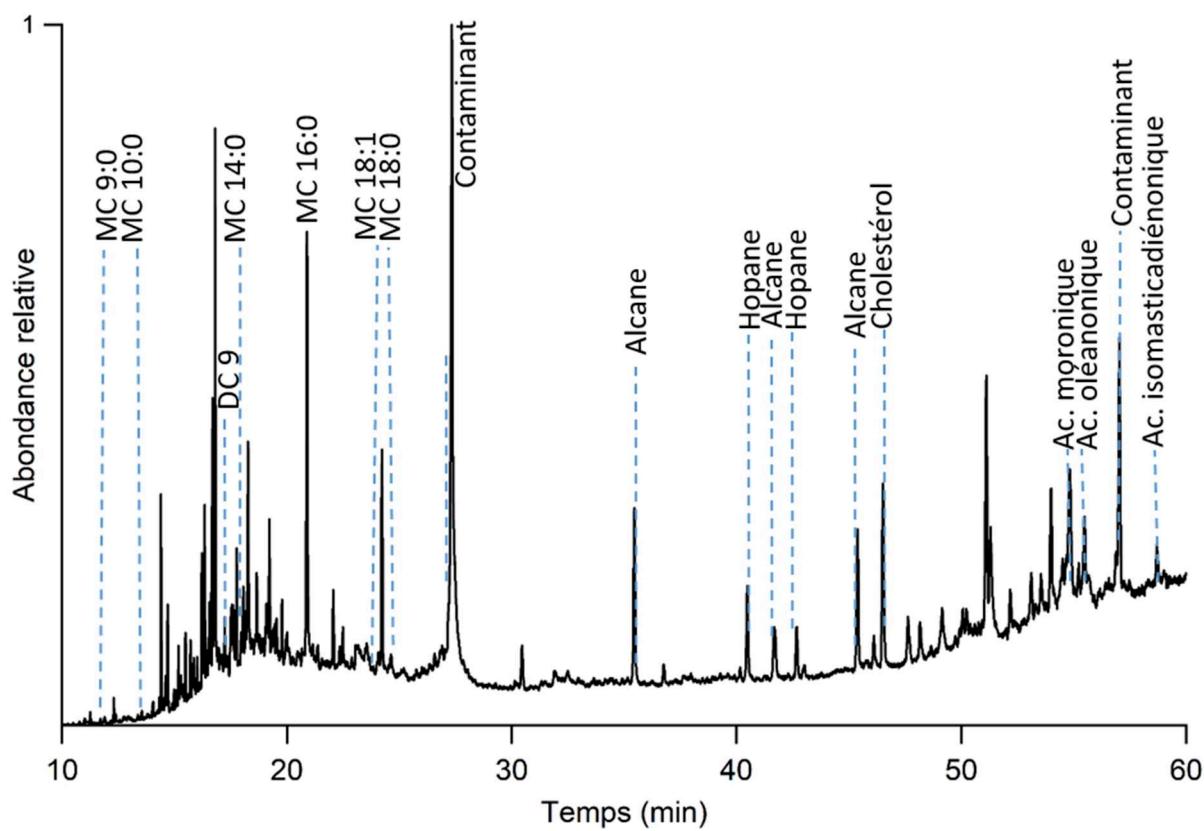
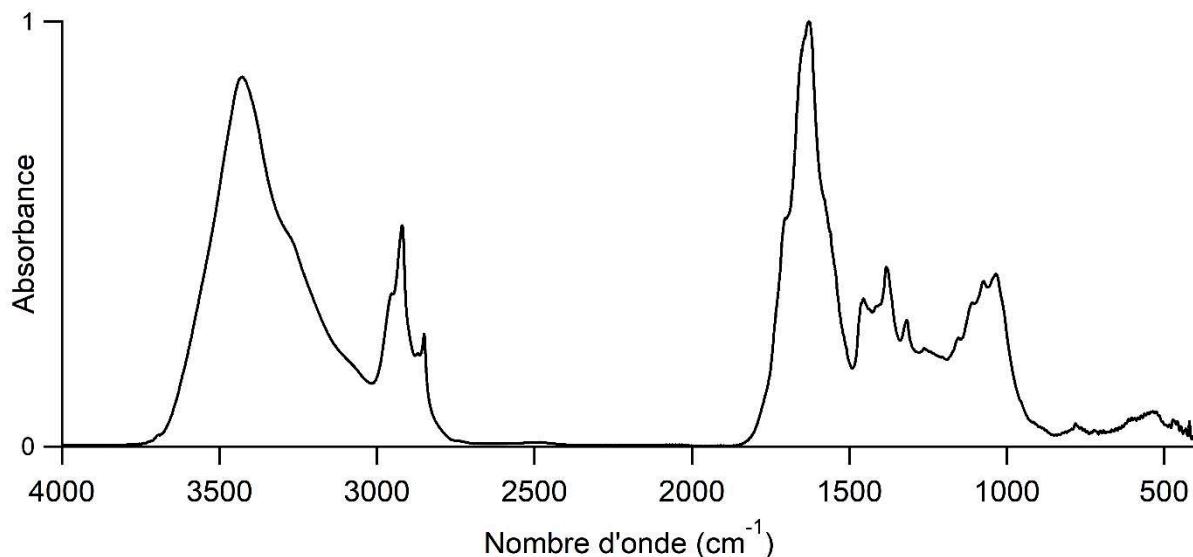
Prélèvement n°14 : Derrière l'oreille droite



Momie 30000111

Sexe	Masculin
Age	Agé
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Époque Gréco-Romaine

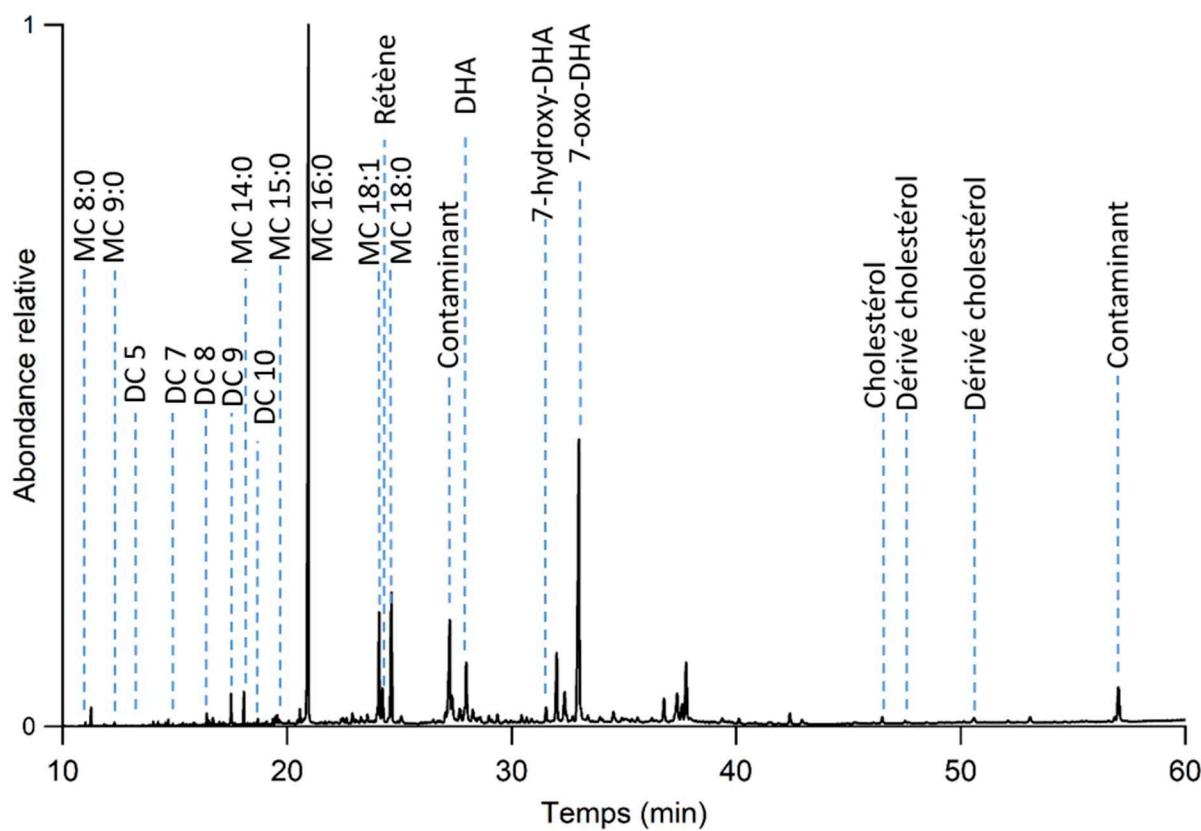
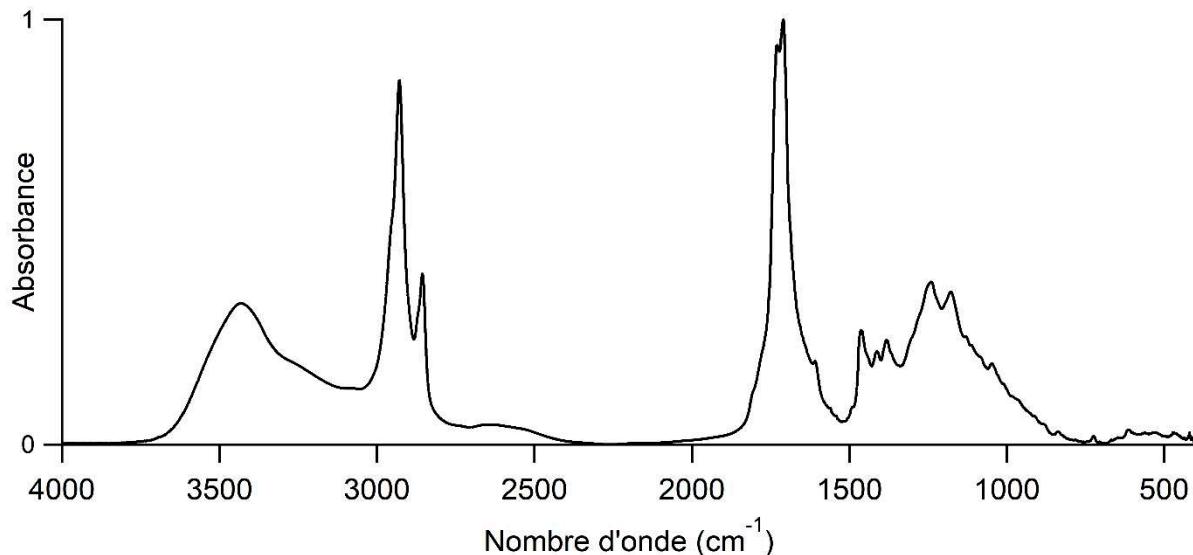
Prélèvement n°34 : Intracrânien



Momie 30000114

Sexe	Féminin
Age	Agée
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Époque Ptolémaïque à Époque Romaine

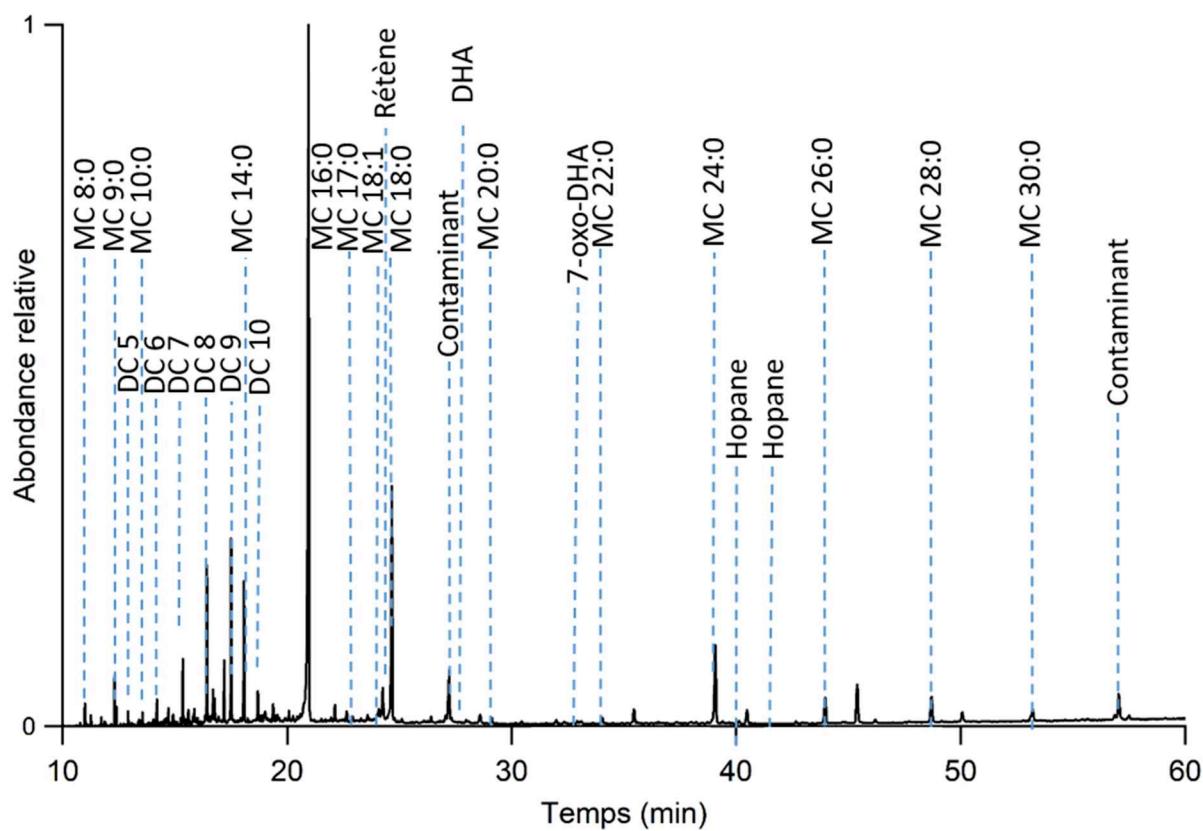
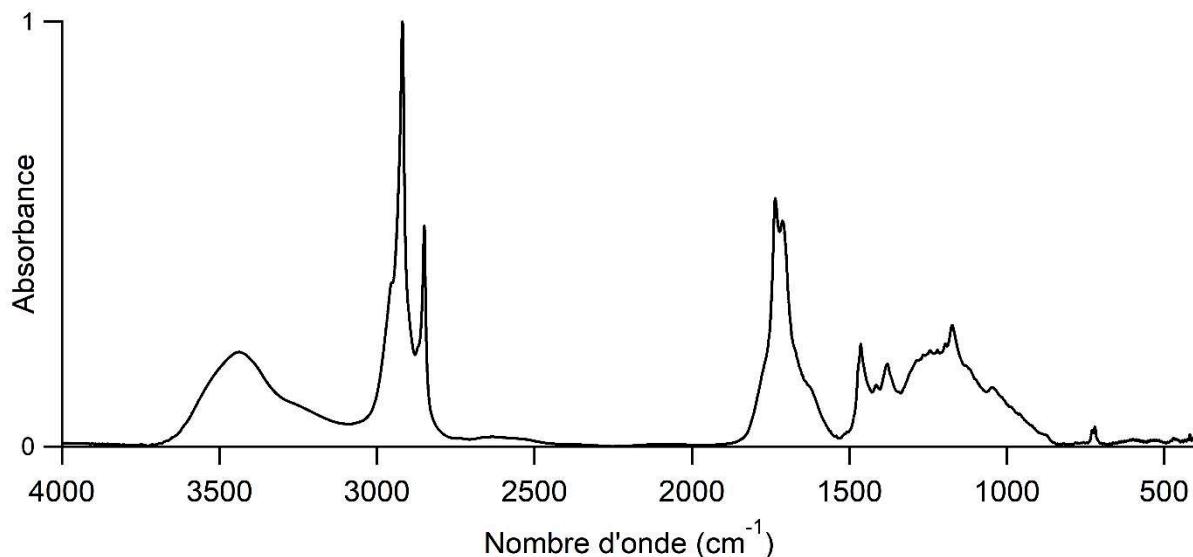
Prélèvement n°1 : Externe de la tempe du côté droit



Momie 30000125

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	XXX dynastie à Époque Ptolémaïque

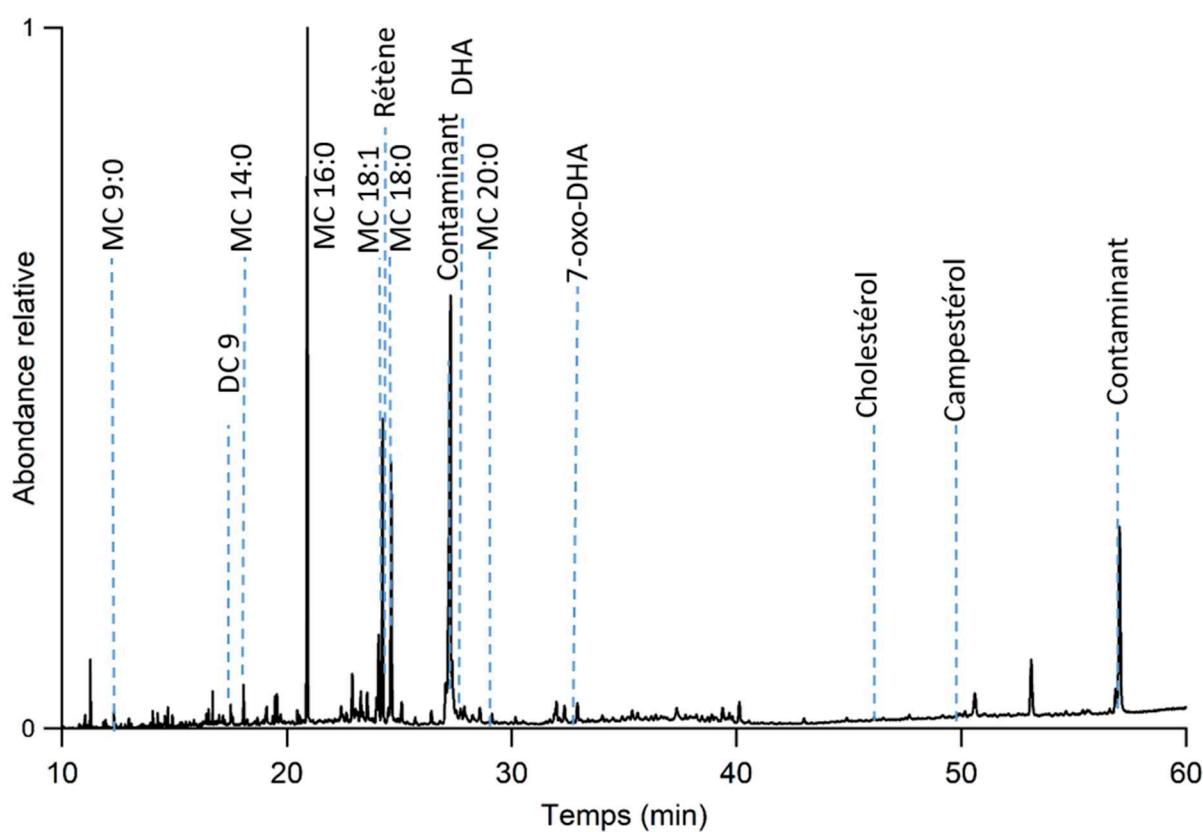
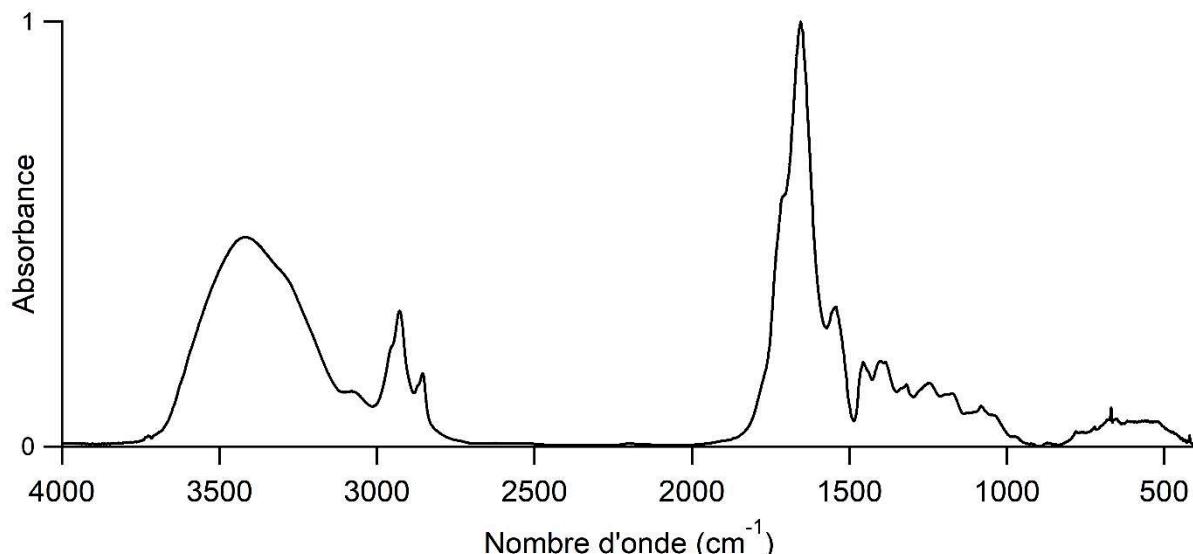
Prélèvement n°5 : Derrière l'oreille gauche



Momie 30000144

Sexe	Masculin
Age	Mature à âgé
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Époque Ptolémaïque à Époque Romaine

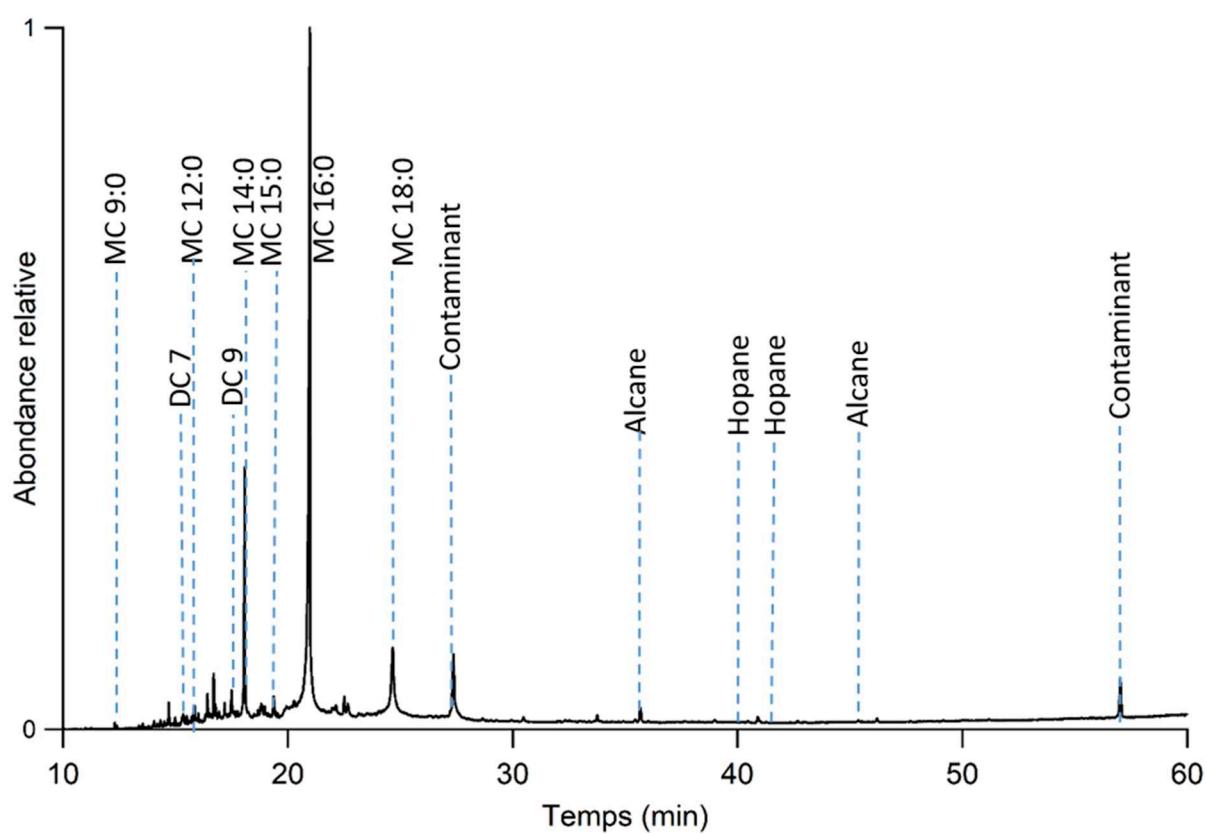
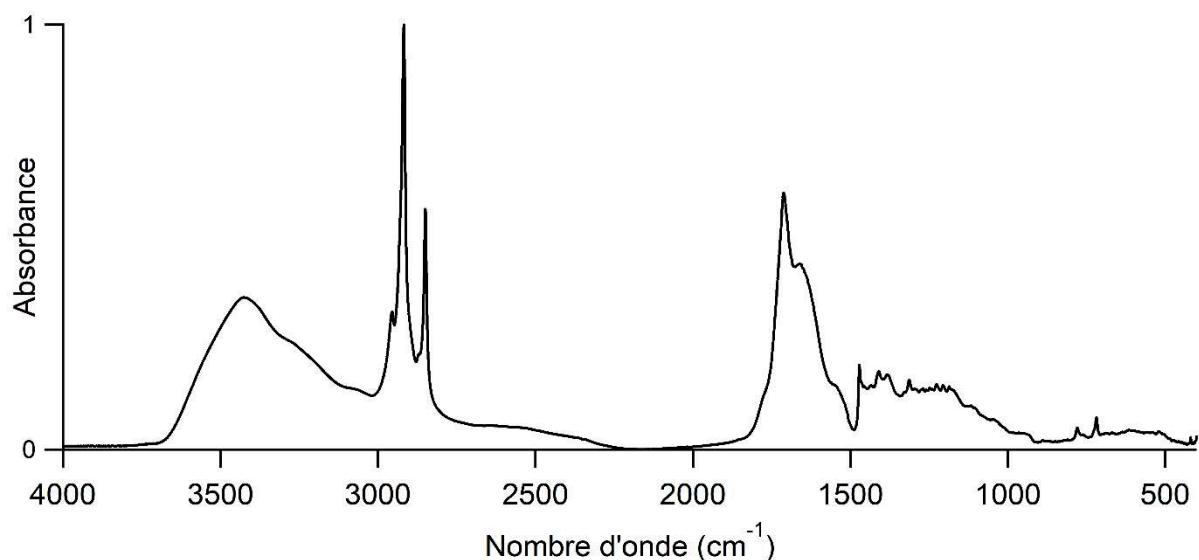
Prélèvement n°6 : Externe sur la tempe du côté gauche



Momie 30000146

Sexe	Féminin ?
Age	Adulte
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Non renseignée

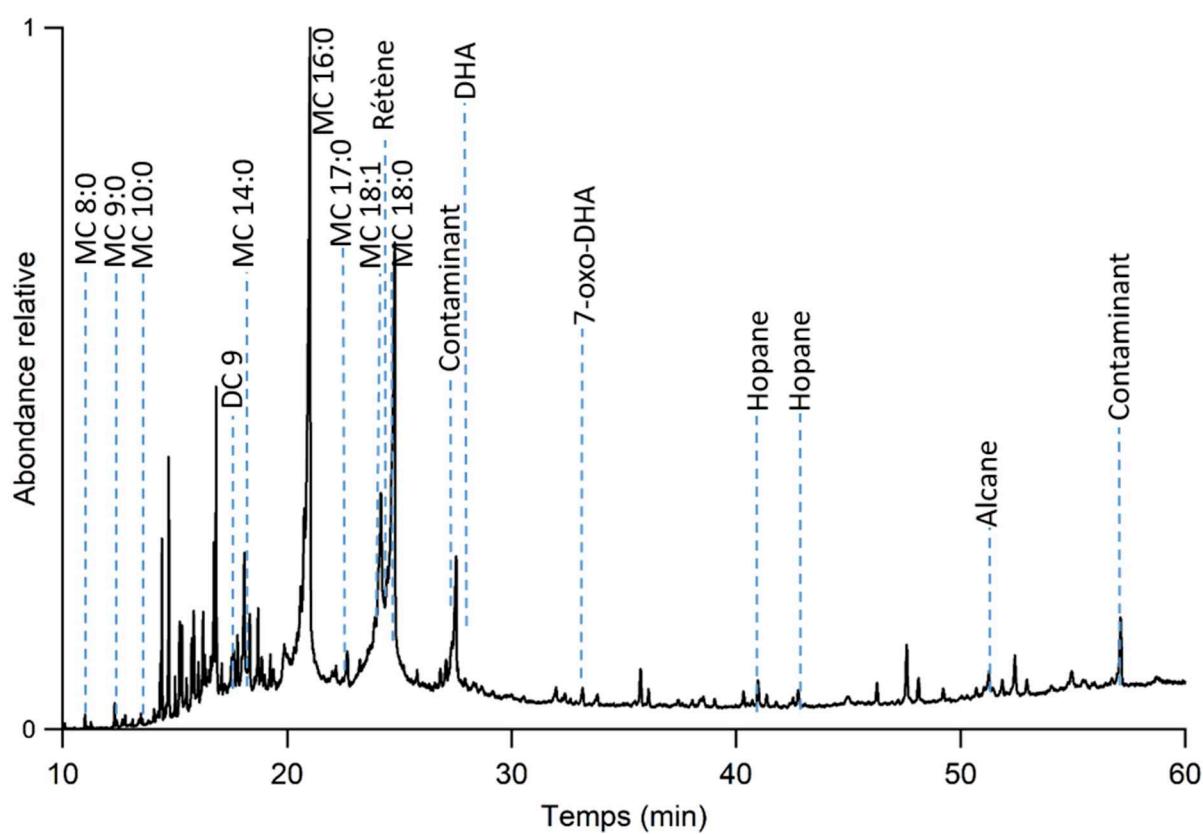
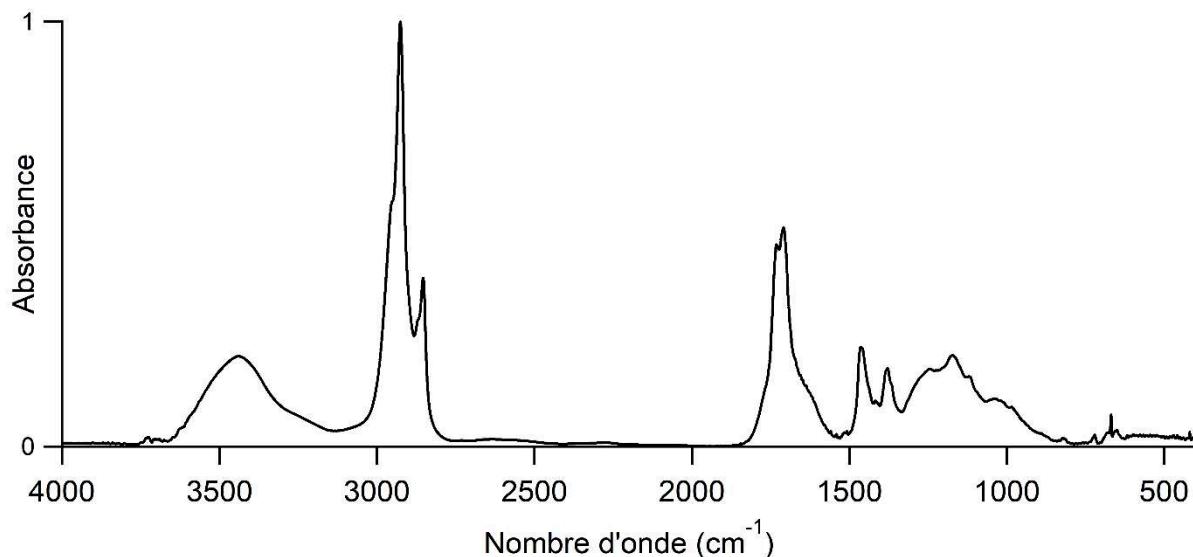
Prélèvement n°35 : Intracrânien



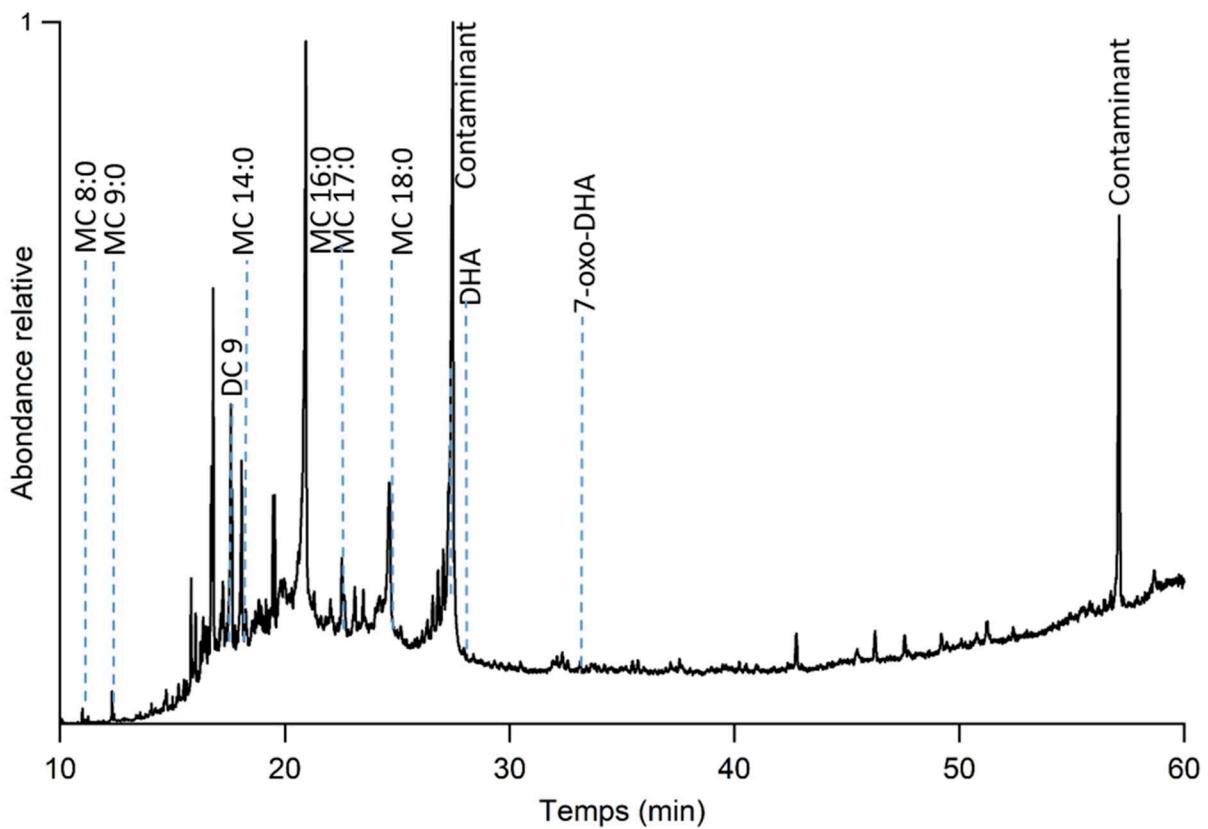
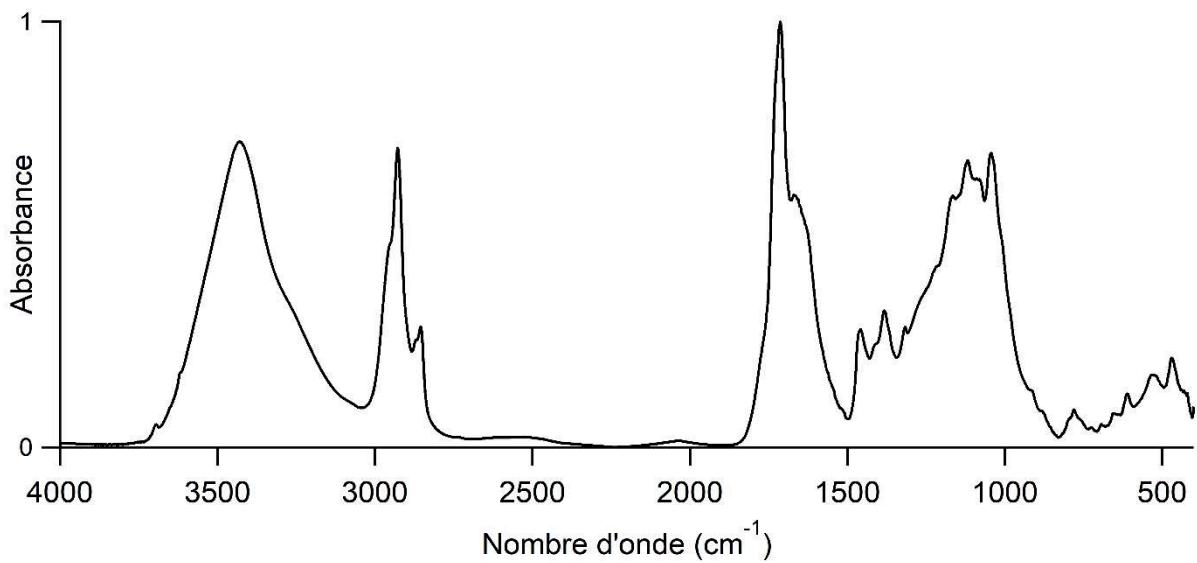
Momie 30000133

Sexe	Masculin
Age	Adulte mature
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

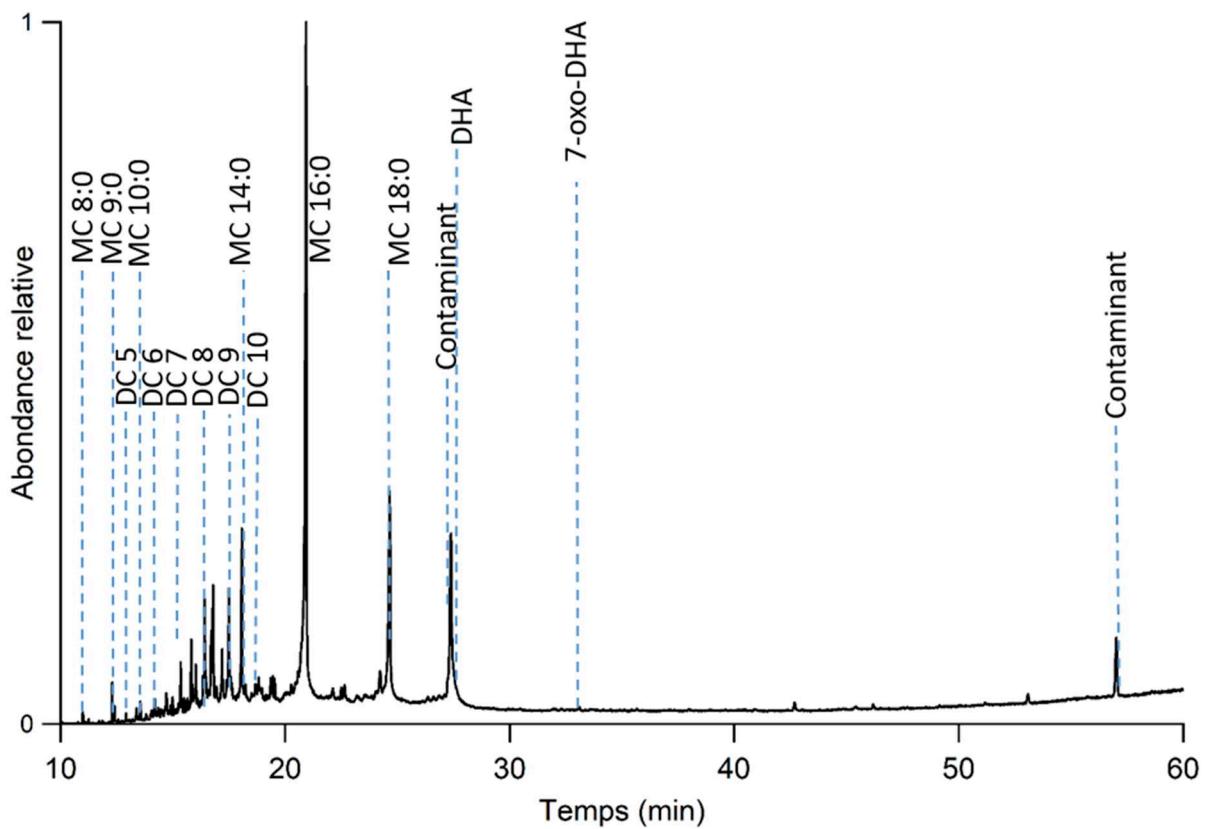
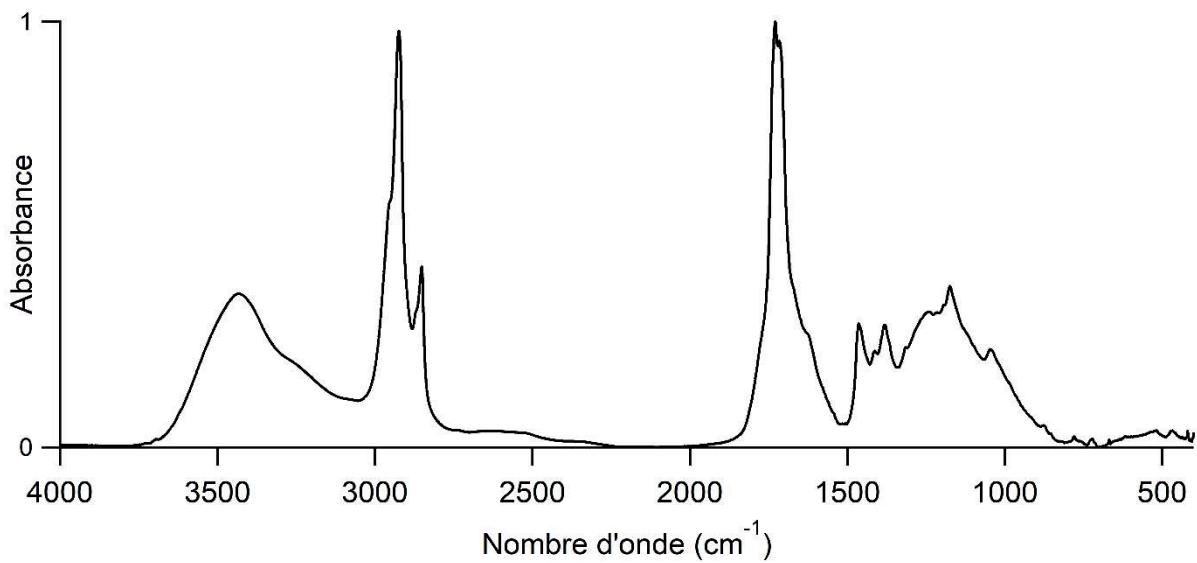
Prélèvement n°22 : Masse à la base du crâne



Prélèvement n°23 : Intrabuccale, baume ancien



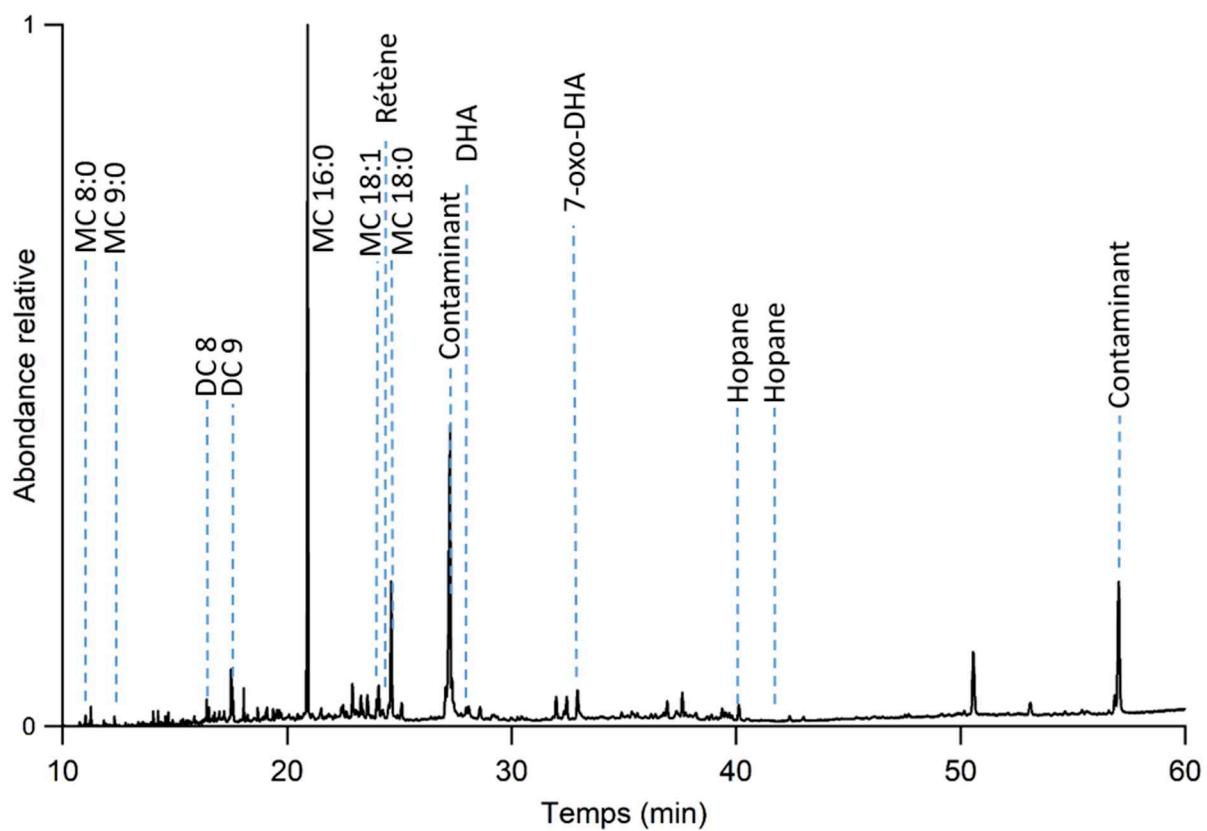
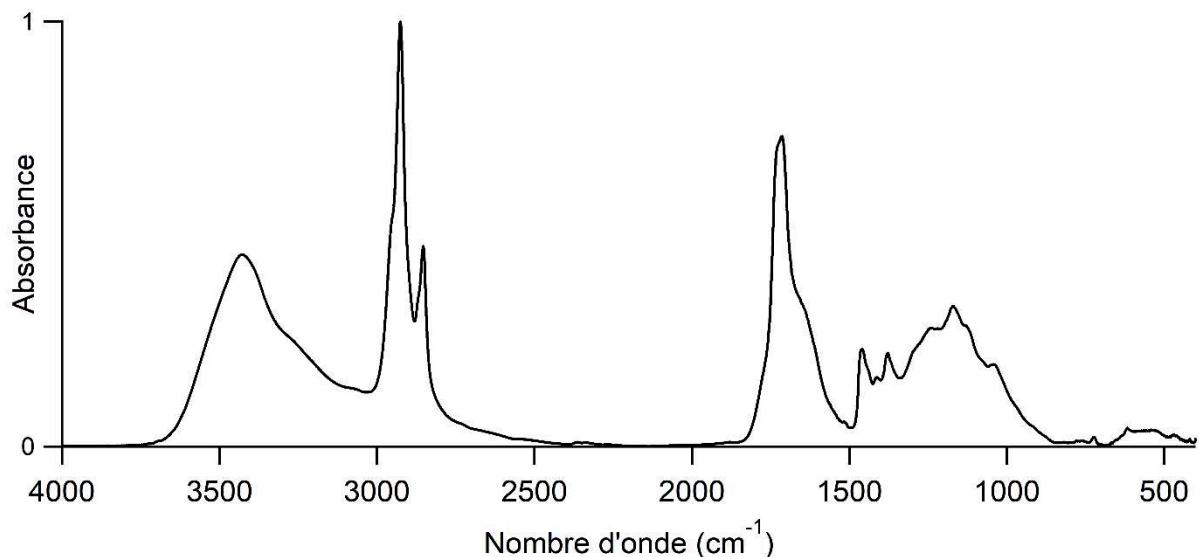
Prélèvement n°24 : Morceau détaché de baume



Momie 30000134

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

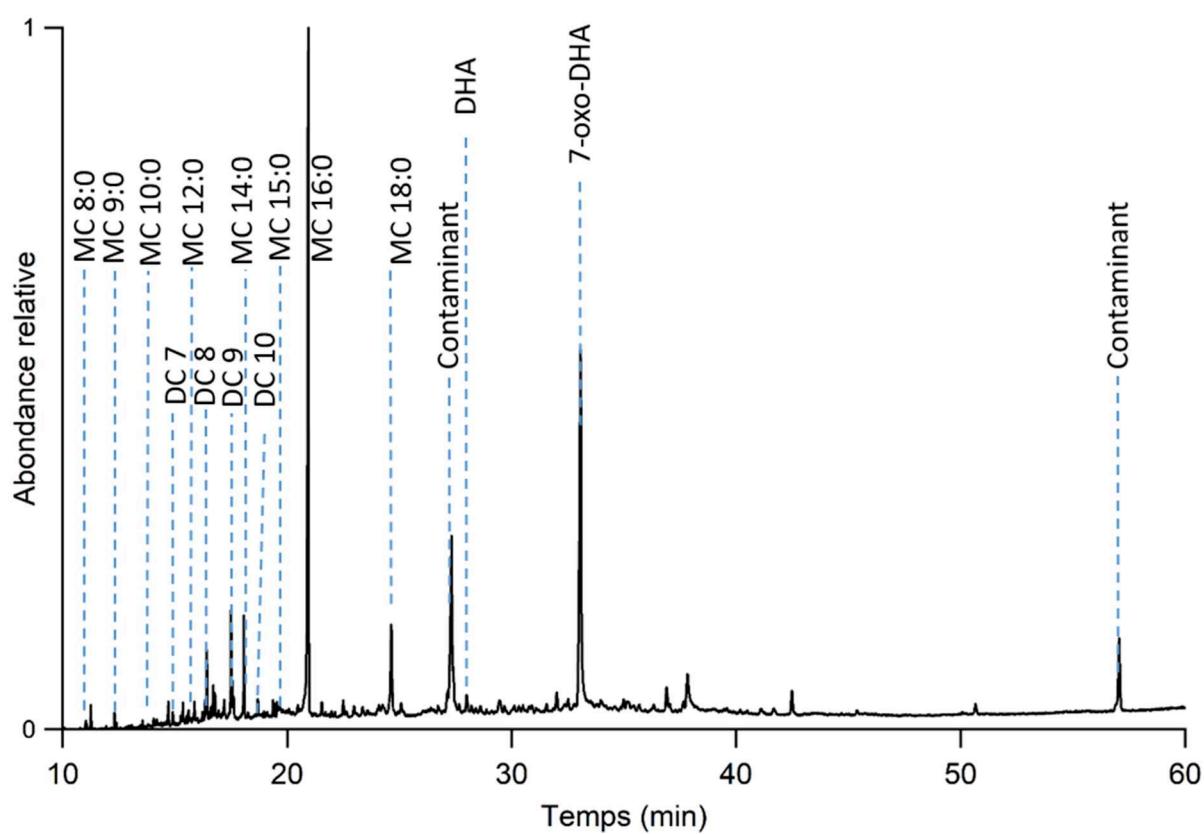
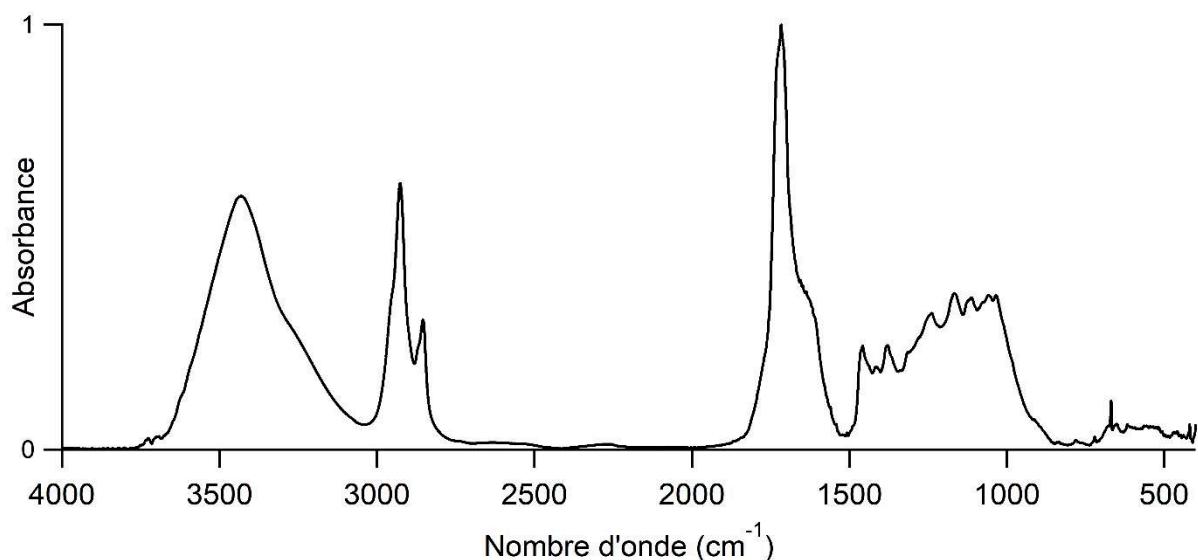
Prélèvement n°4 : Externe à l'arrière du crâne en bas à gauche



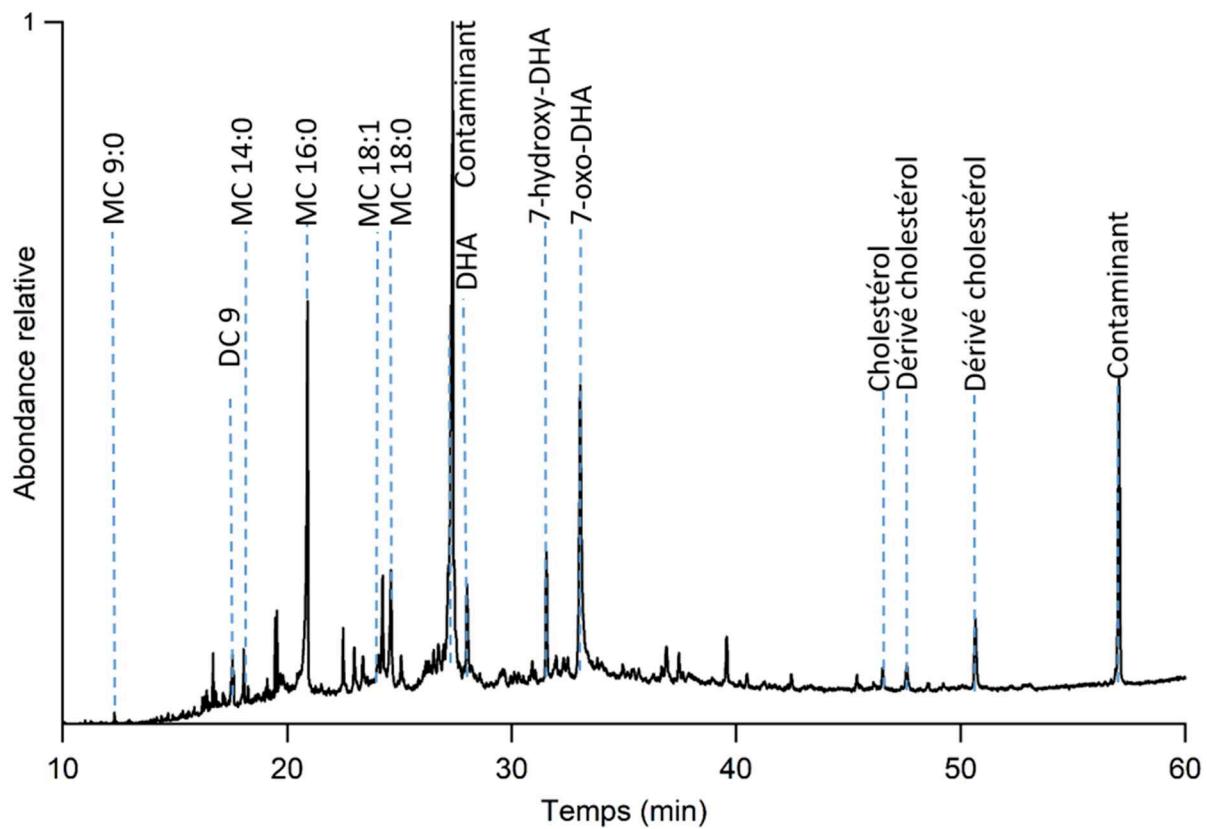
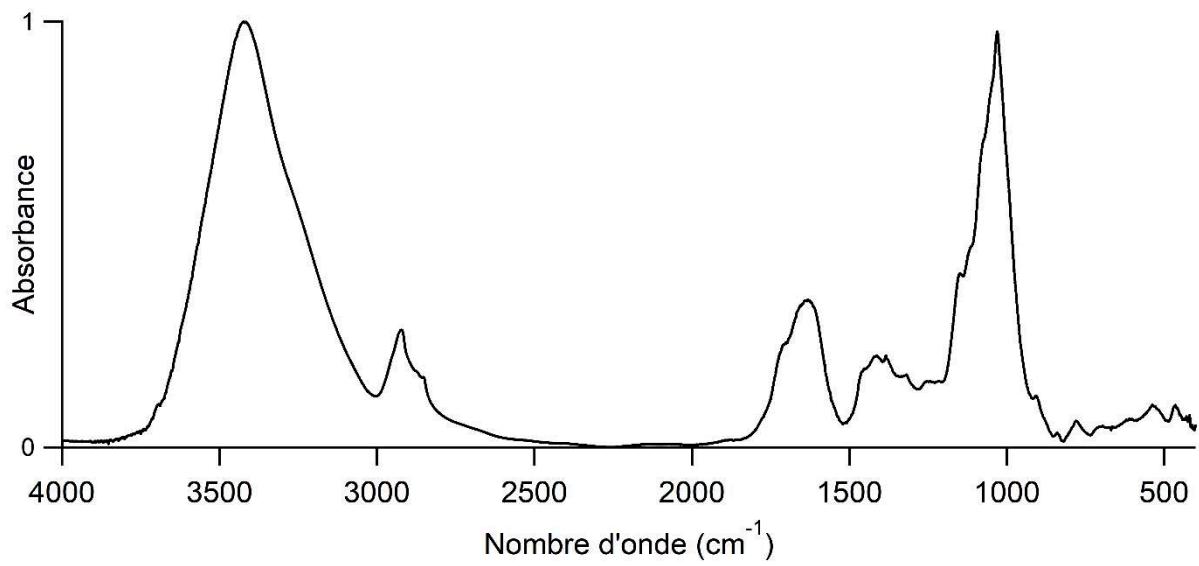
Momie 30000139

Sexe	Féminin
Age	Adulte jeune
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Époque Ptolémaïque à Époque Romaine

Prélèvement n°15 : Narine droite



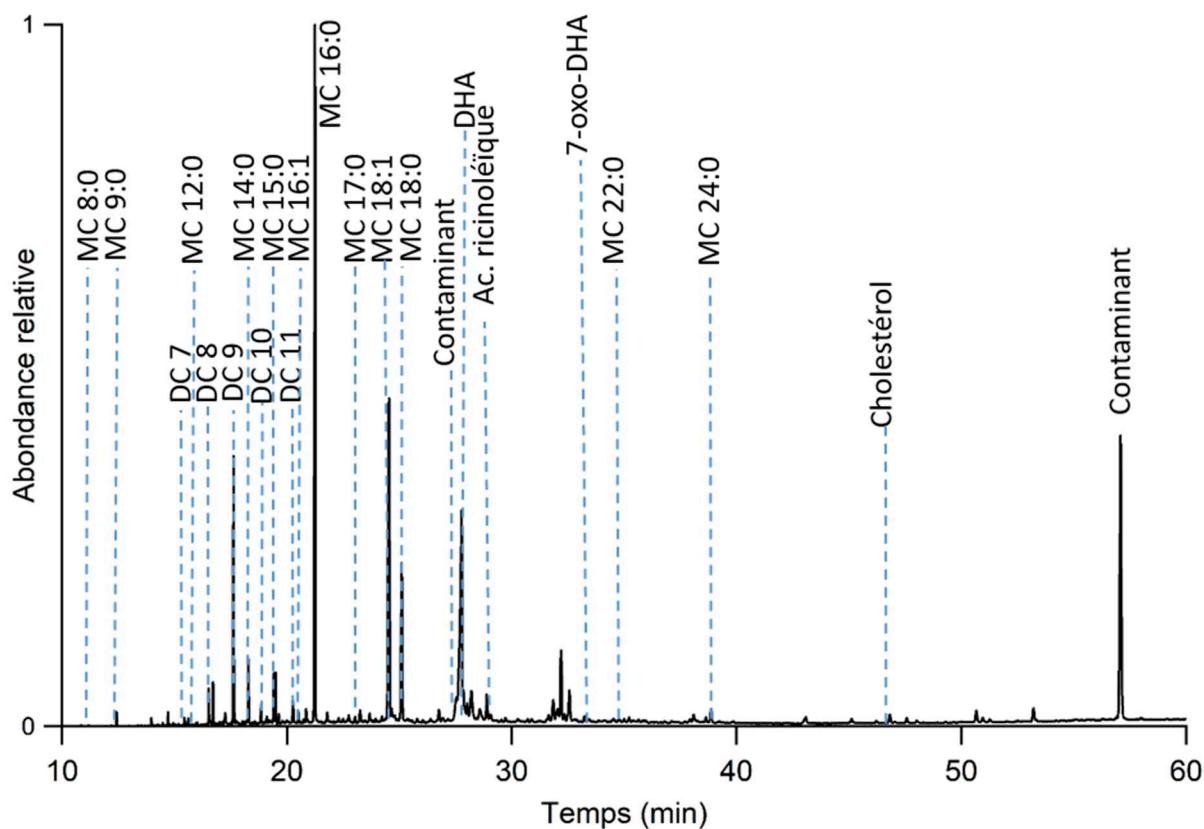
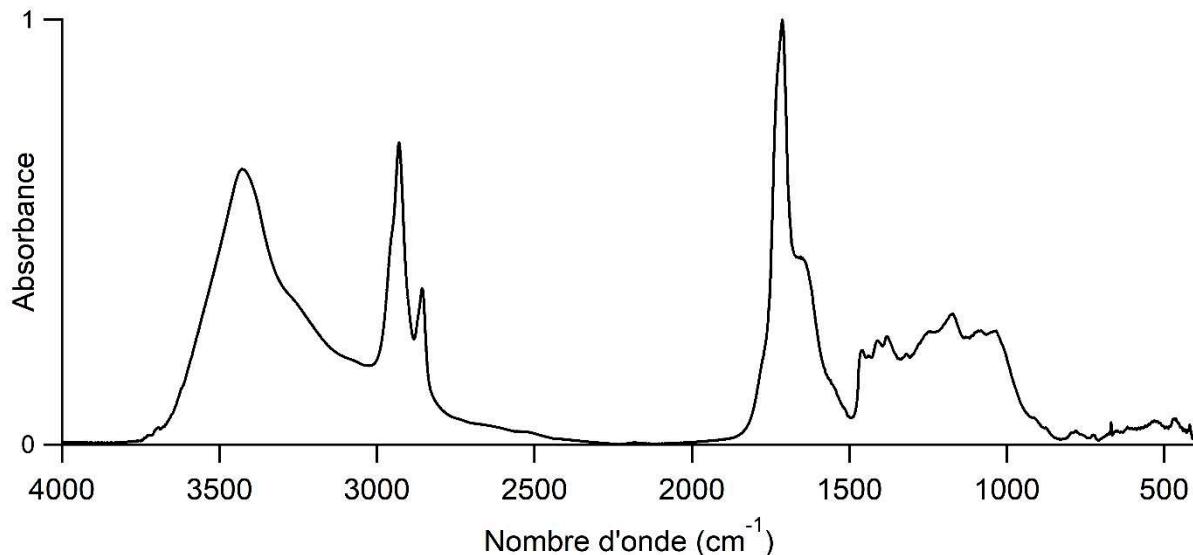
Prélèvement n°16 : Intrabuccale sur le voile du palais



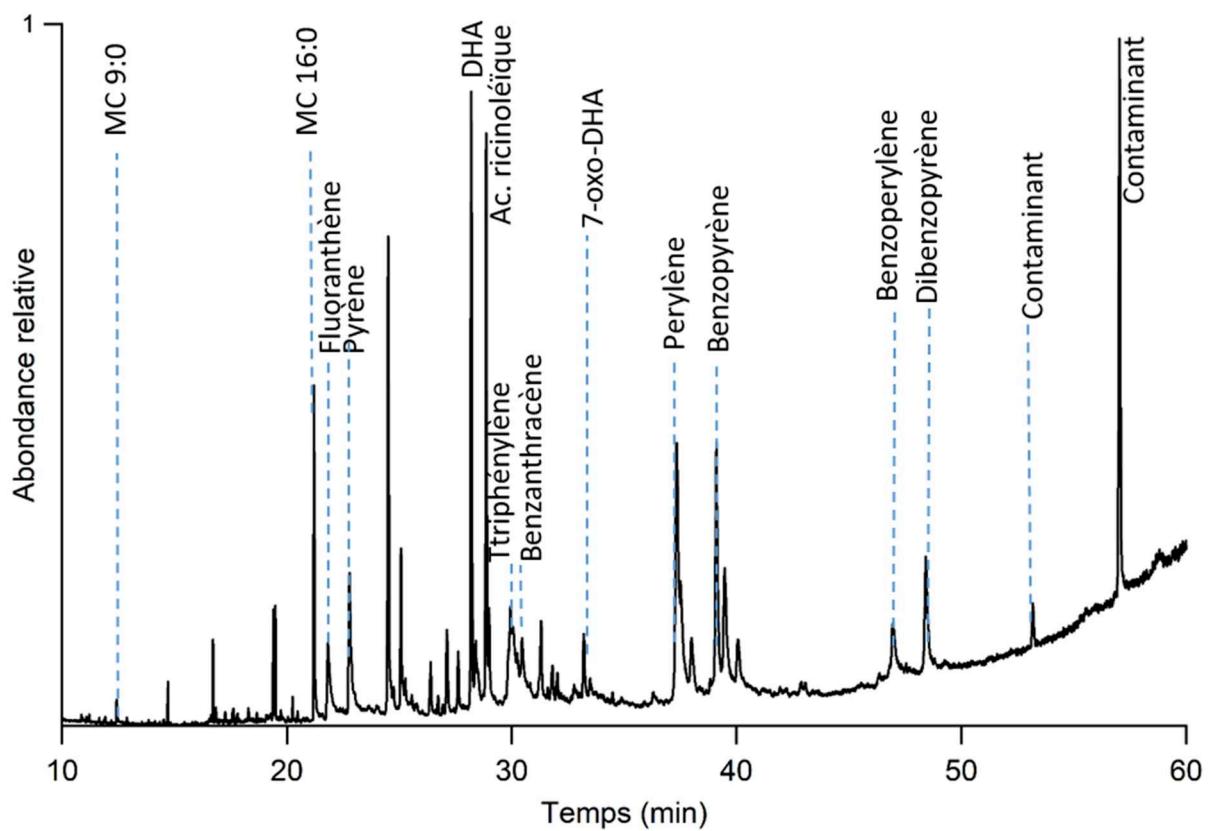
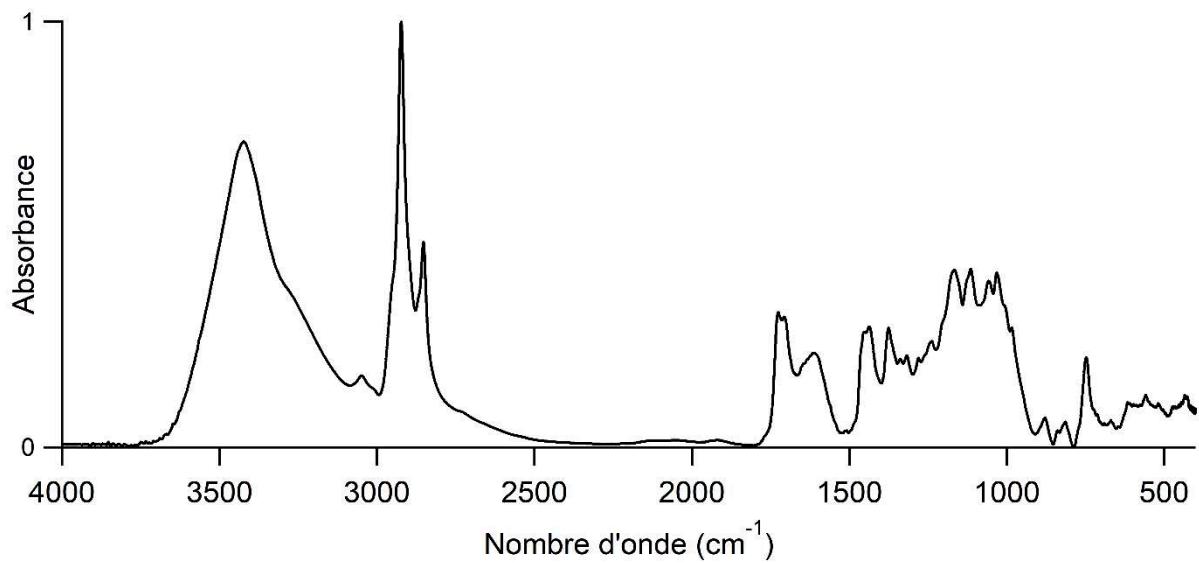
Momie 30000142

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

Prélèvement n°7 et 62 (idem) : Arrière de la tête du côté droit



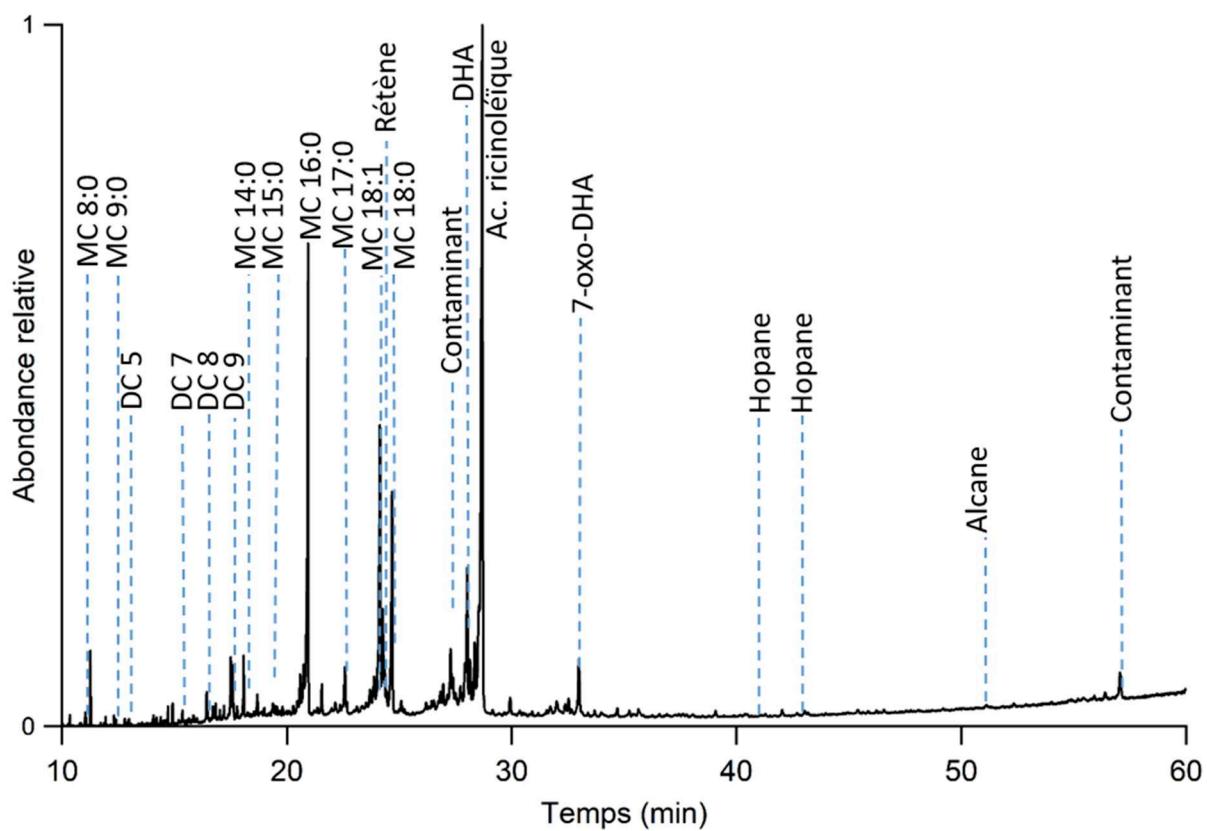
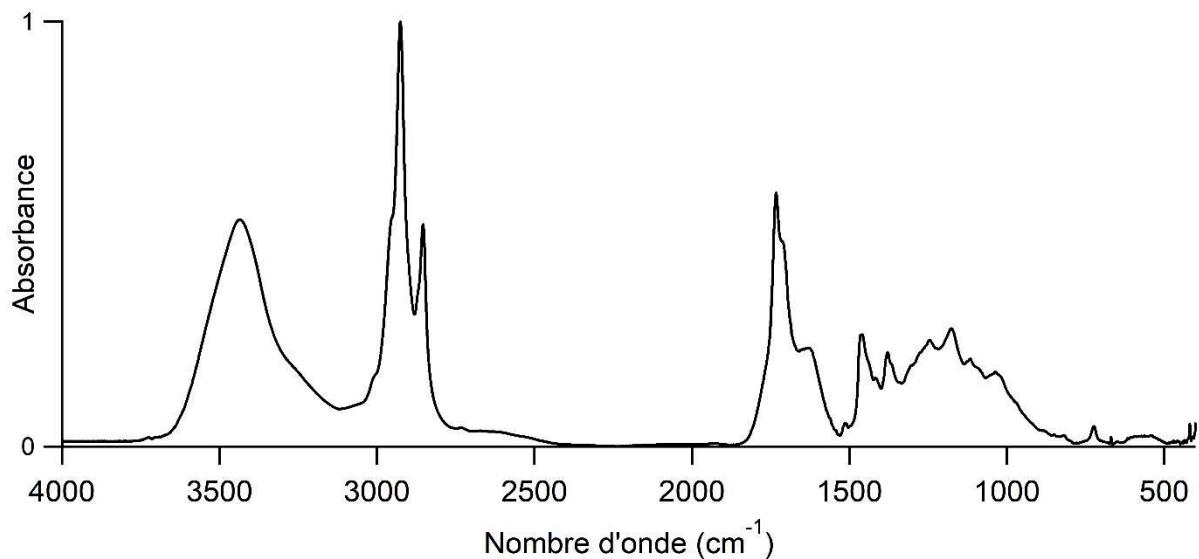
Prélèvement n°63 : Foramen magnum en interne



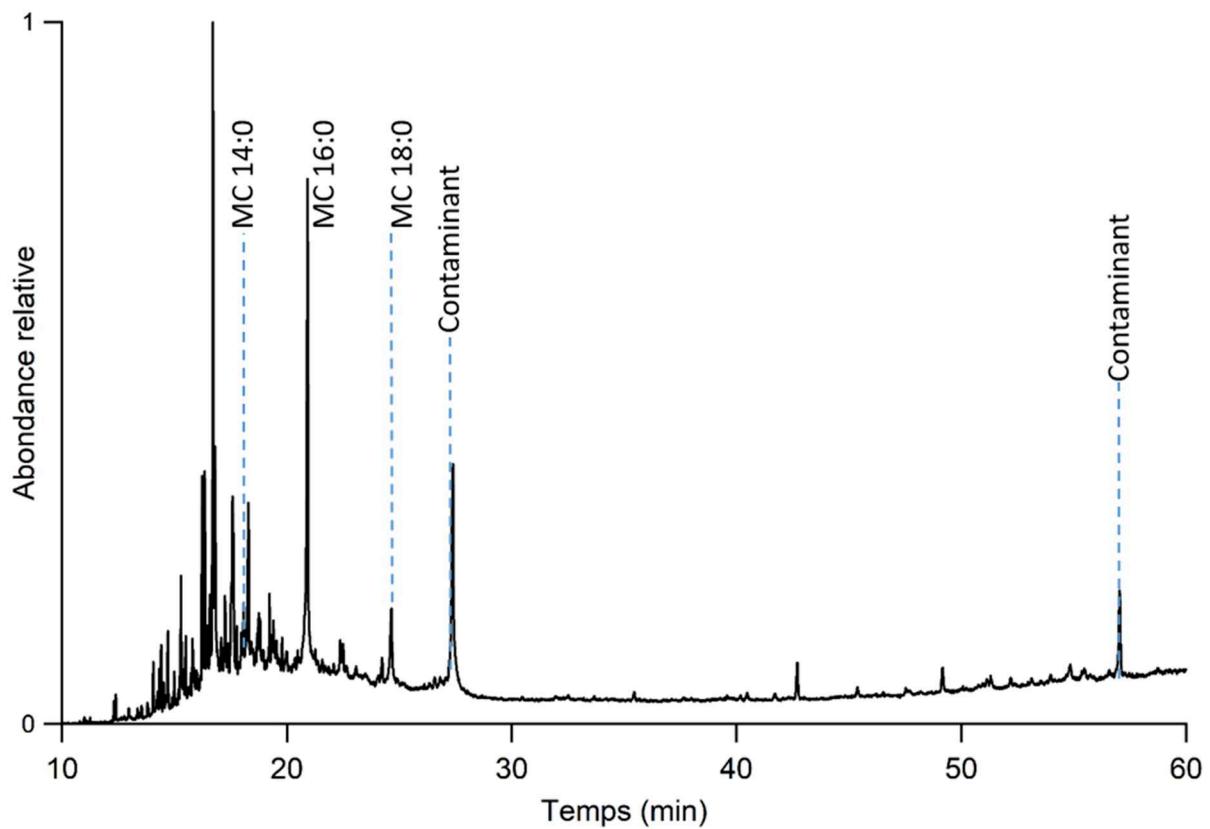
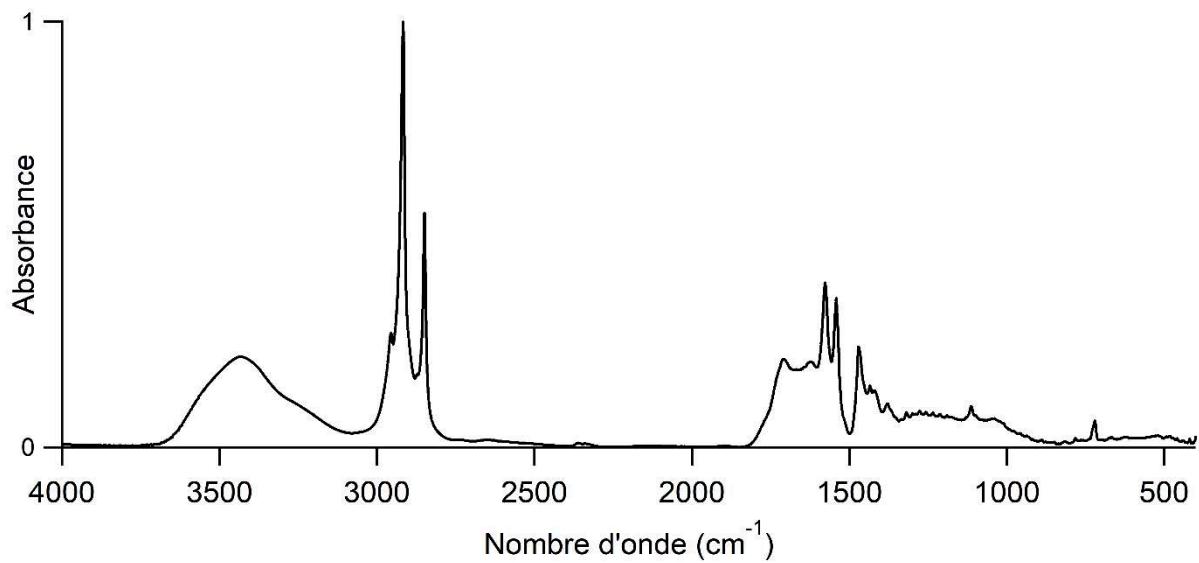
Momie 30000143

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

Prélèvement n°12 : Bouchon au niveau de la face, externe



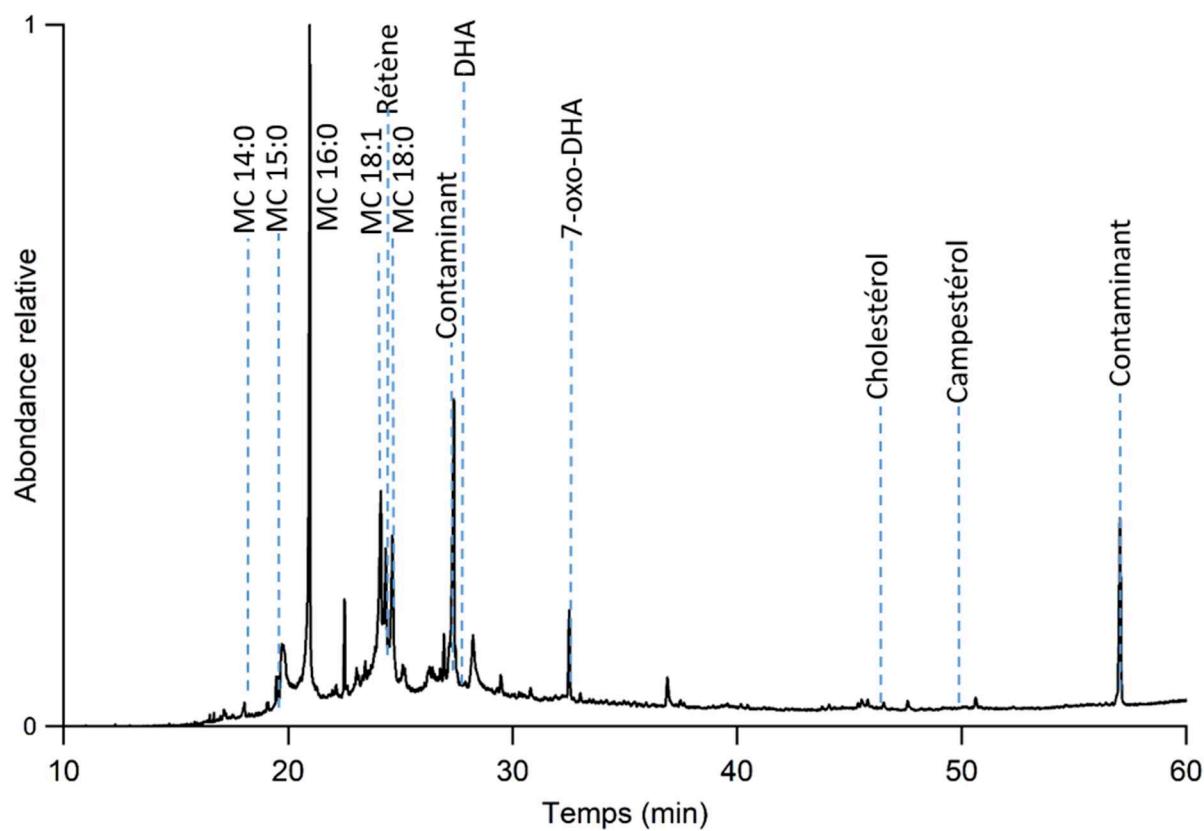
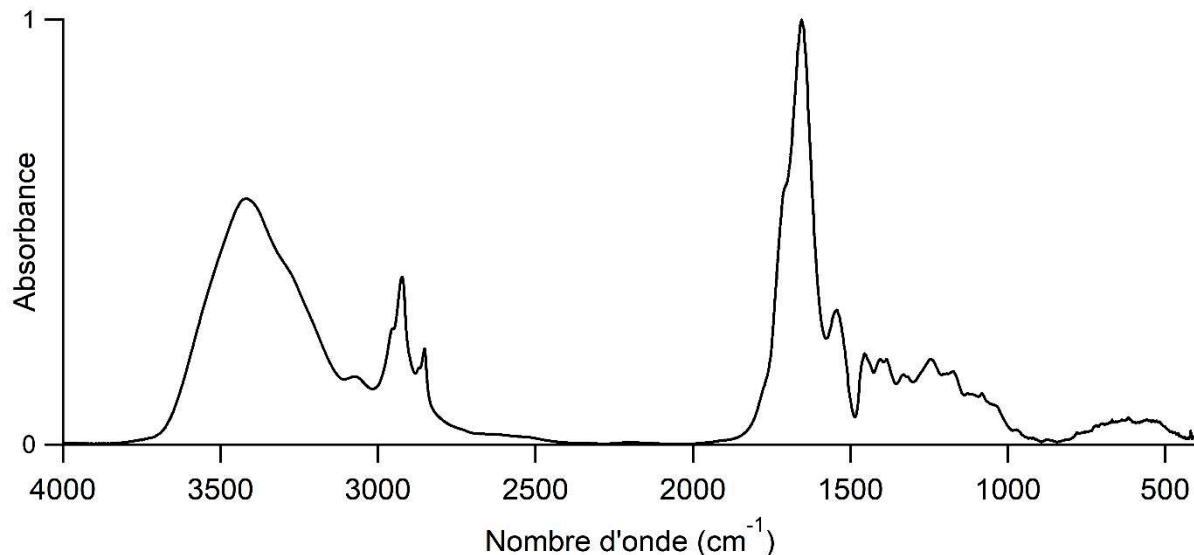
Prélèvement n°37 : Interne du canal rachidien, cervical



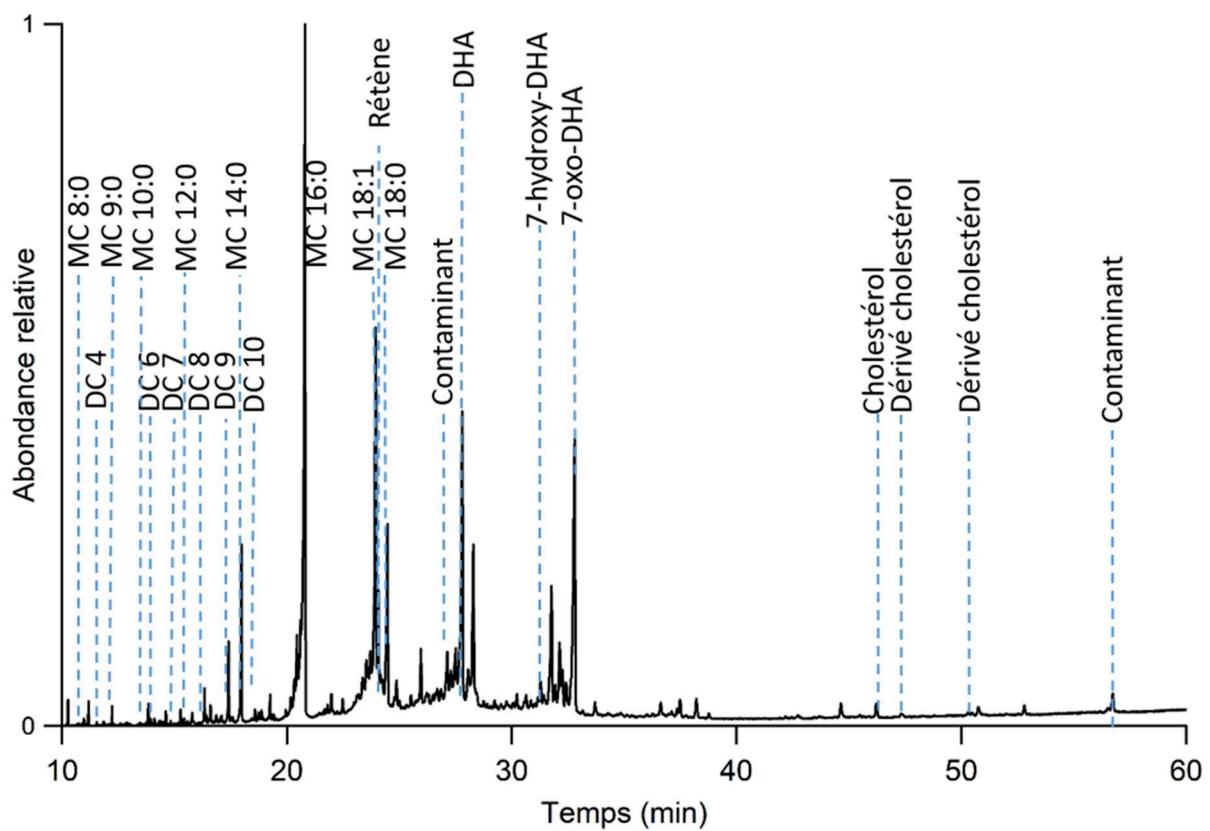
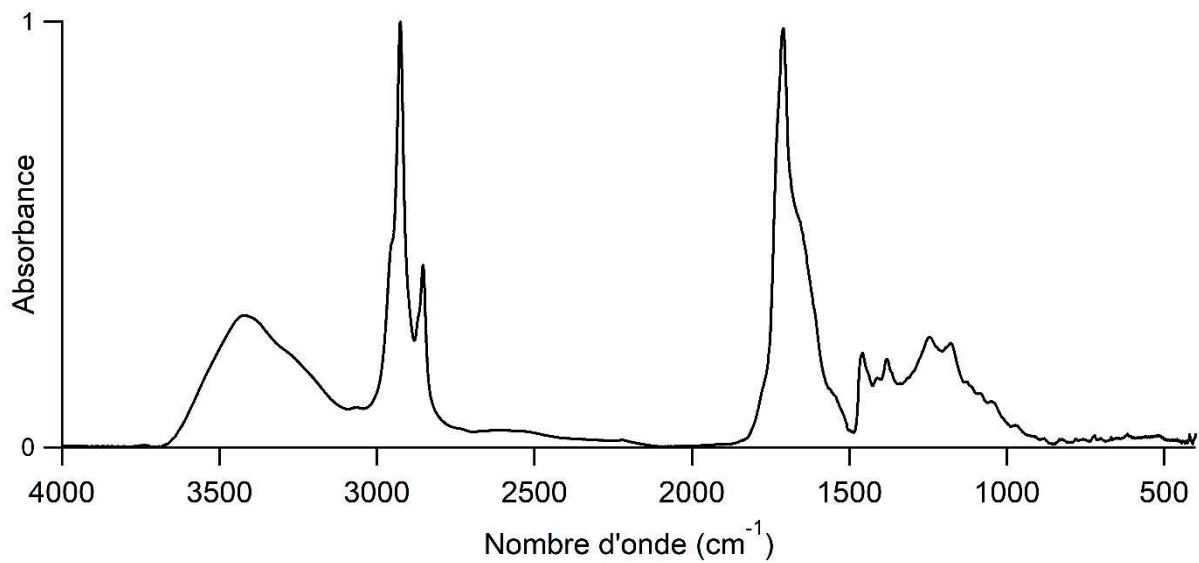
Momie 30000148

Sexe	Masculin
Age	Agé
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Non renseignée

Prélèvement n°17 : Cou partie supérieure



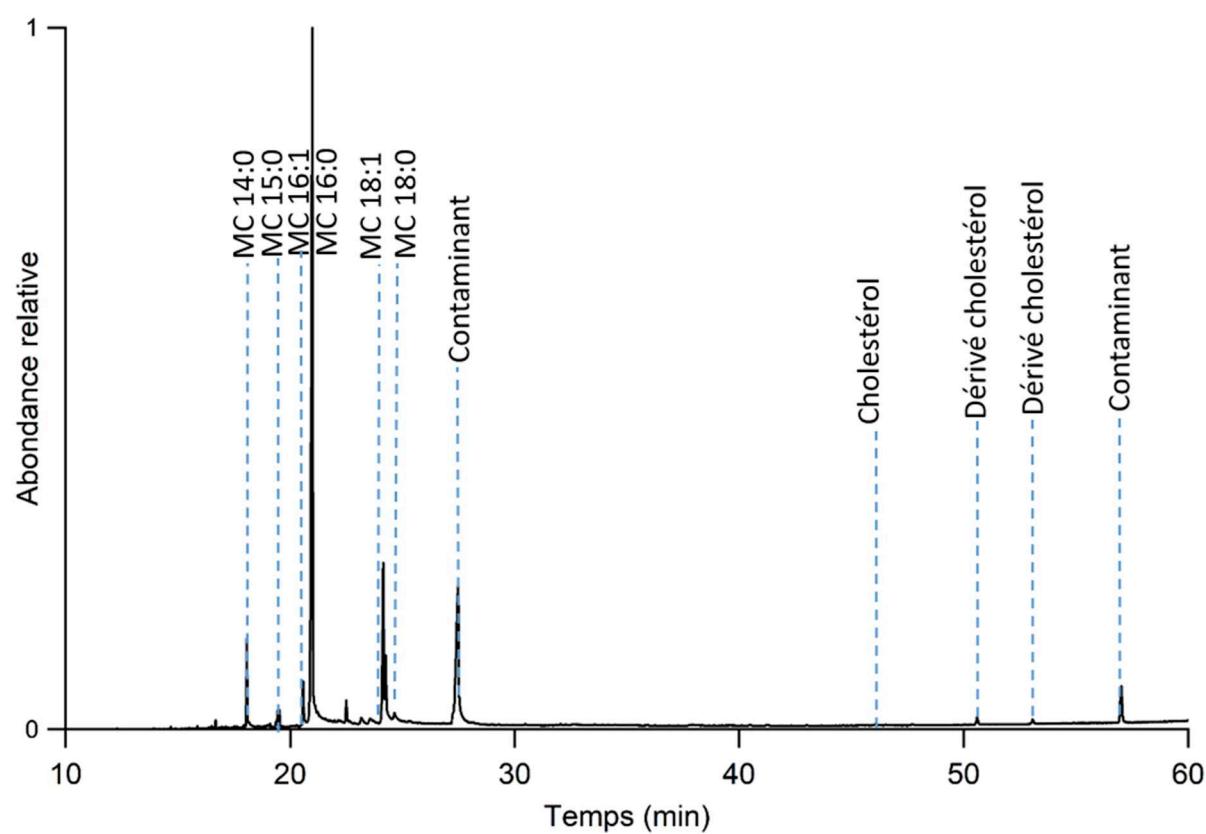
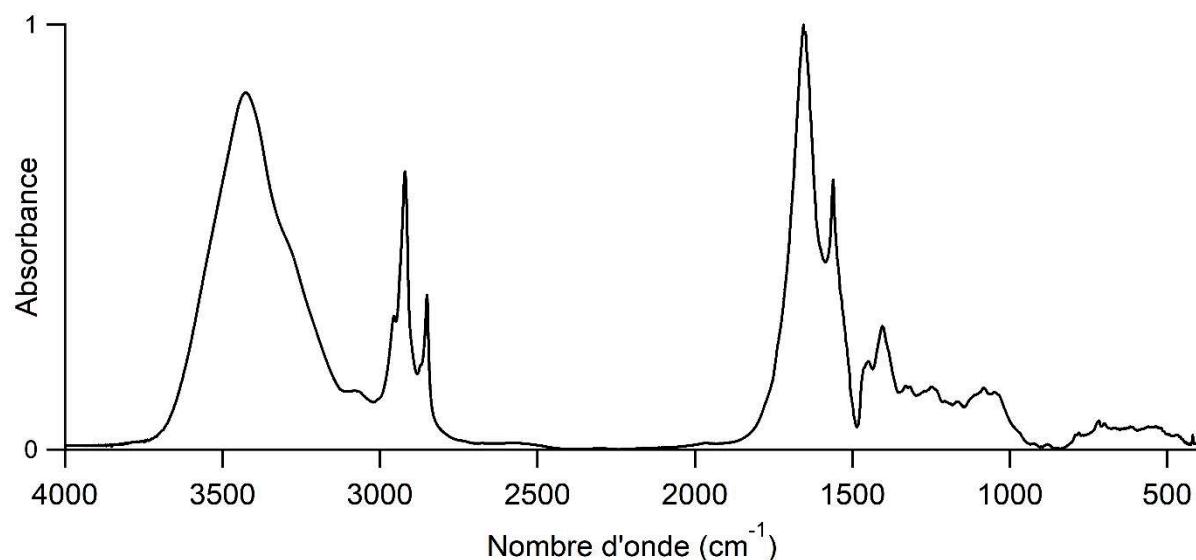
Prélèvement n°18 : Externe à la gauche du crâne



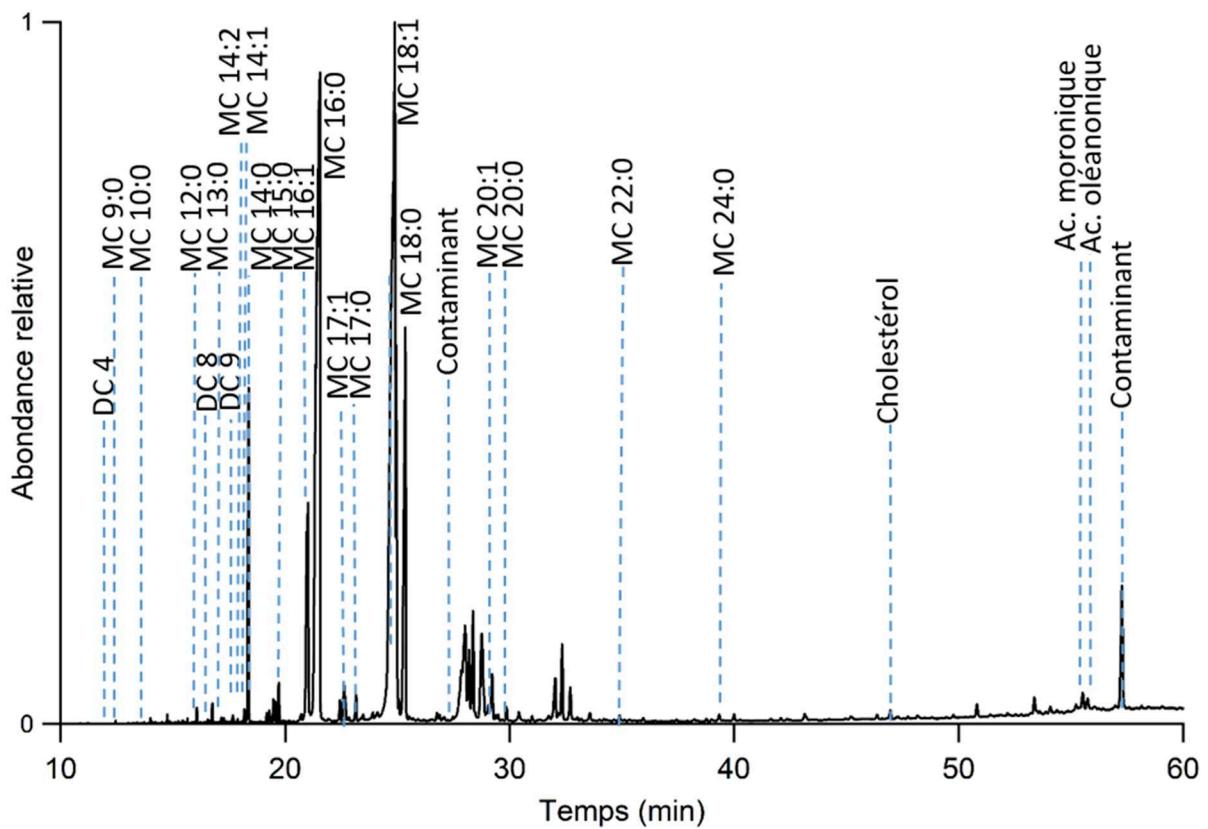
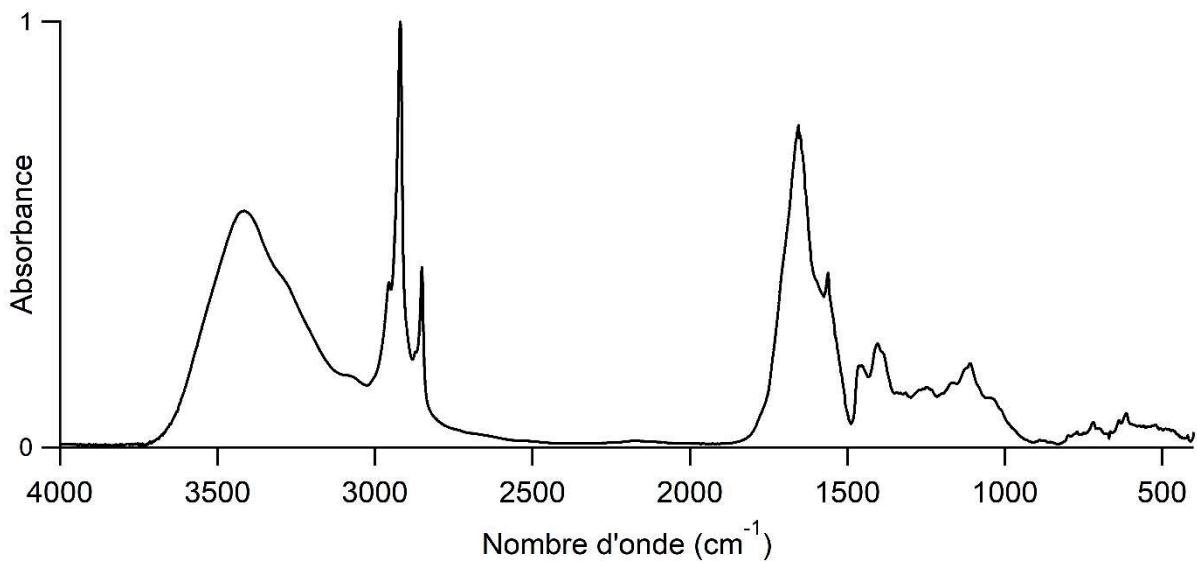
Momie 30000150

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Deir-el-Medineh
Période historique	Non renseignée

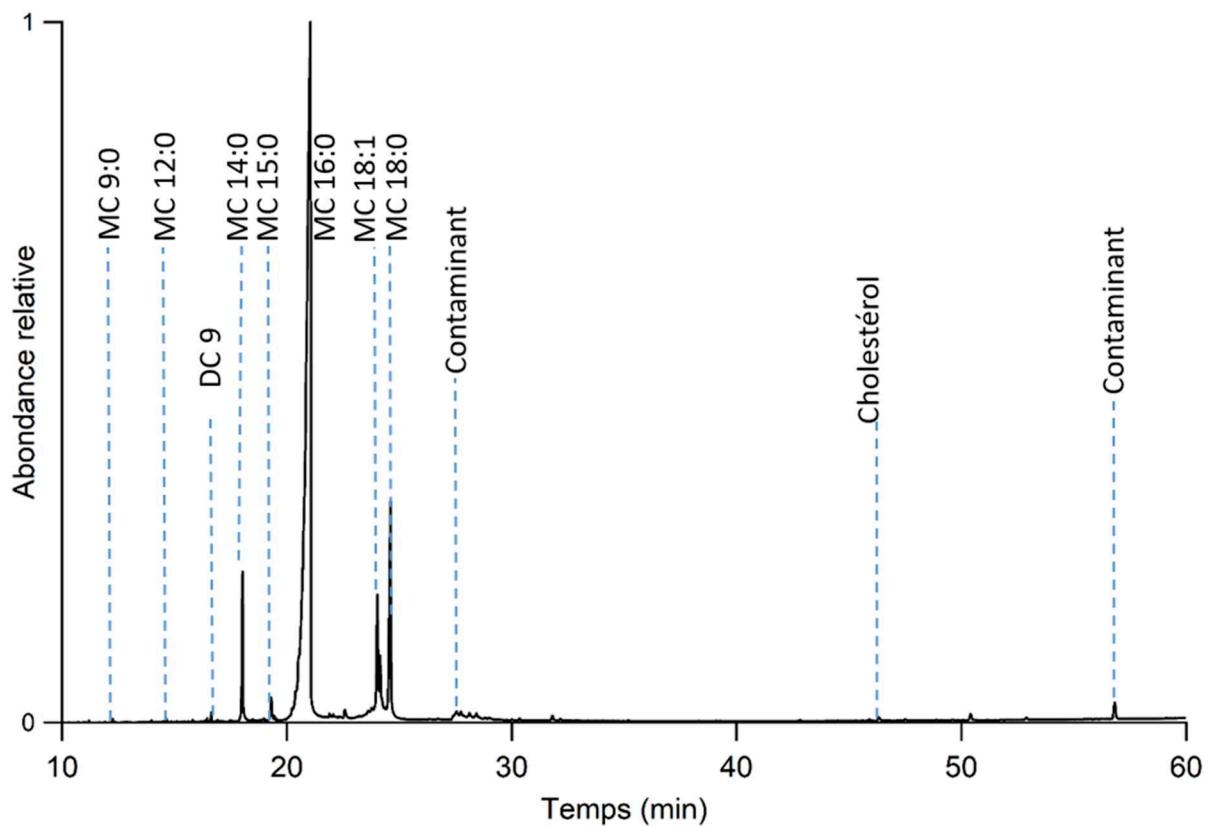
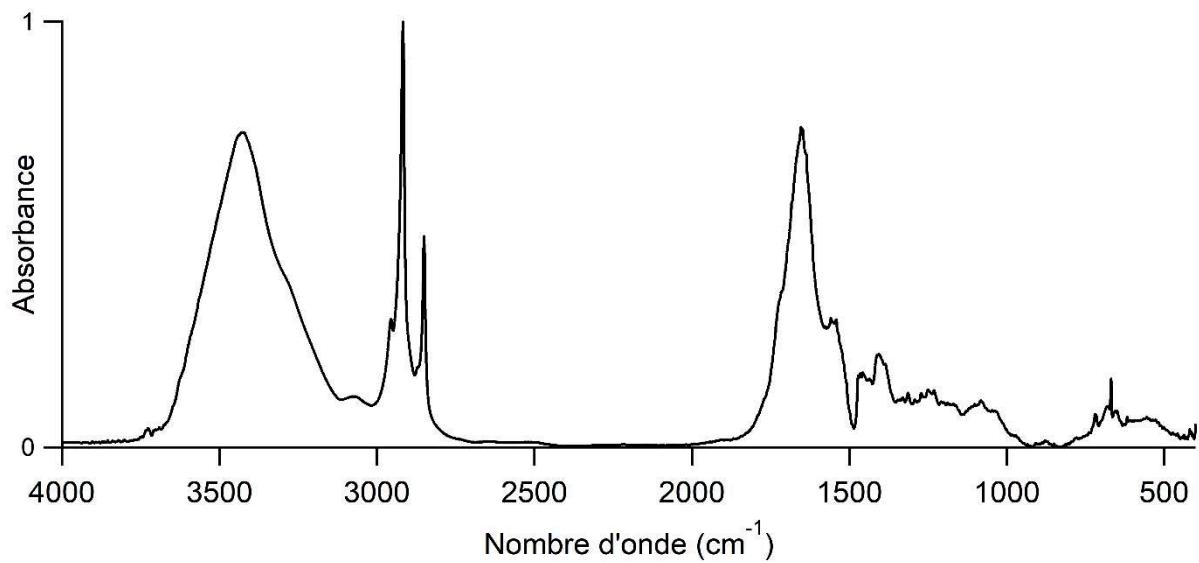
Prélèvement n°19 : Oreille gauche externe



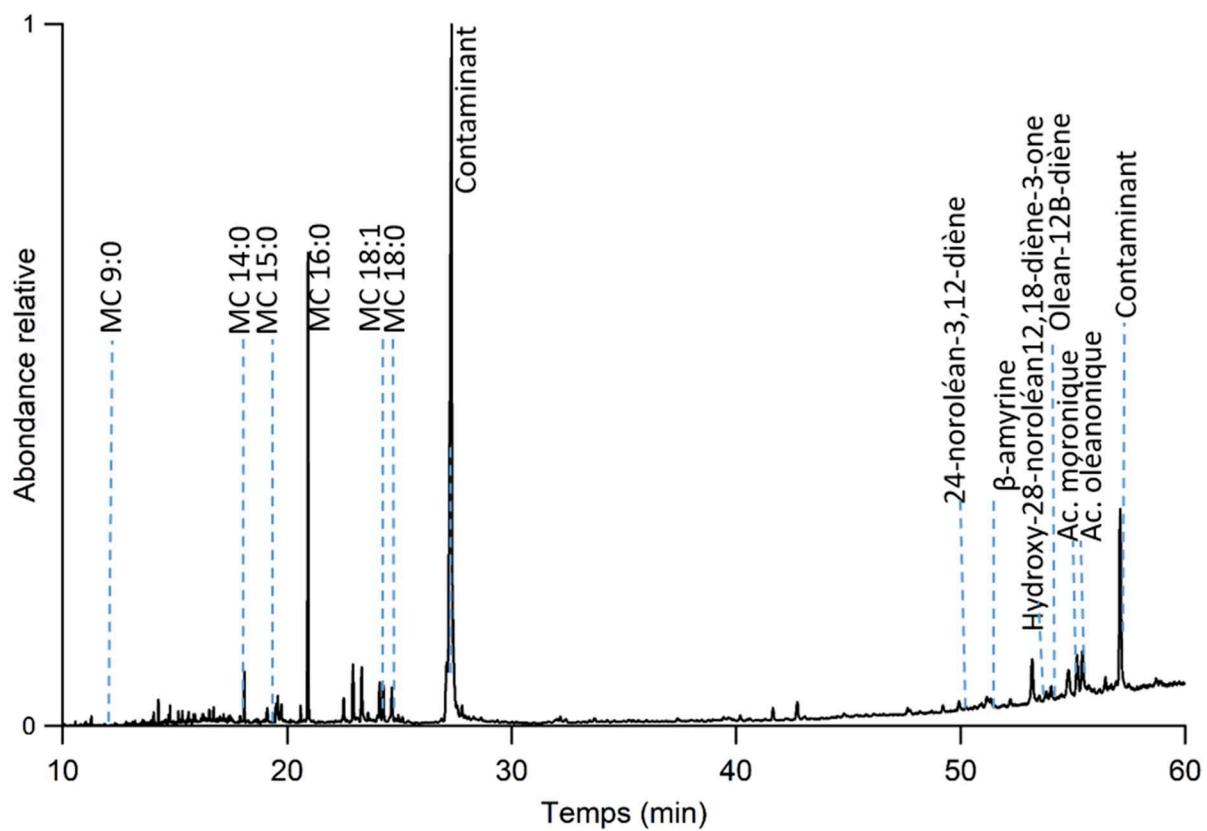
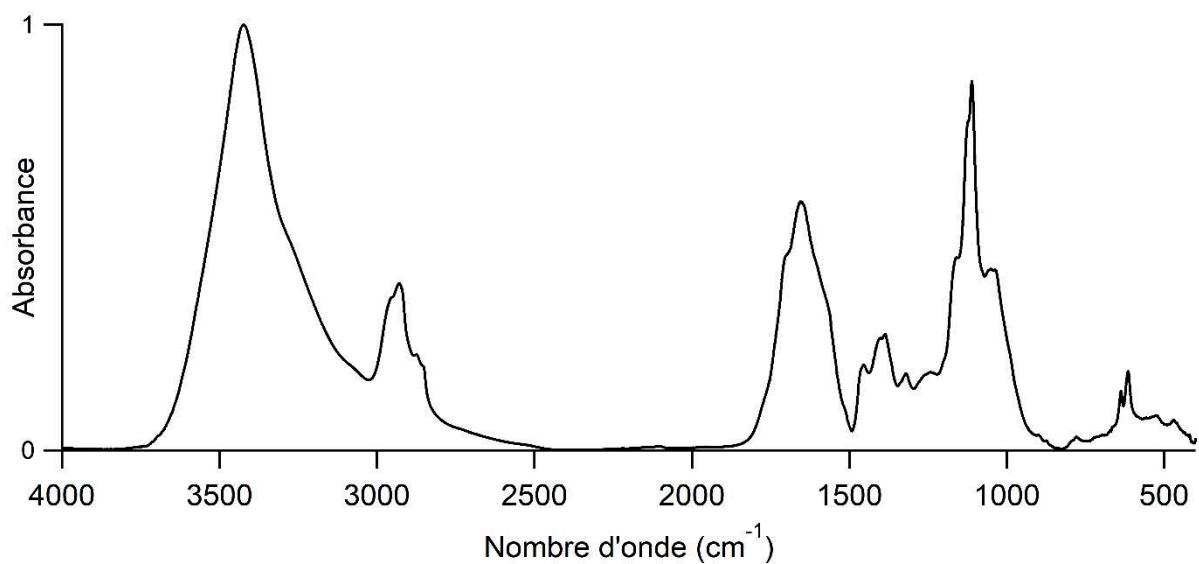
Prélèvement n°20 : Echantillon sableux en interne



Prélèvement n°21 : Externe sur la tempe droite



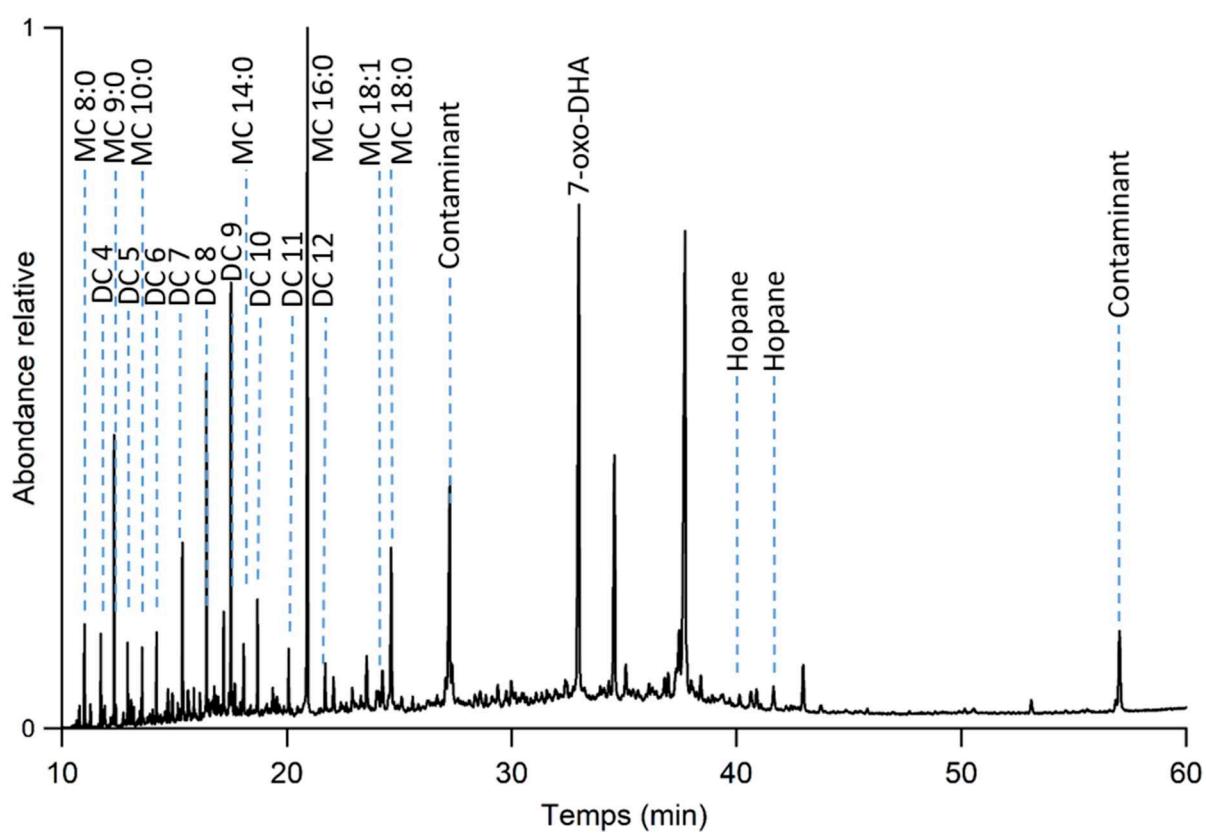
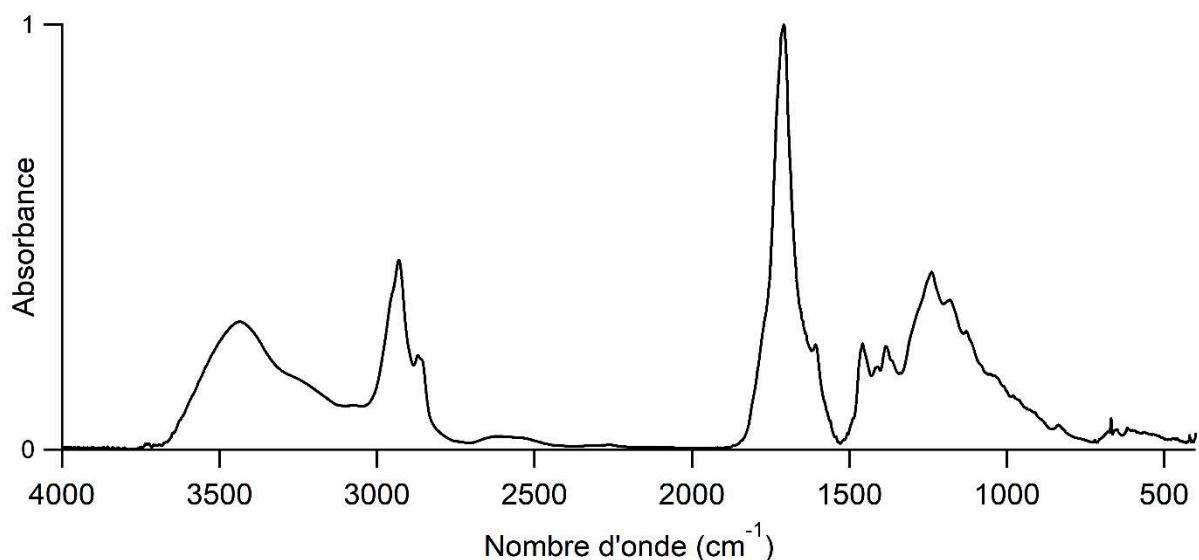
Prélèvement n°33 : Echantillon sableux externe



Momie 30000152

Sexe	Féminin
Age	Adolescente
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Période Gréco-Romaine

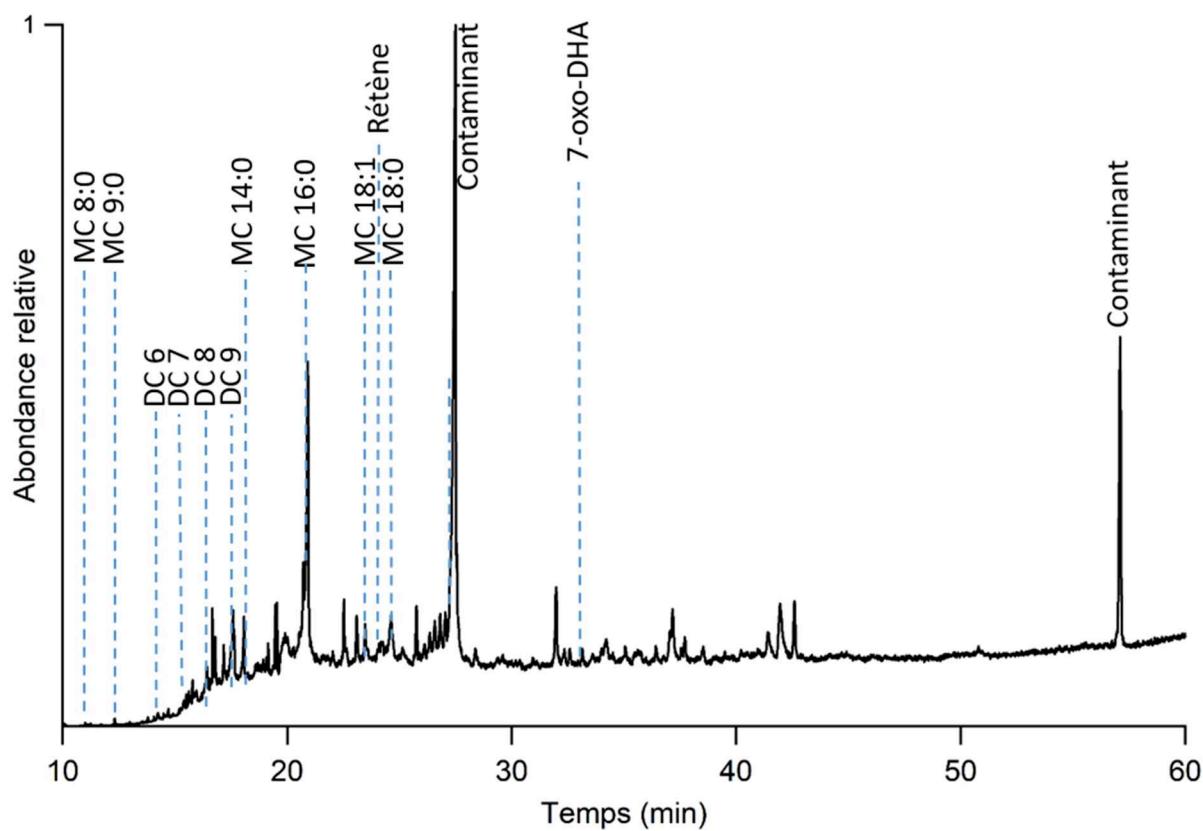
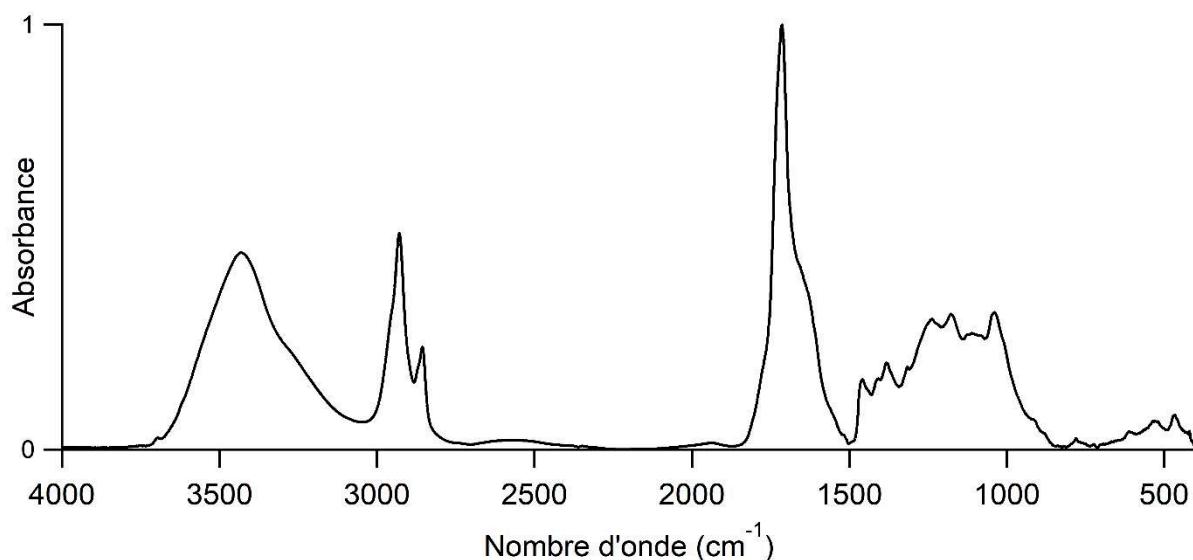
Prélèvement n°2 : Partie postérieure du cou



Momie 30000285

Sexe	Masculin
Age	Adulte mature à âgé
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Non renseignée

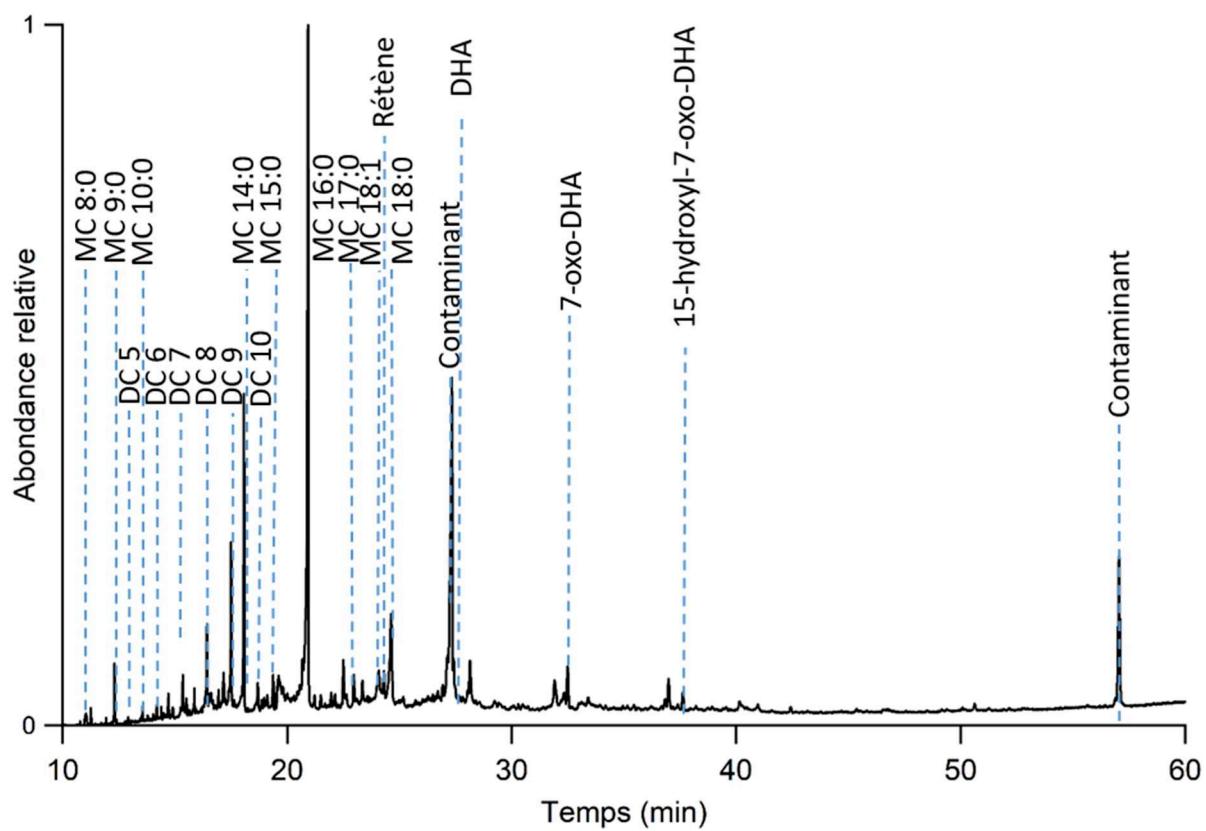
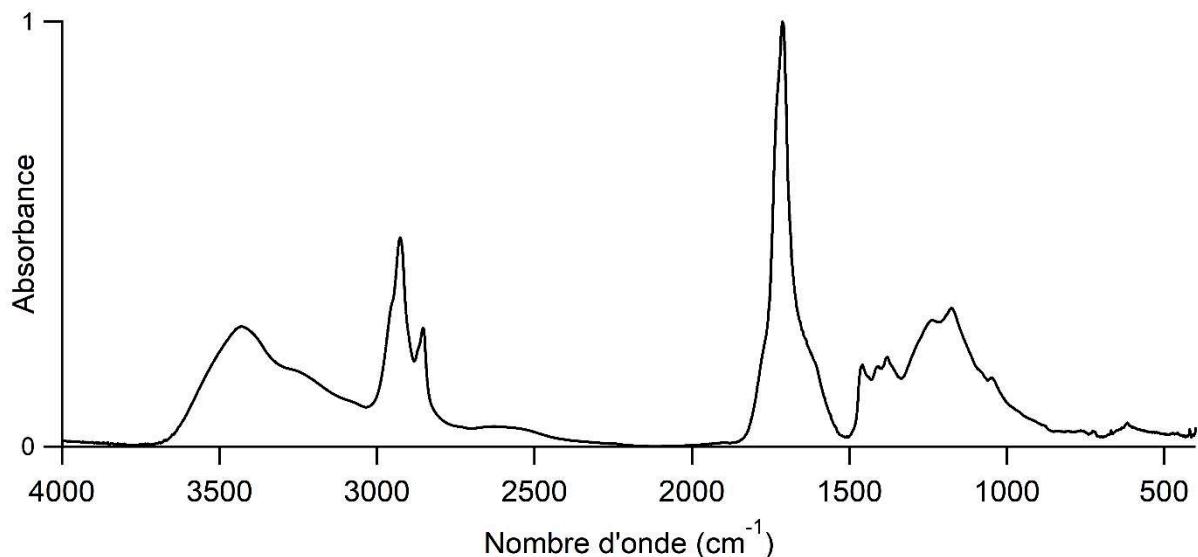
Prélèvement n°26 : Côté gauche



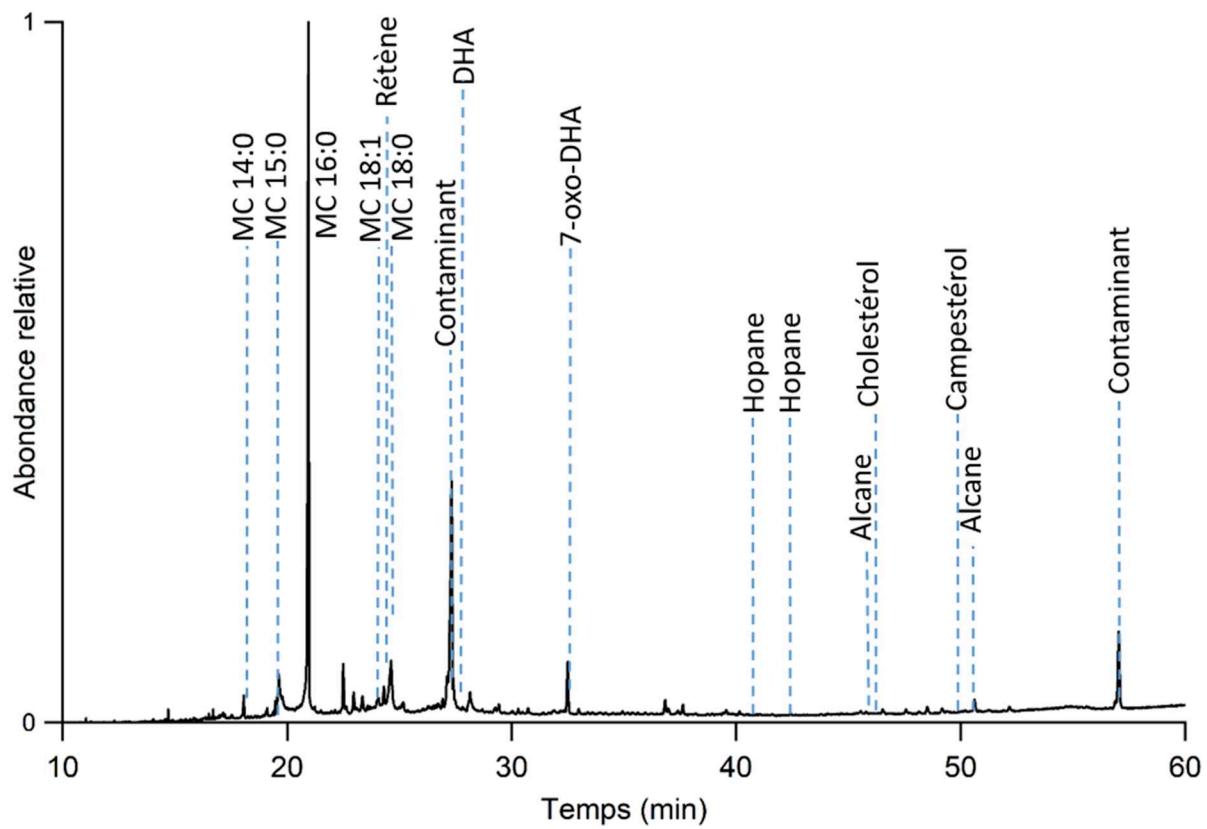
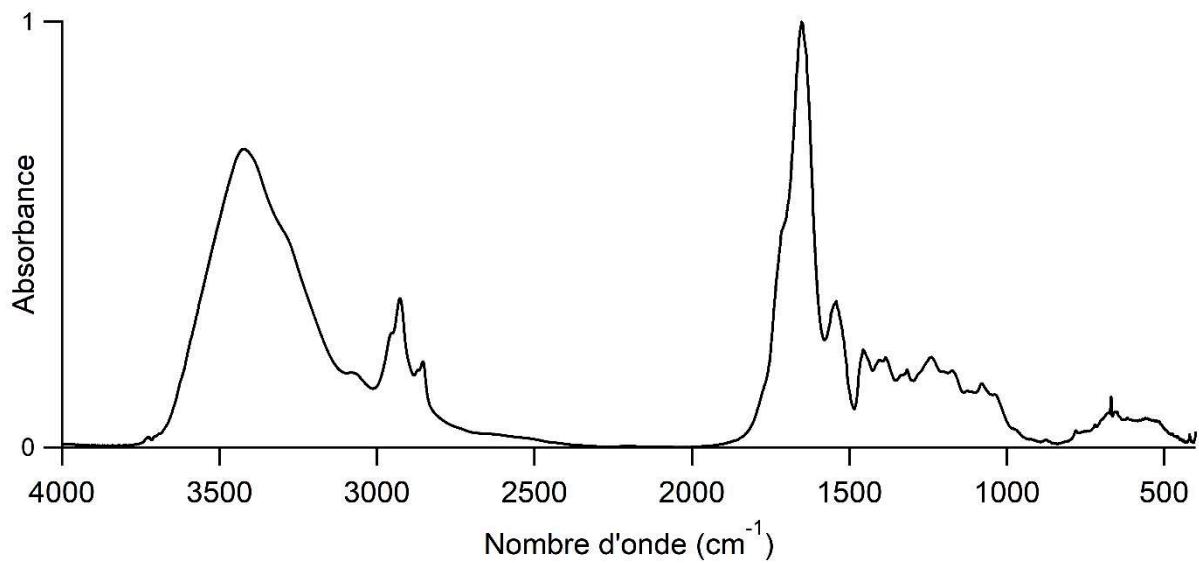
Momie 30000286

Sexe	Masculin
Age	Adulte mature à âgé
Localisation géographique	Esneh
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

Prélèvement n°10 : Interne du cou



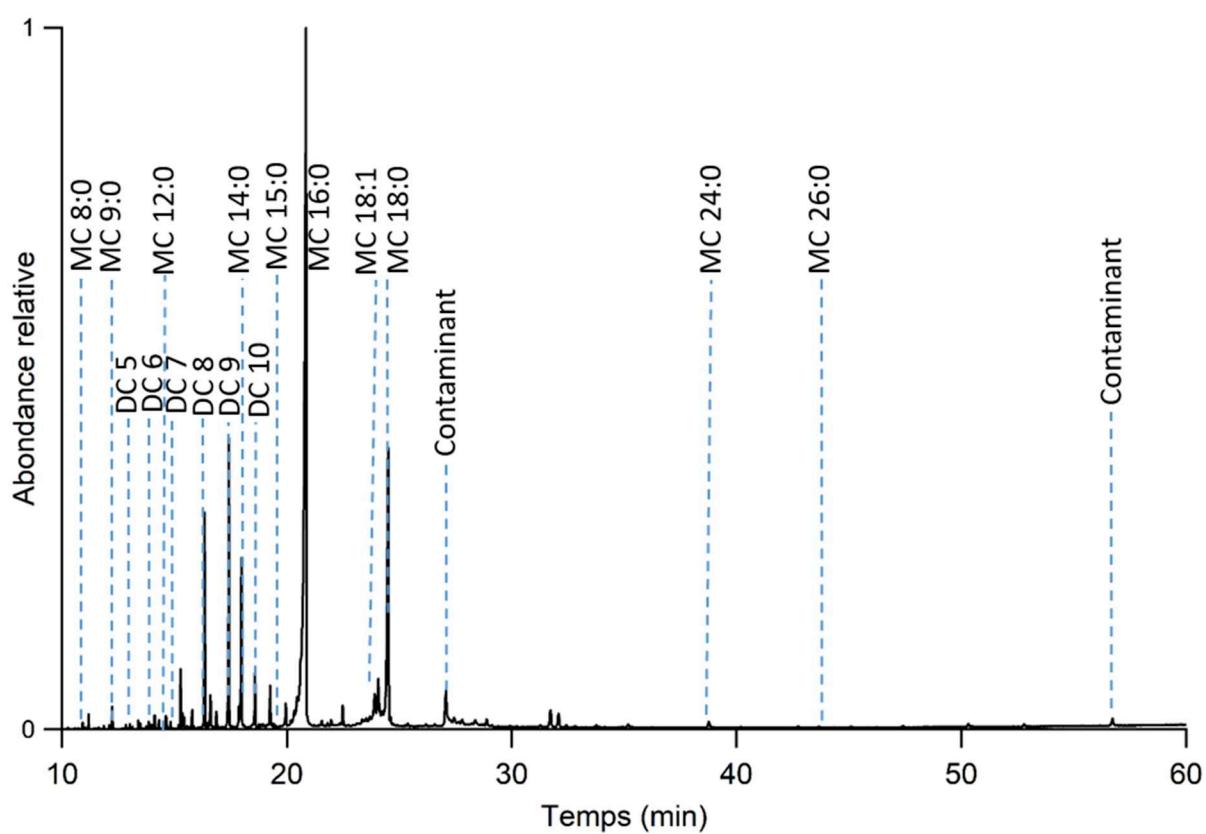
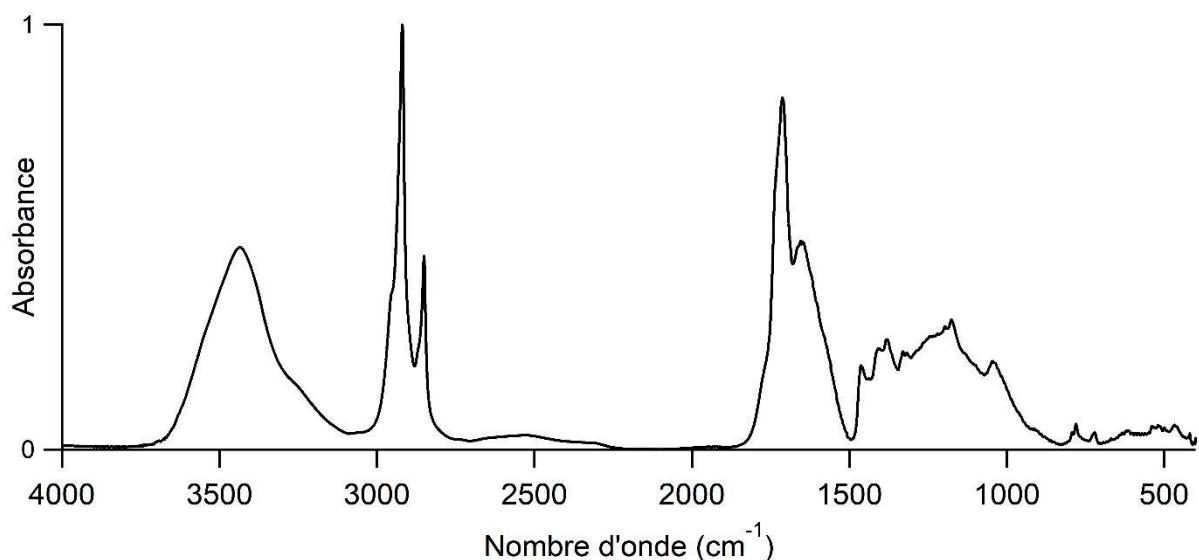
Prélèvement n°11 : Mandibule



Momie 30000304

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Non renseignée

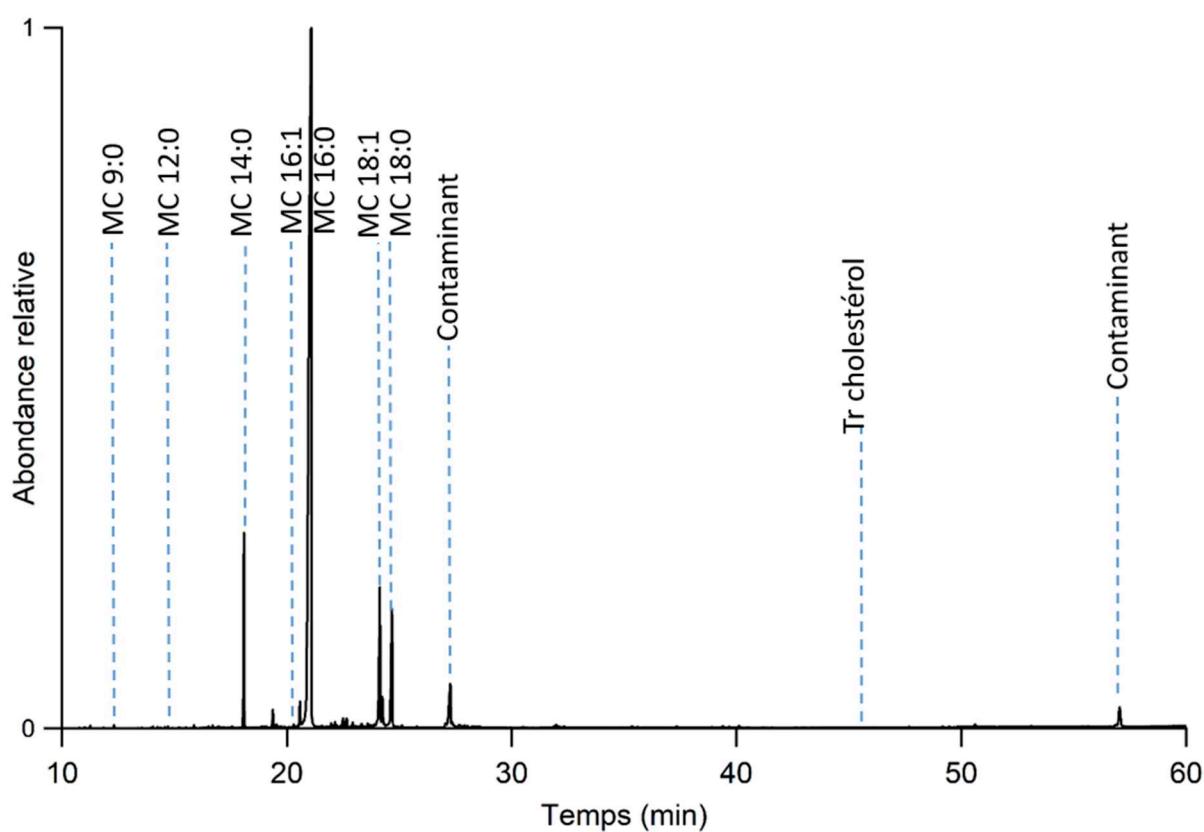
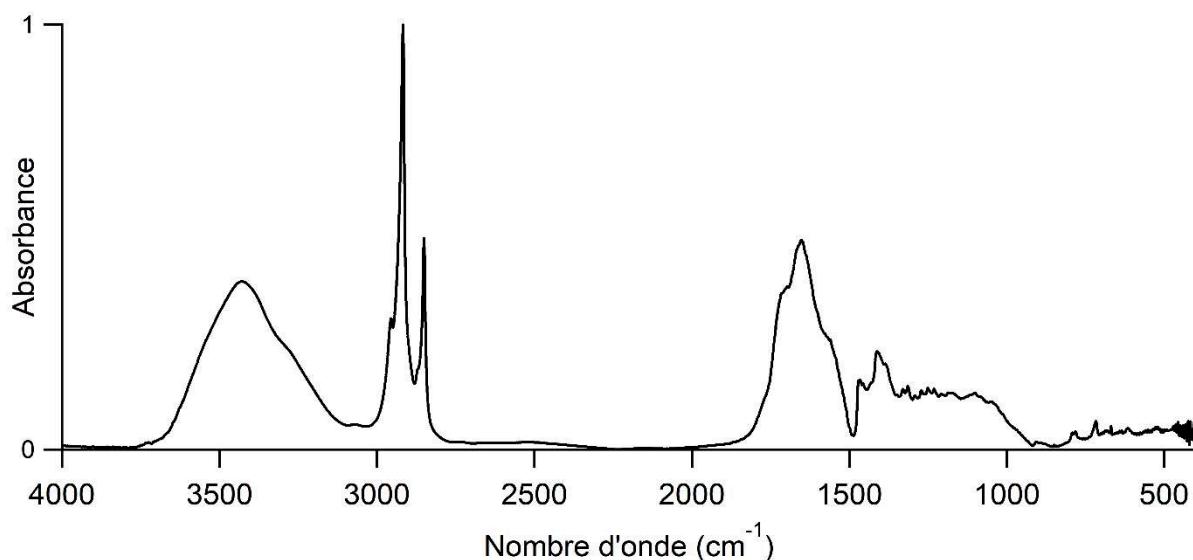
Prélèvement n°25 : Arrière du crâne



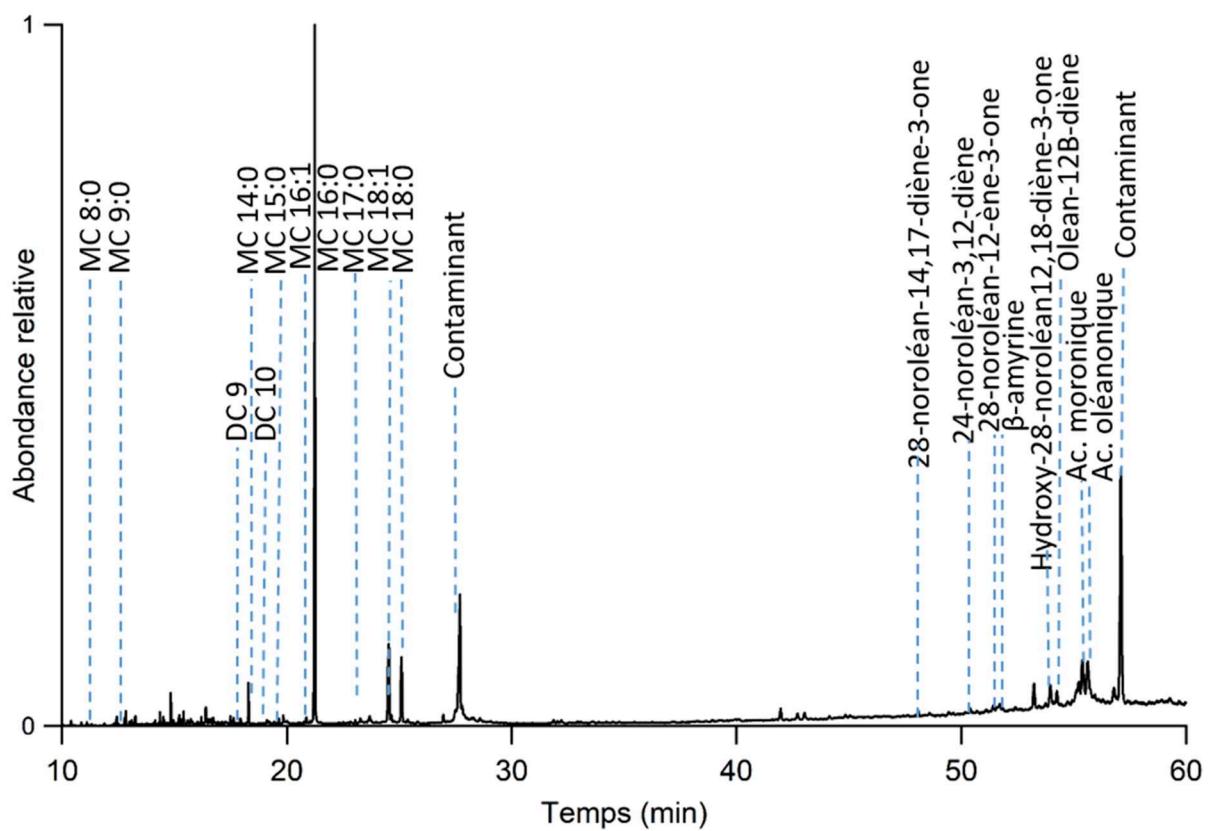
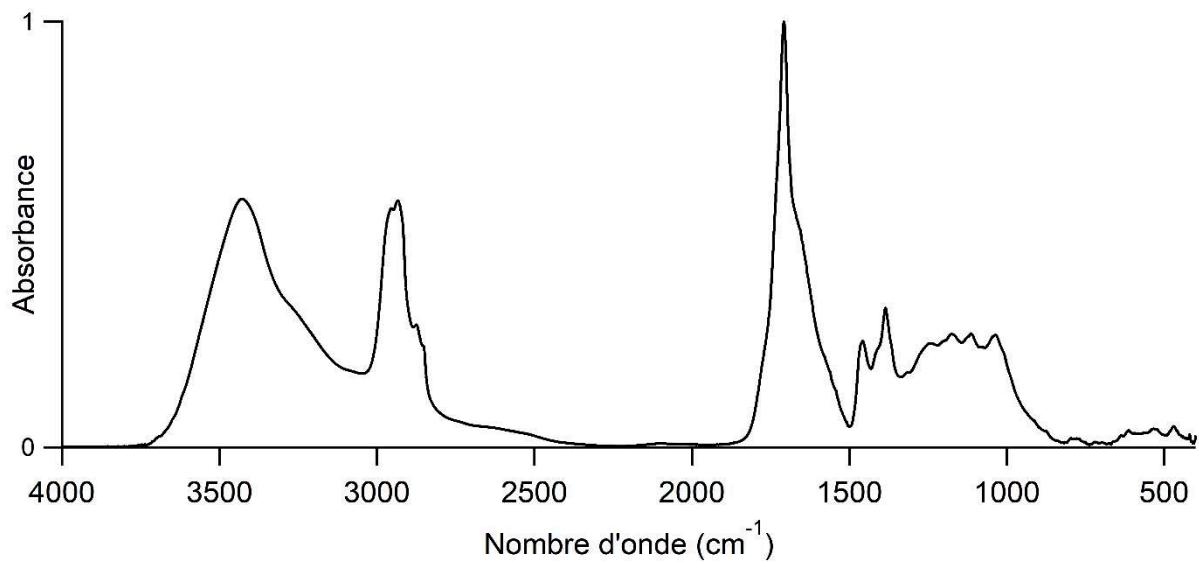
Momie 30000306

Sexe	Féminin
Age	Adulte jeune
Localisation géographique	Deir-el-Medineh
Période historique	Non renseigné

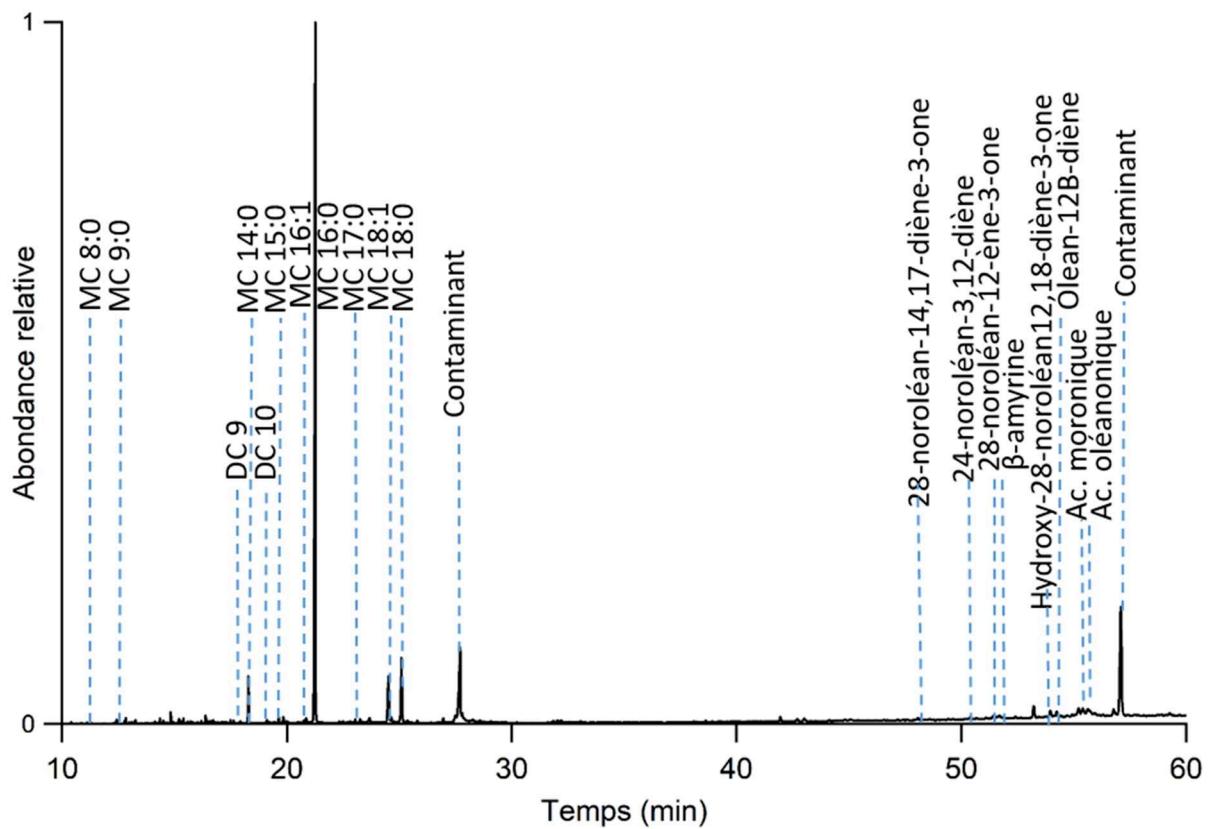
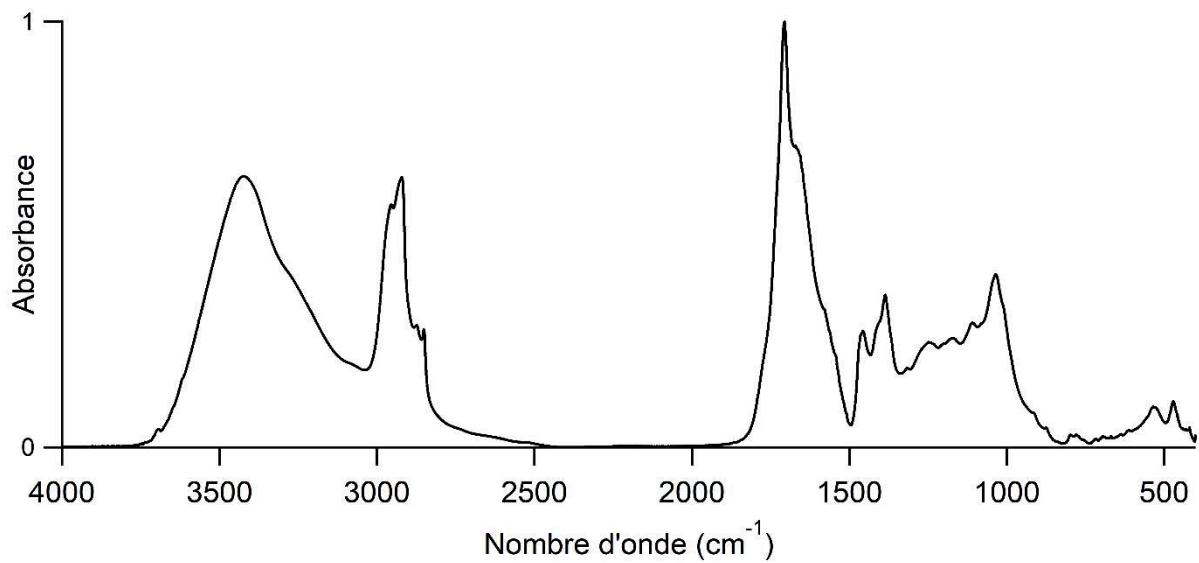
Prélèvement n°3 : Tempe droite



Prélèvement n°30 : Echantillon sableux en externe



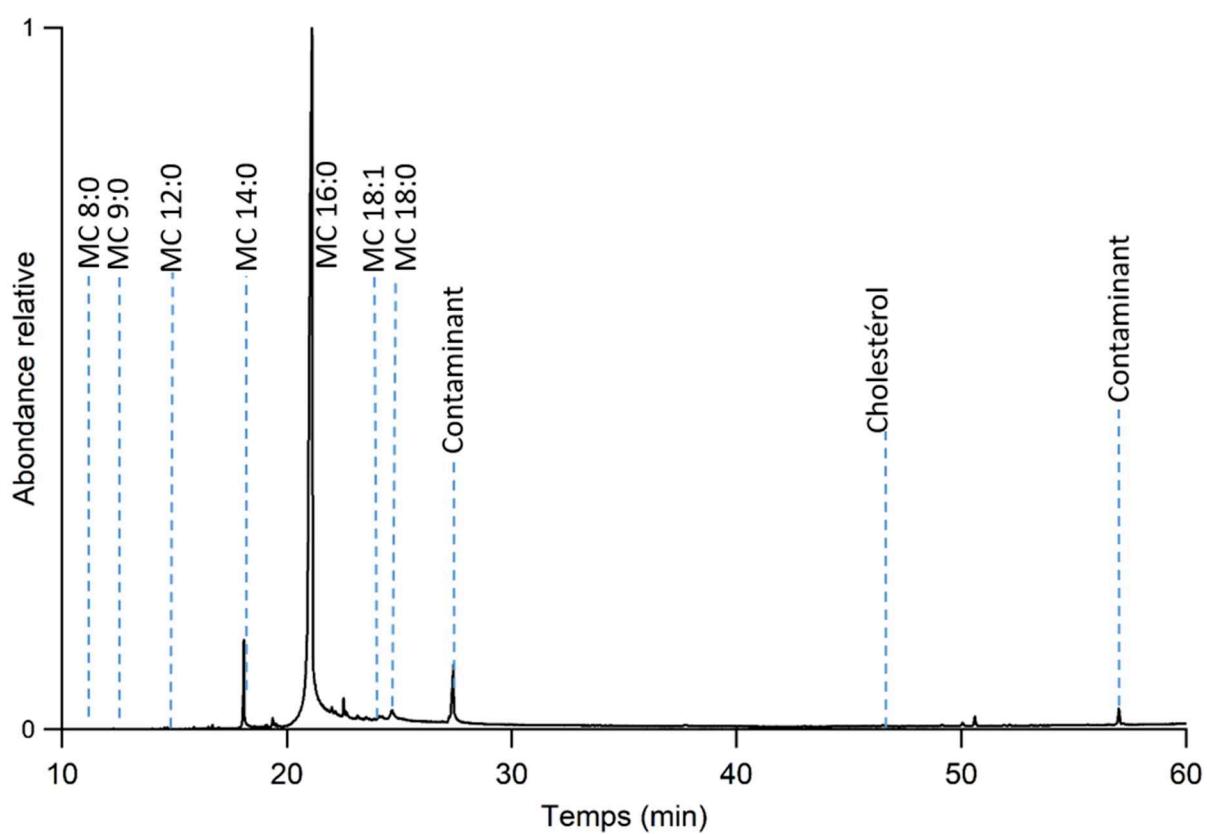
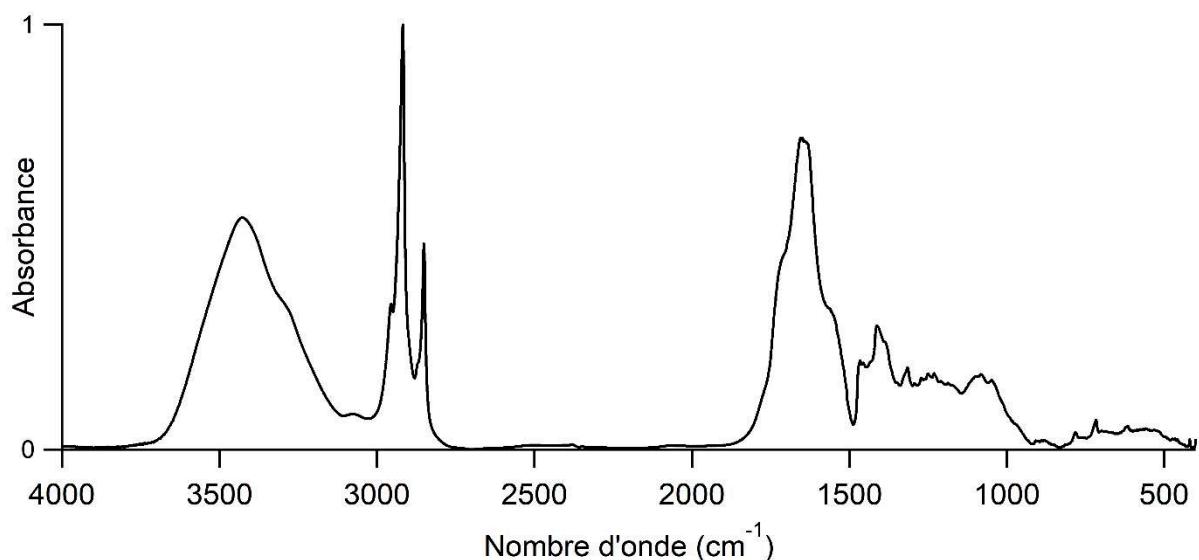
Prélèvement n°31 : Echantillon sableux en intrabuccale



Momie 30000308

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Deir-el-Medineh
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

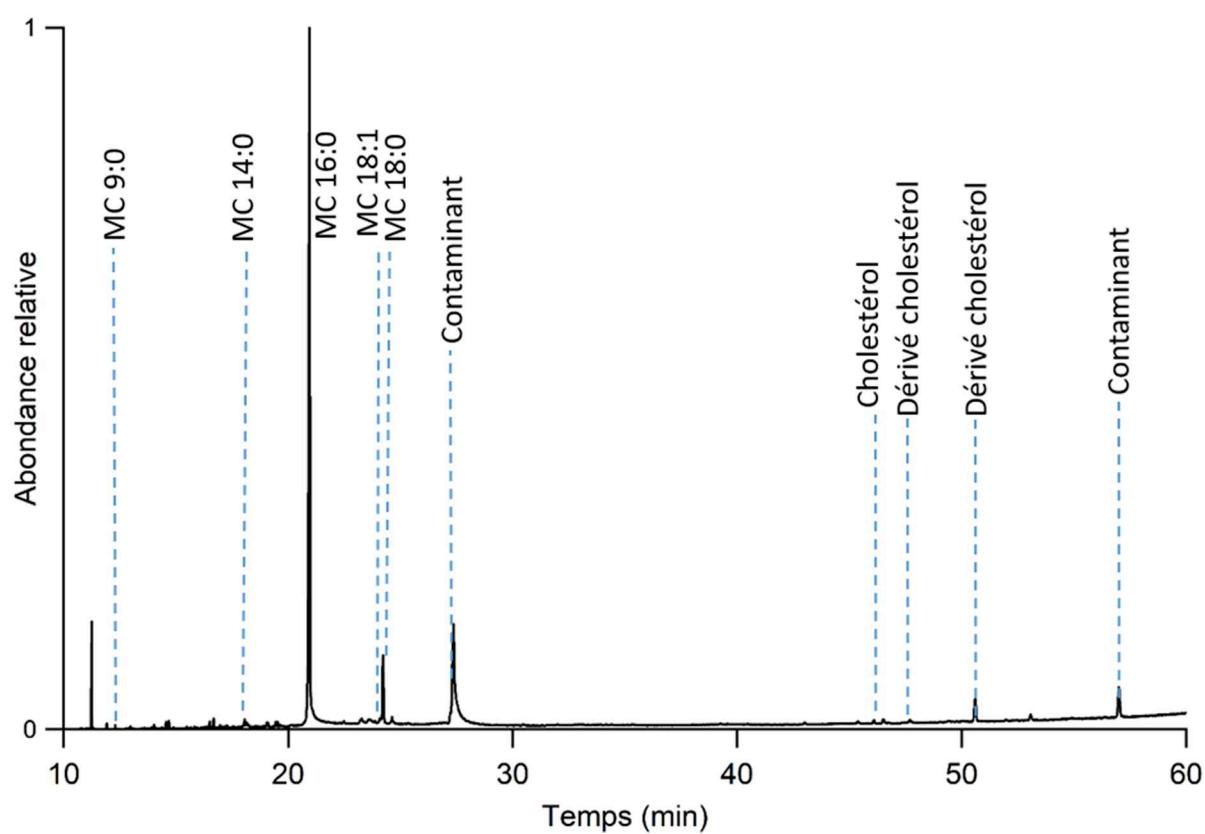
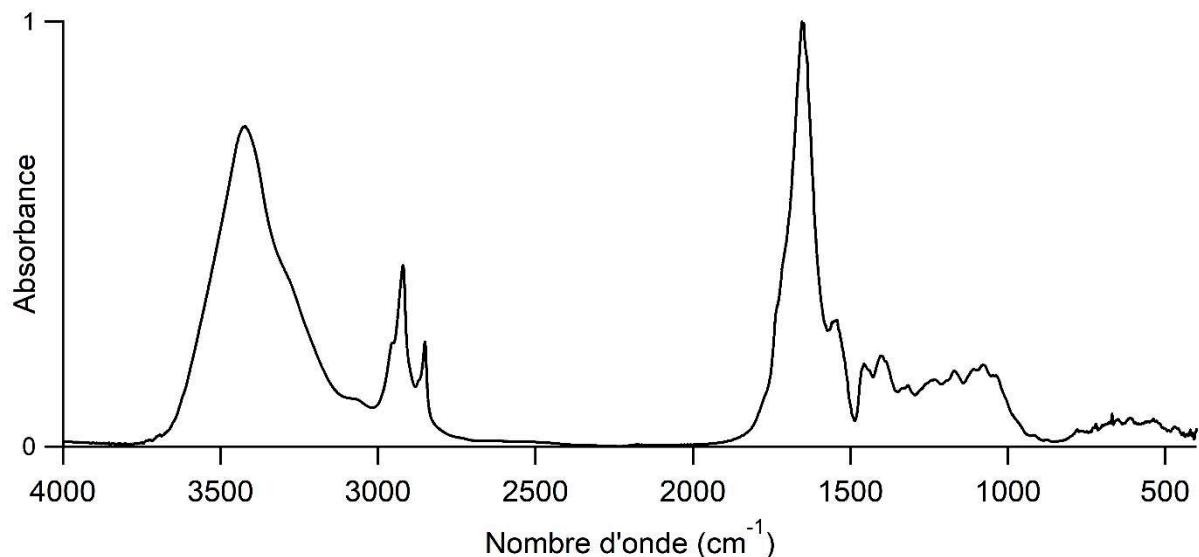
Prélèvement n°27 : Intra-gorge



Momie 30000364

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Non renseignée

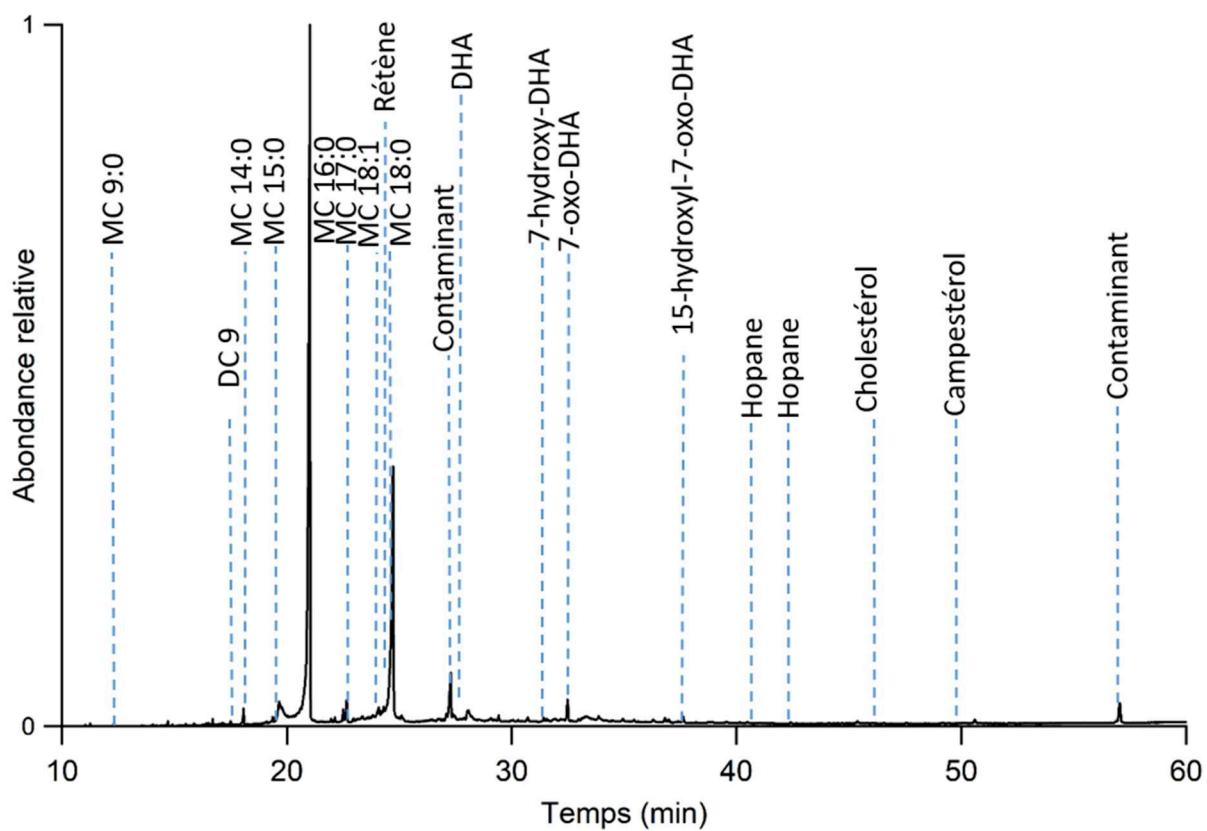
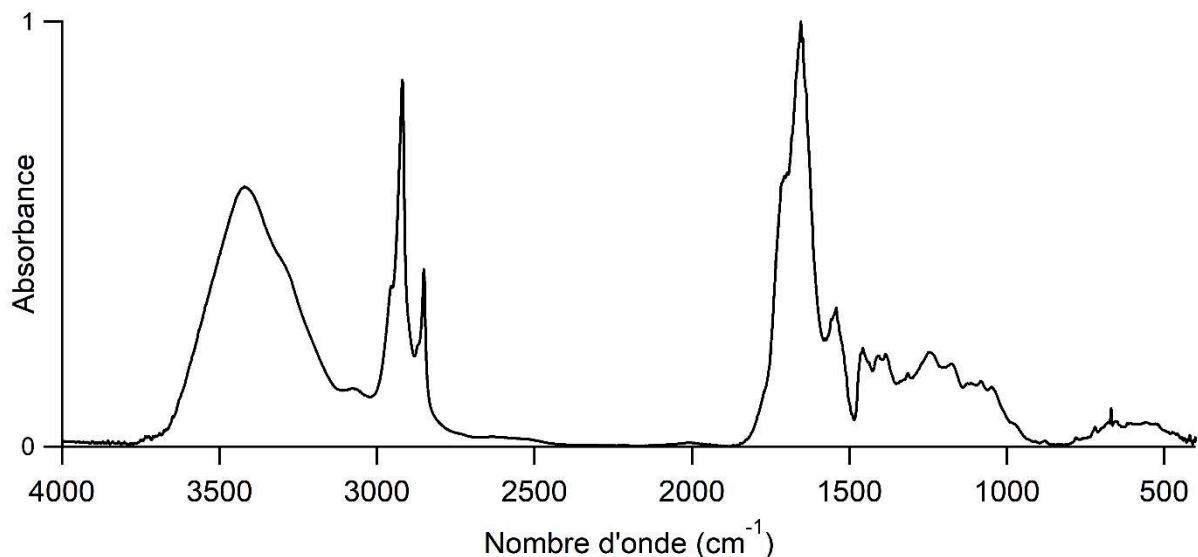
Prélèvement n°13 : Externe du crâne



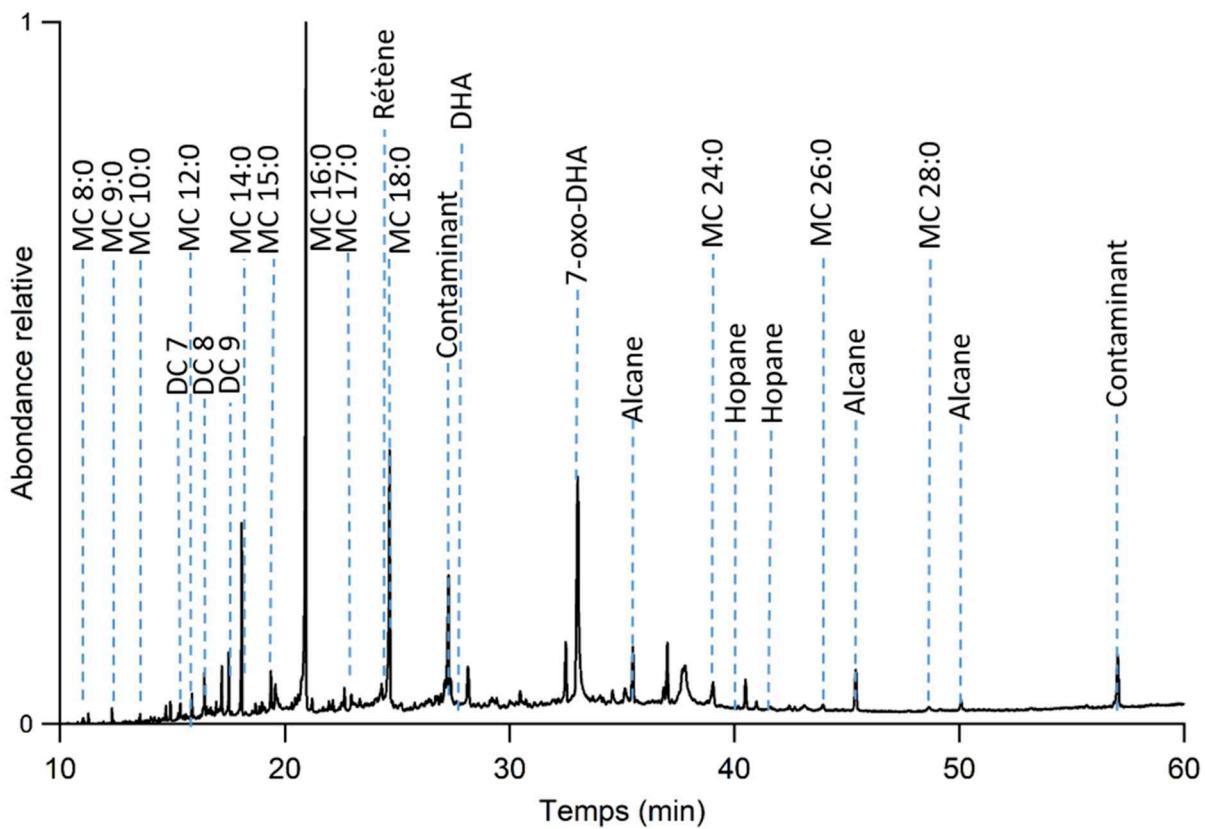
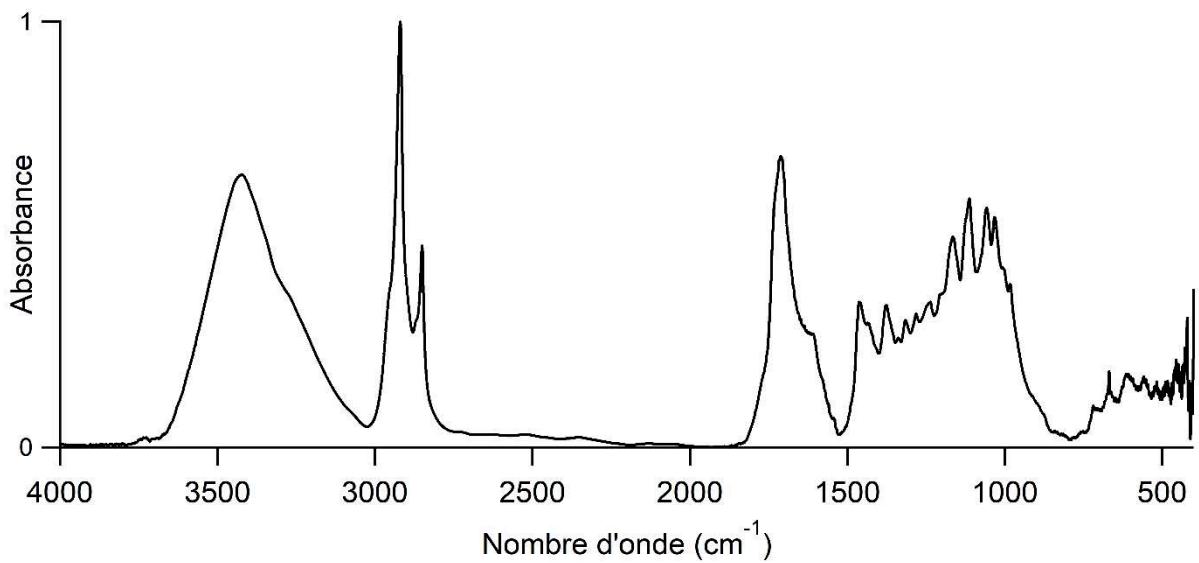
Momie 90001402

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

Prélèvement n°8 : Haut du crâne



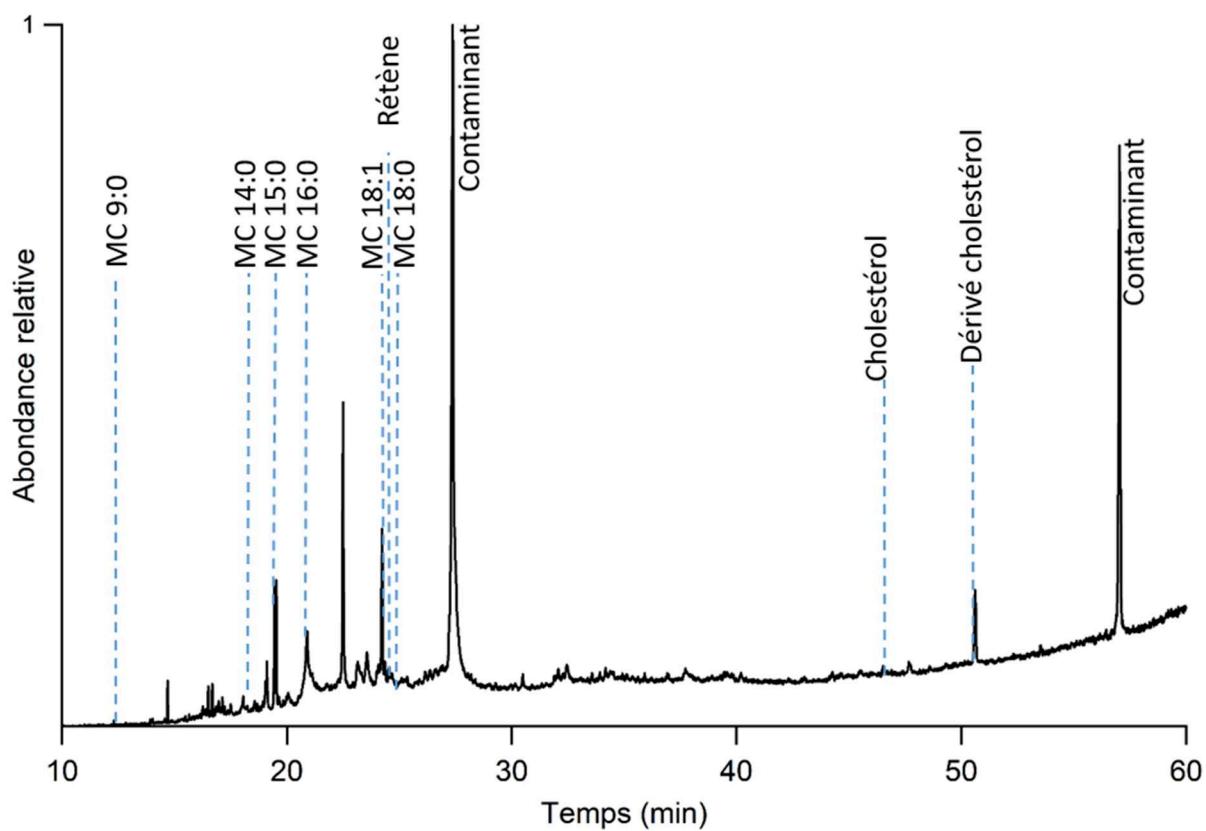
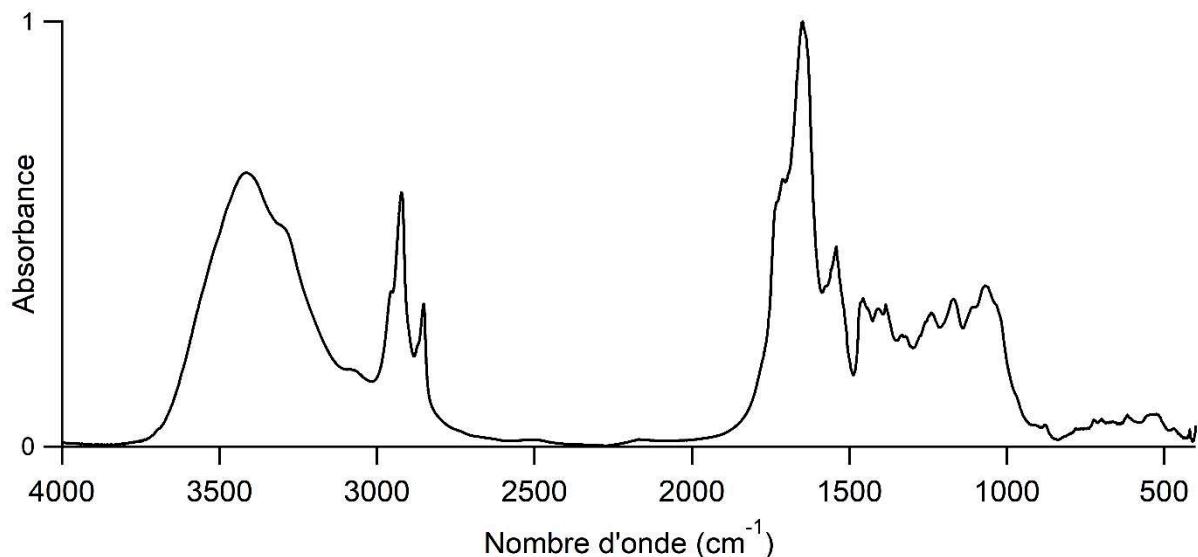
Prélèvement n°9 : Textile du pubis



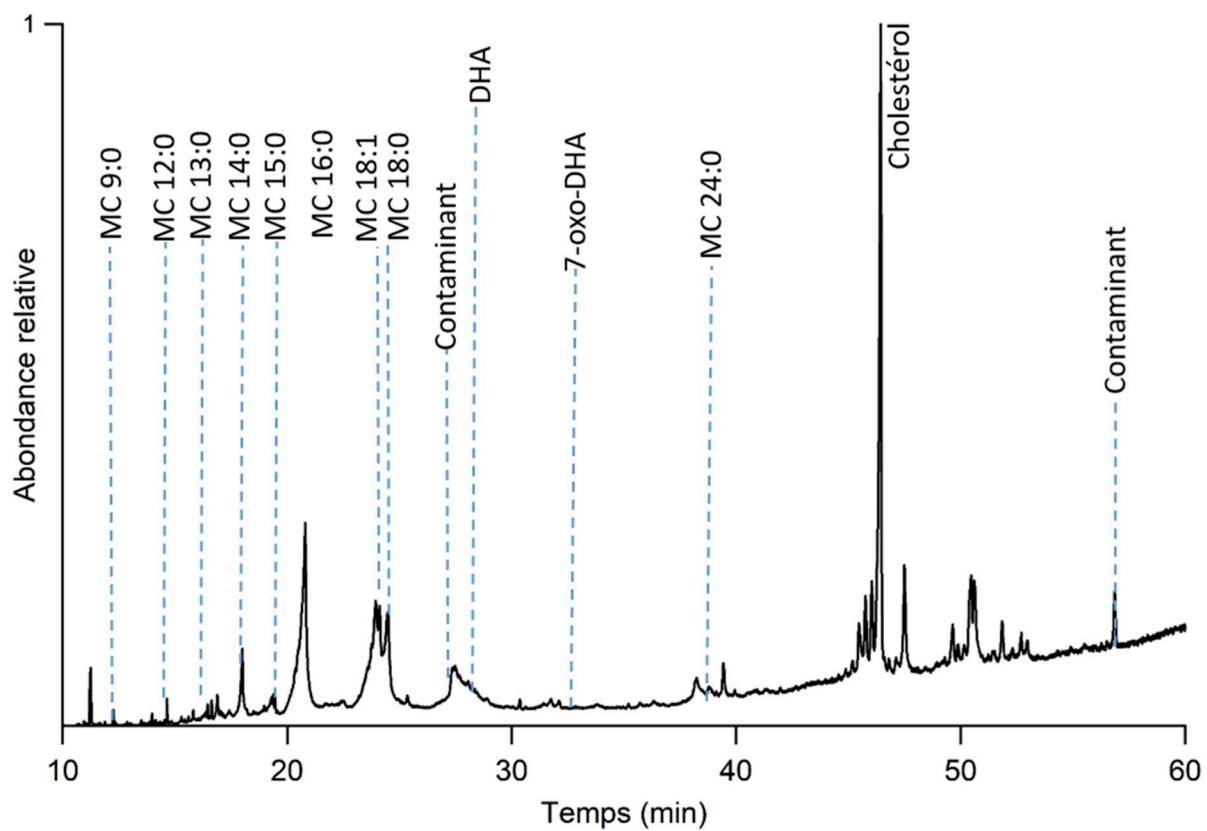
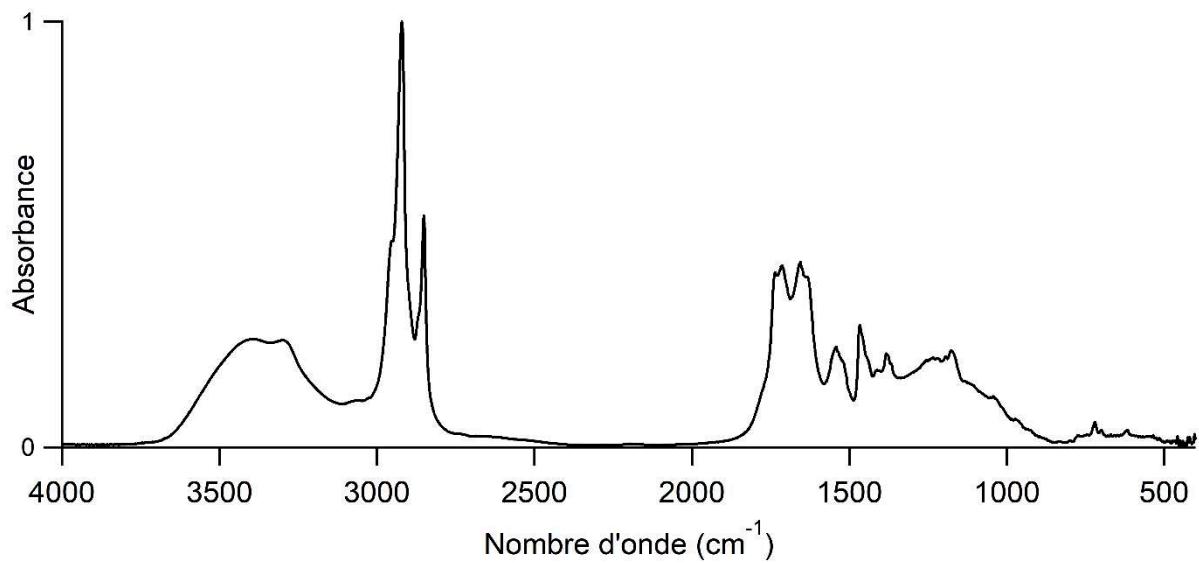
Momie 90001635

Sexe	Féminin
Age	Adulte jeune
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Prédynastique

Prélèvement n°38 : Rachis lombaire en interne sur la L4



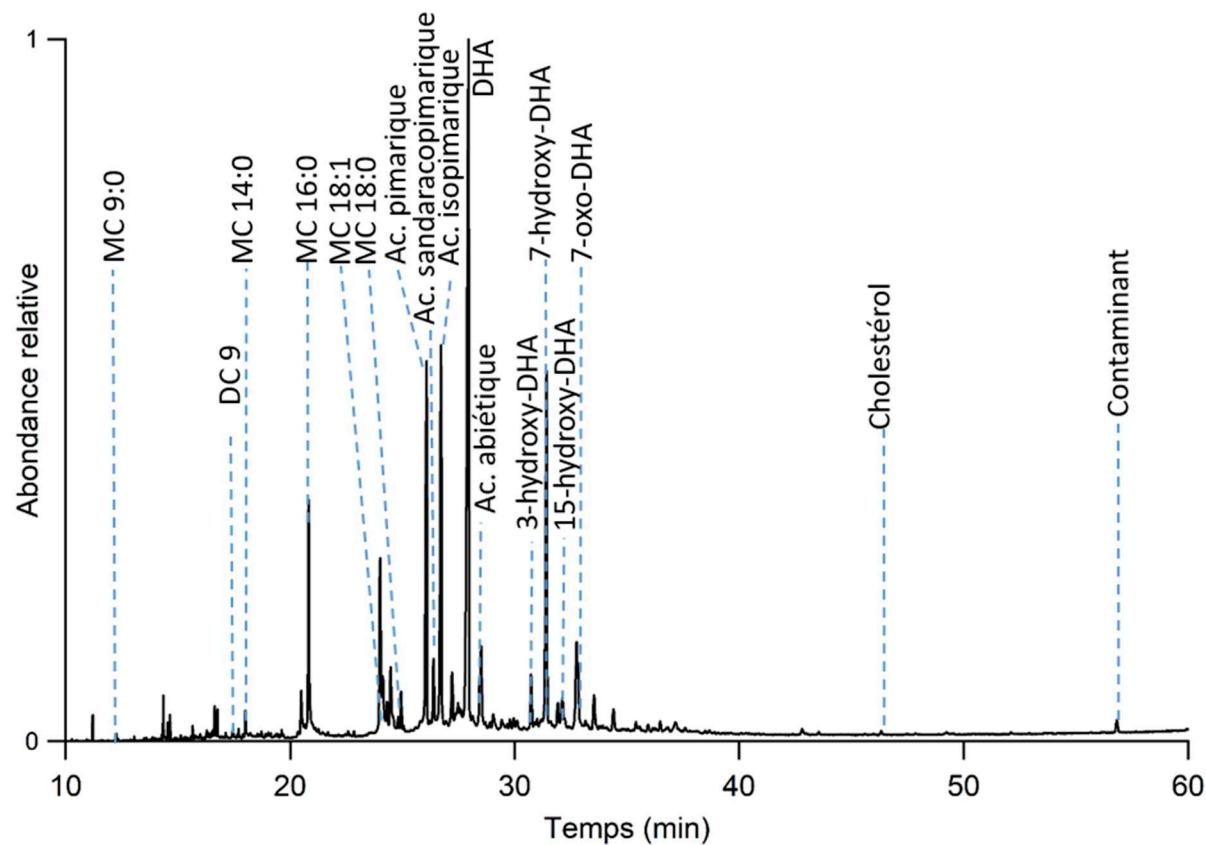
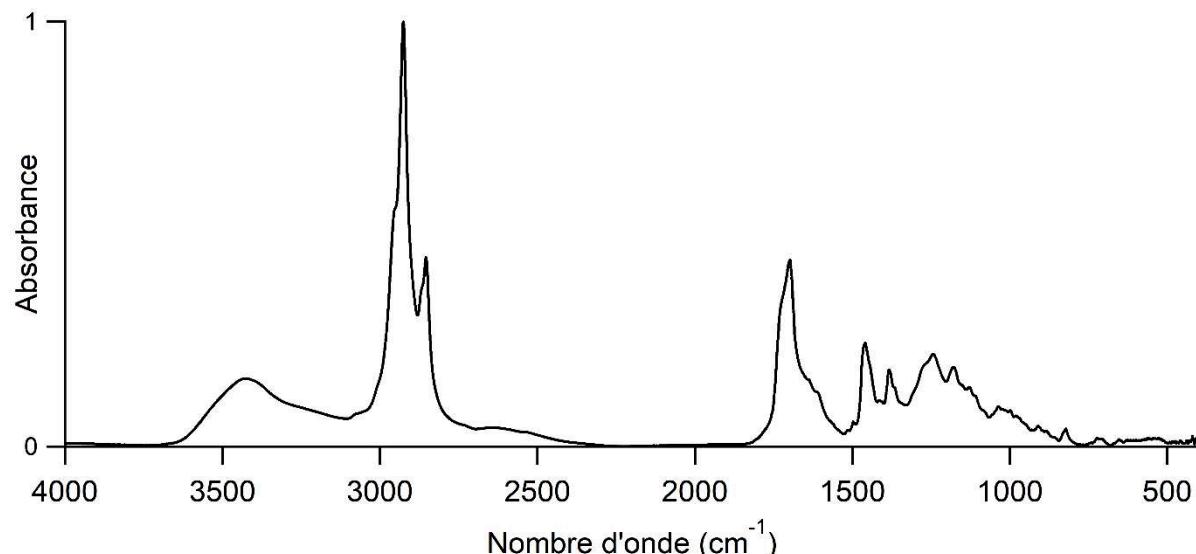
Prélèvement n°39 : Intracrânien au niveau du foramen magnum



Momie 90001258

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Époque Gréco-Romaine

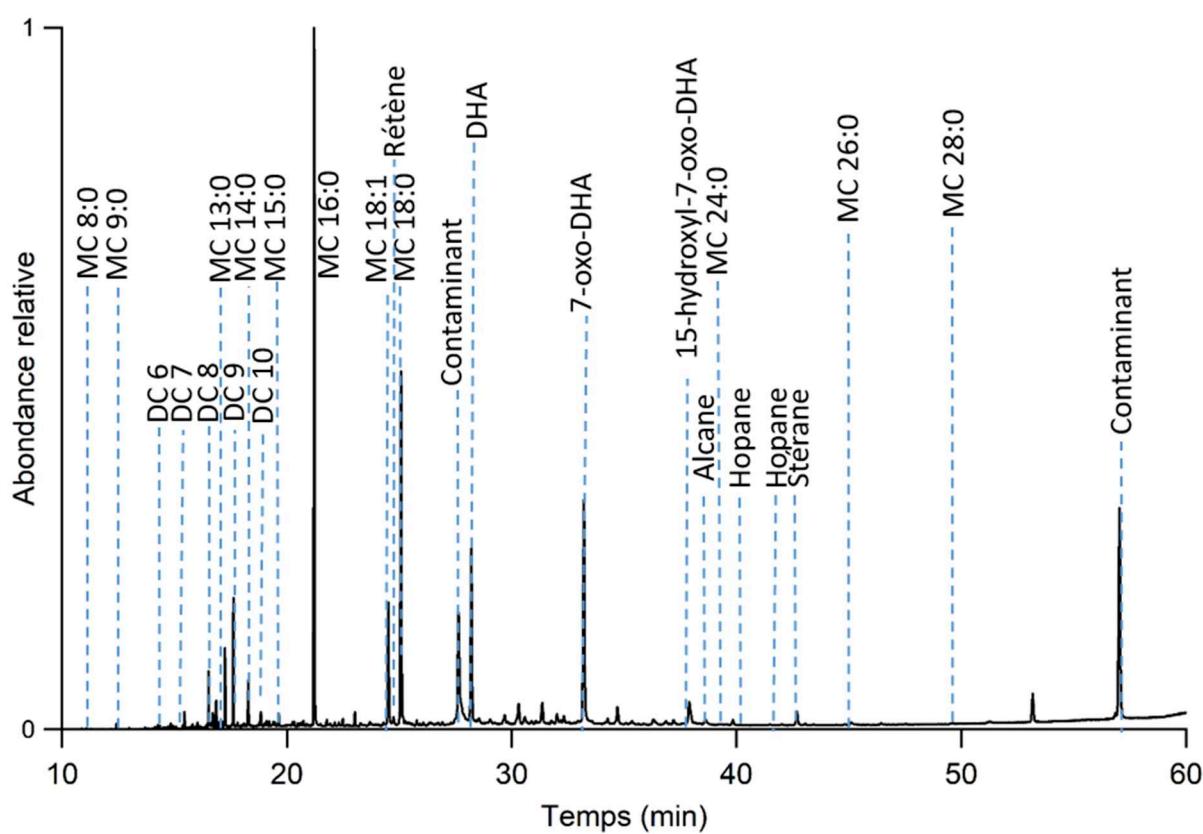
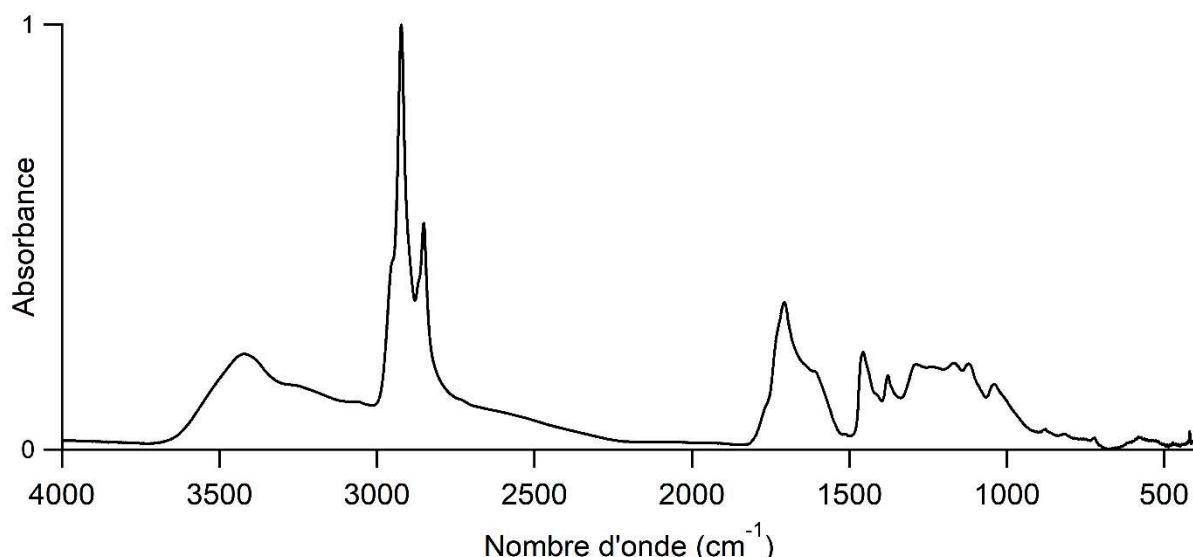
Prélèvement n°40 : Chute de baume du poignet droit



Momie 90001169

Sexe	Masculin
Age	Adulte jeune
Localisation géographique	Thèbes
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

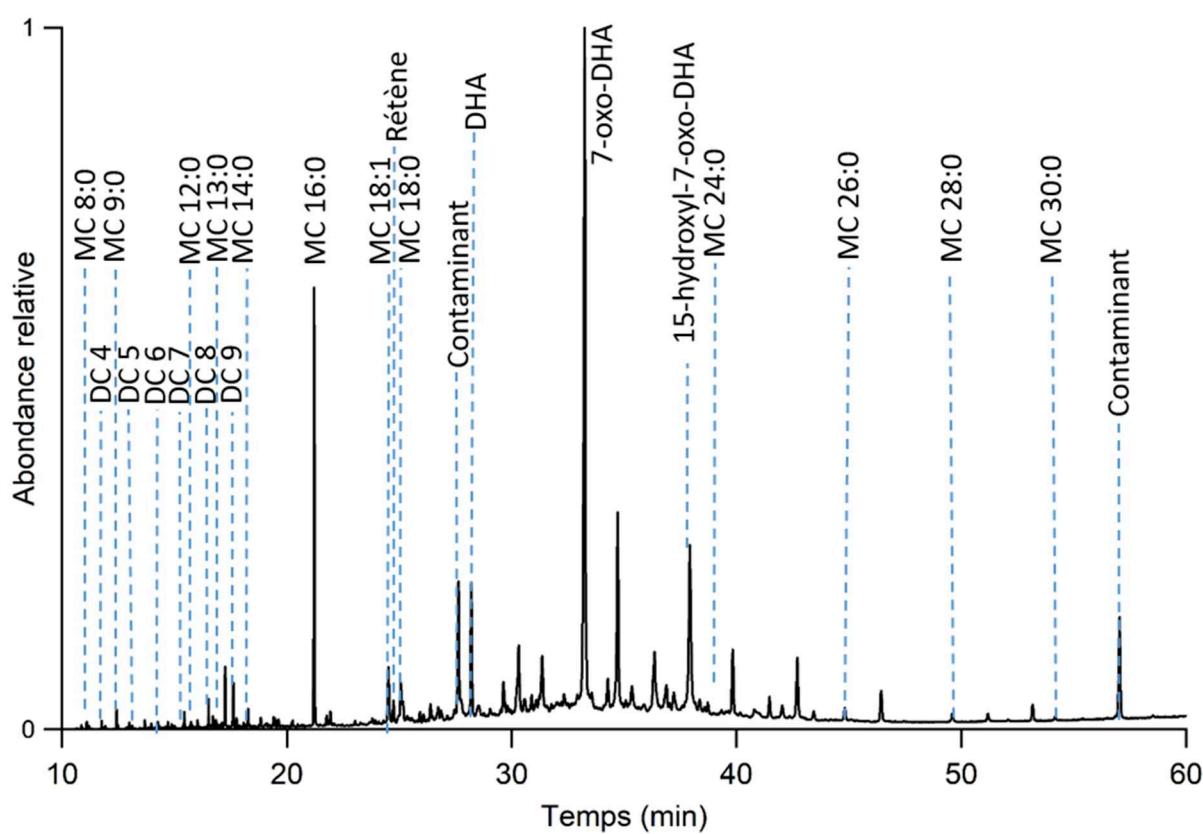
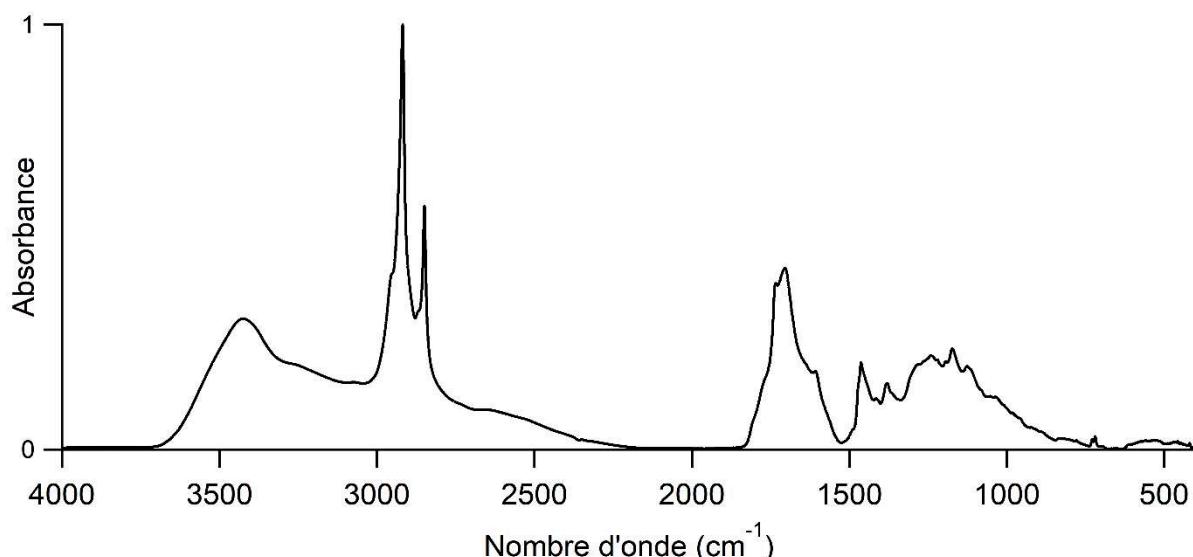
Prélèvement n°41 : Arrière du crâne



Momie 90001259

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Kôm-Ombo
Période historique	Époque Ptolémaïque à période Romaine

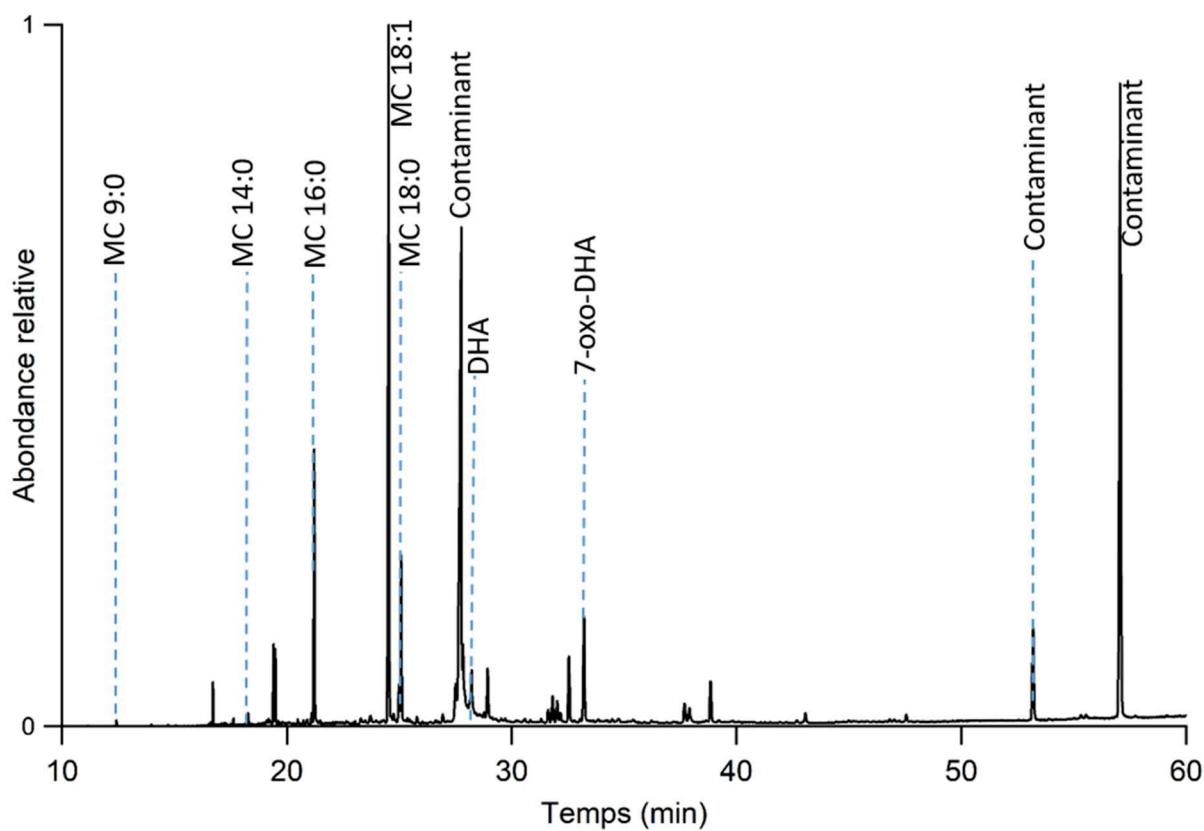
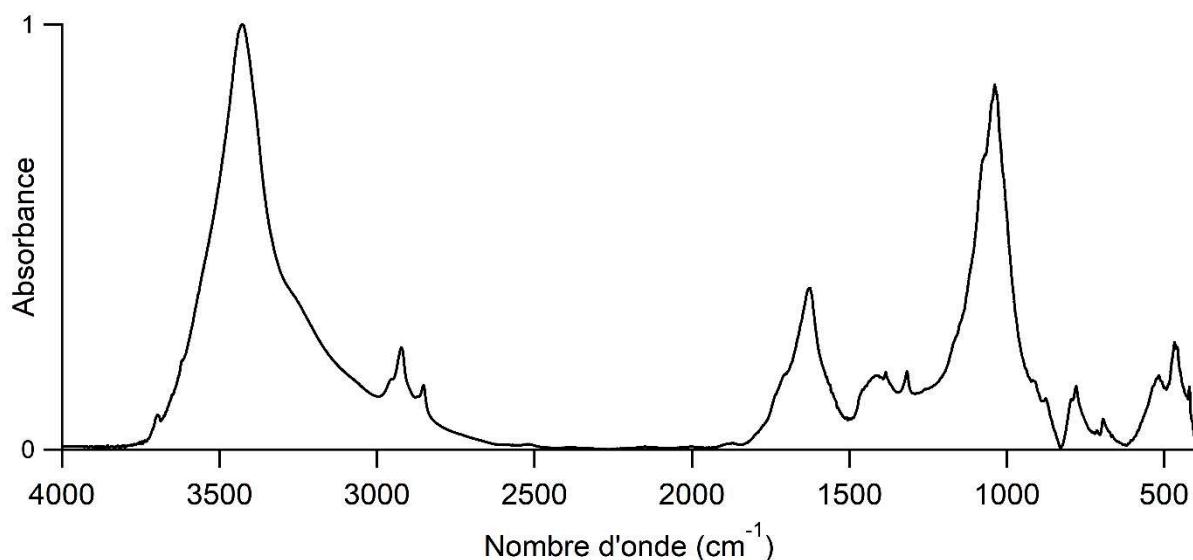
Prélèvement n°47 : Dessous du pied droit



Momie 90001265

Sexe	Masculin
Age	Adulte mature
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

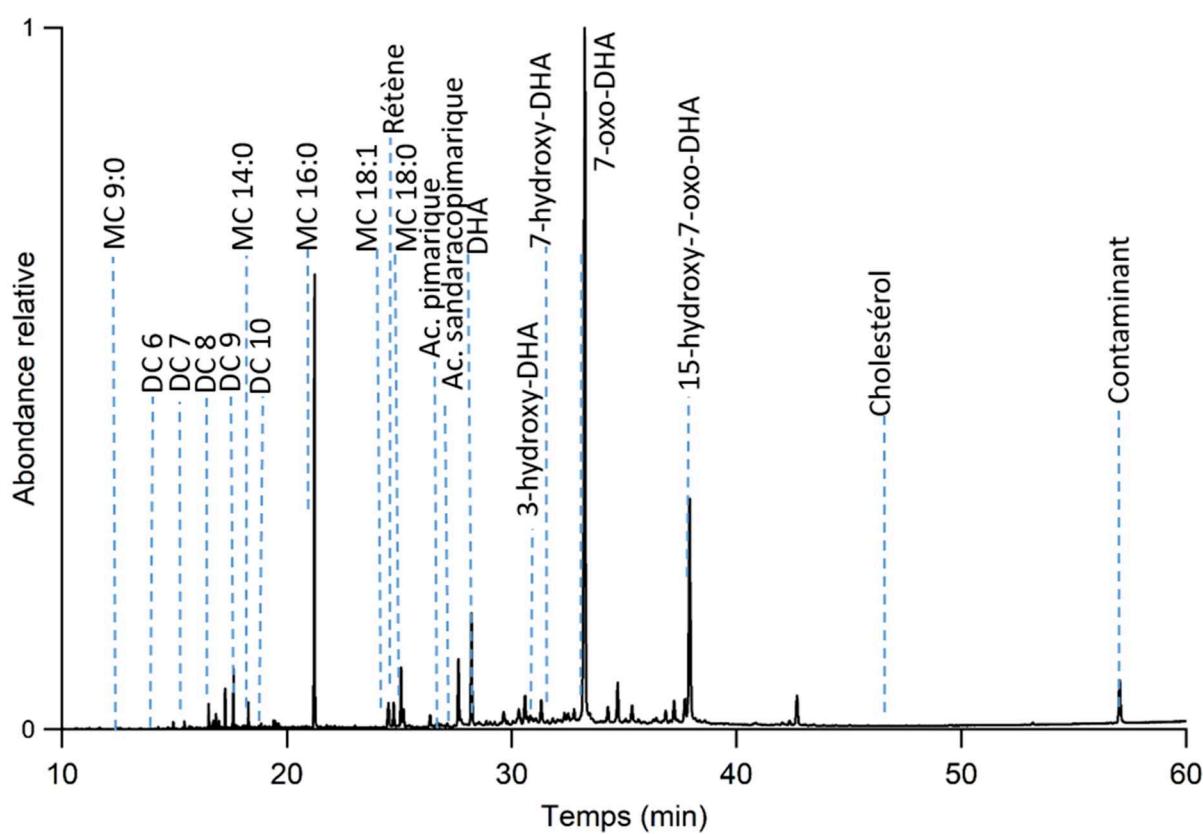
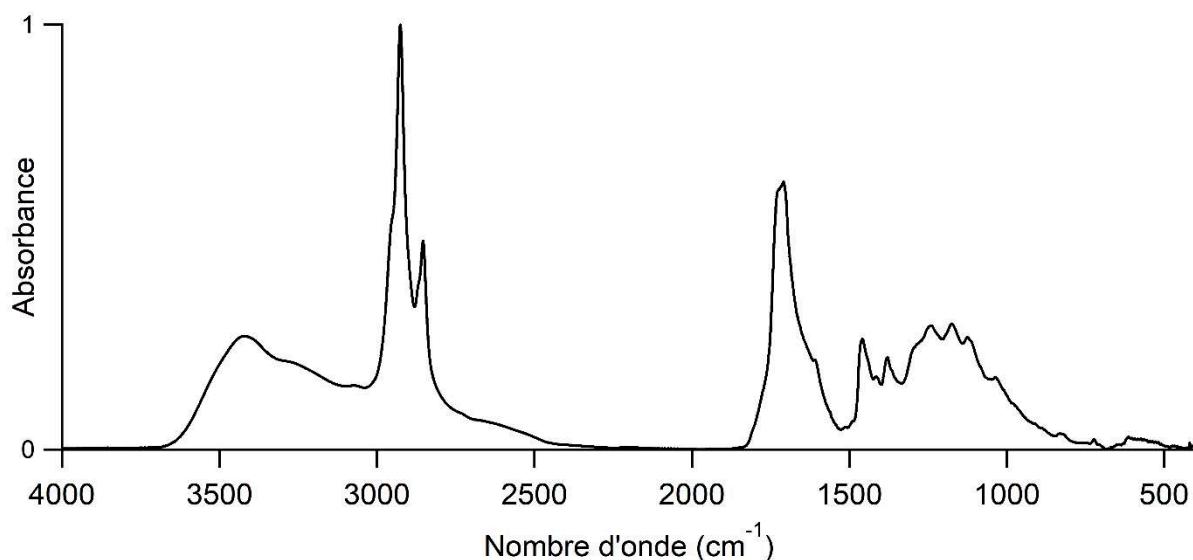
Prélèvement n°48 : Pied gauche, baume sur textile



Momie 90001598

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Nouvel Empire

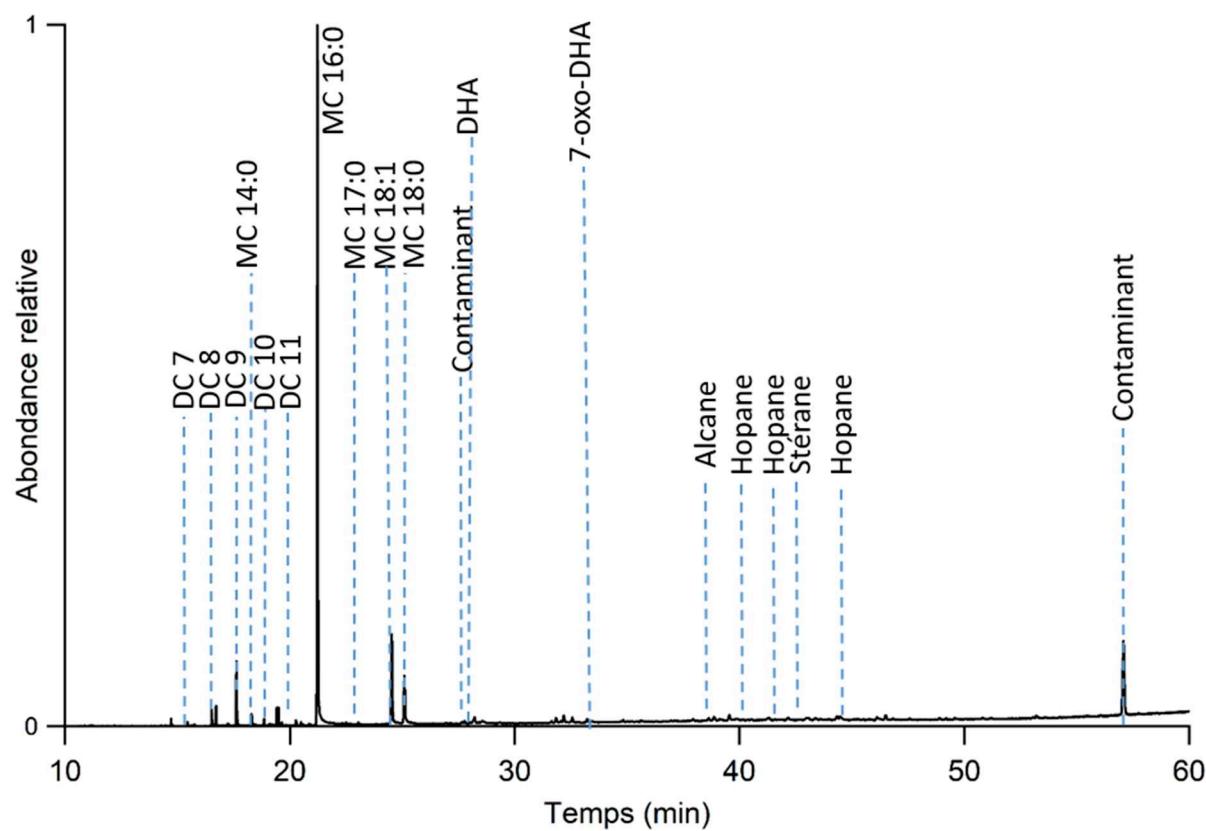
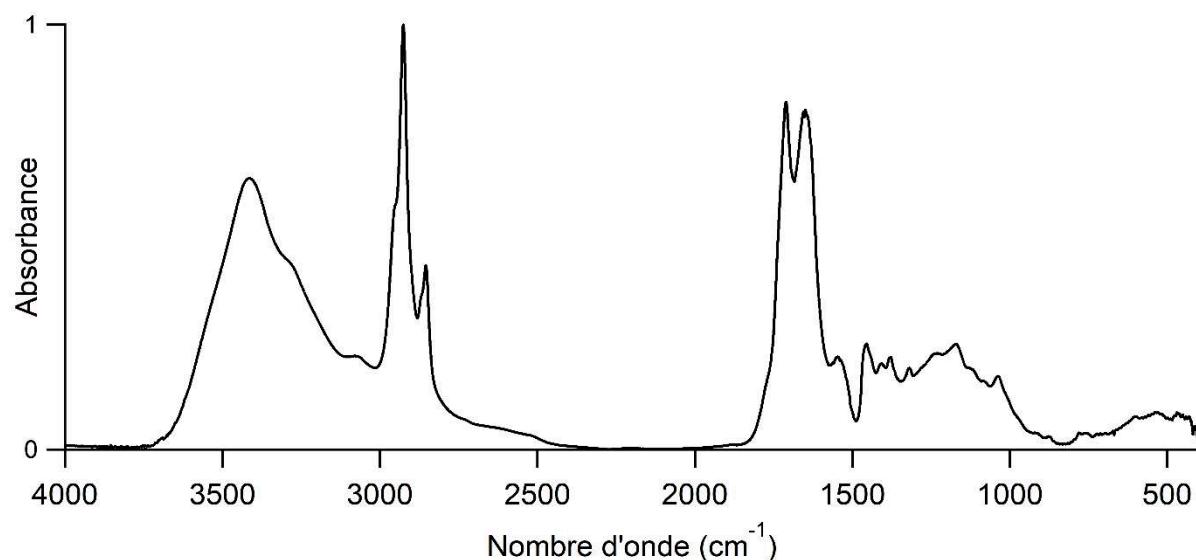
Prélèvement n°53 : Clavicule droite en haut du thorax



Momie 900001626

Sexe	Indéterminé
Age	Enfant
Localisation géographique	Rôda
Période historique	Non renseignée

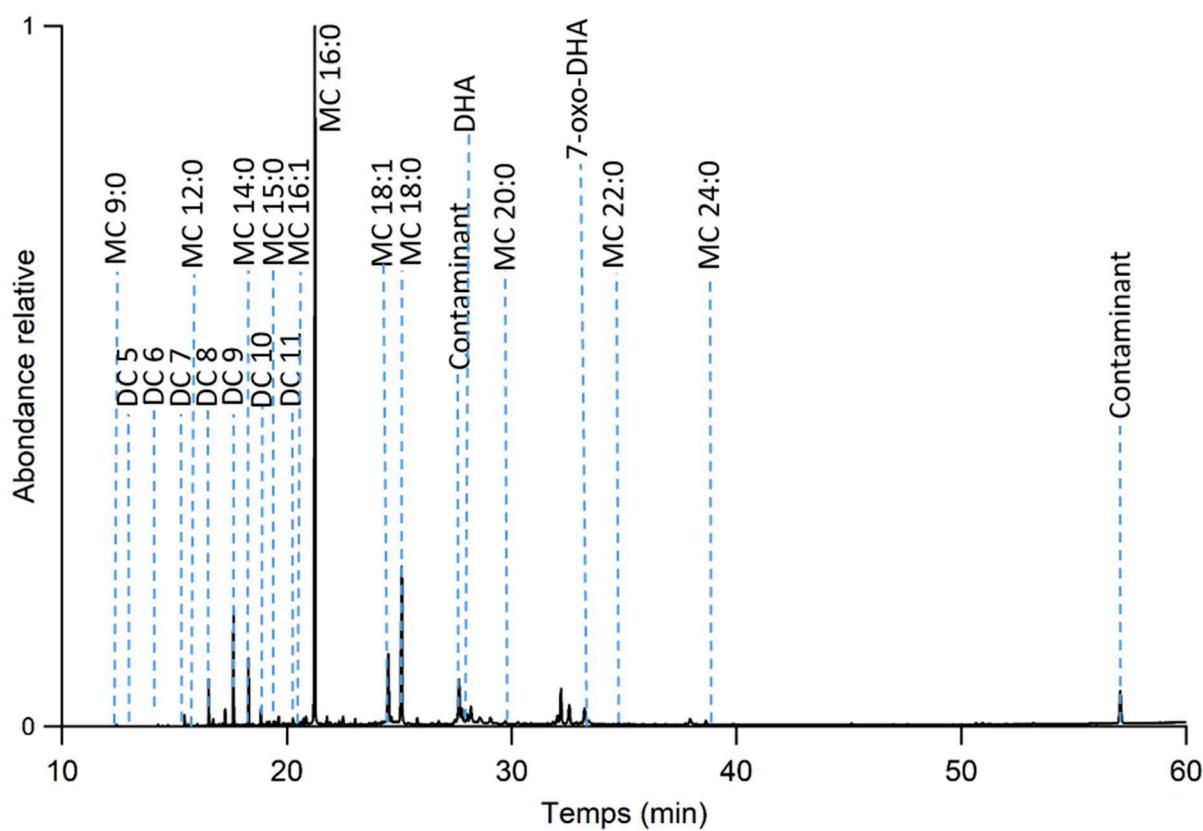
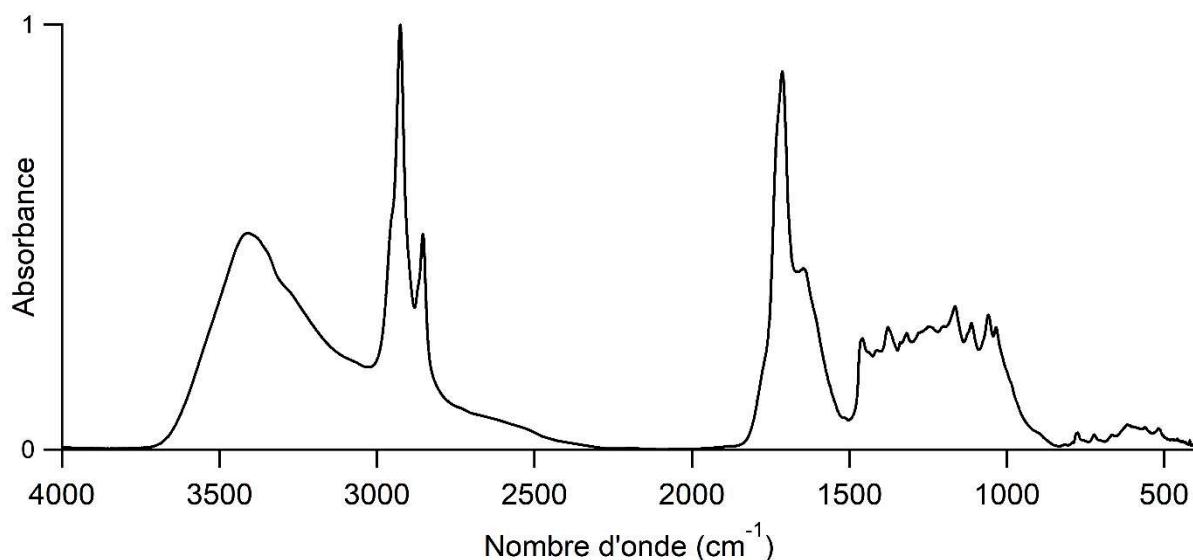
Prélèvement n°59 : Col du fémur



Momie 90002978A

Sexe	Masculin
Age	Adulte mature
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseignée

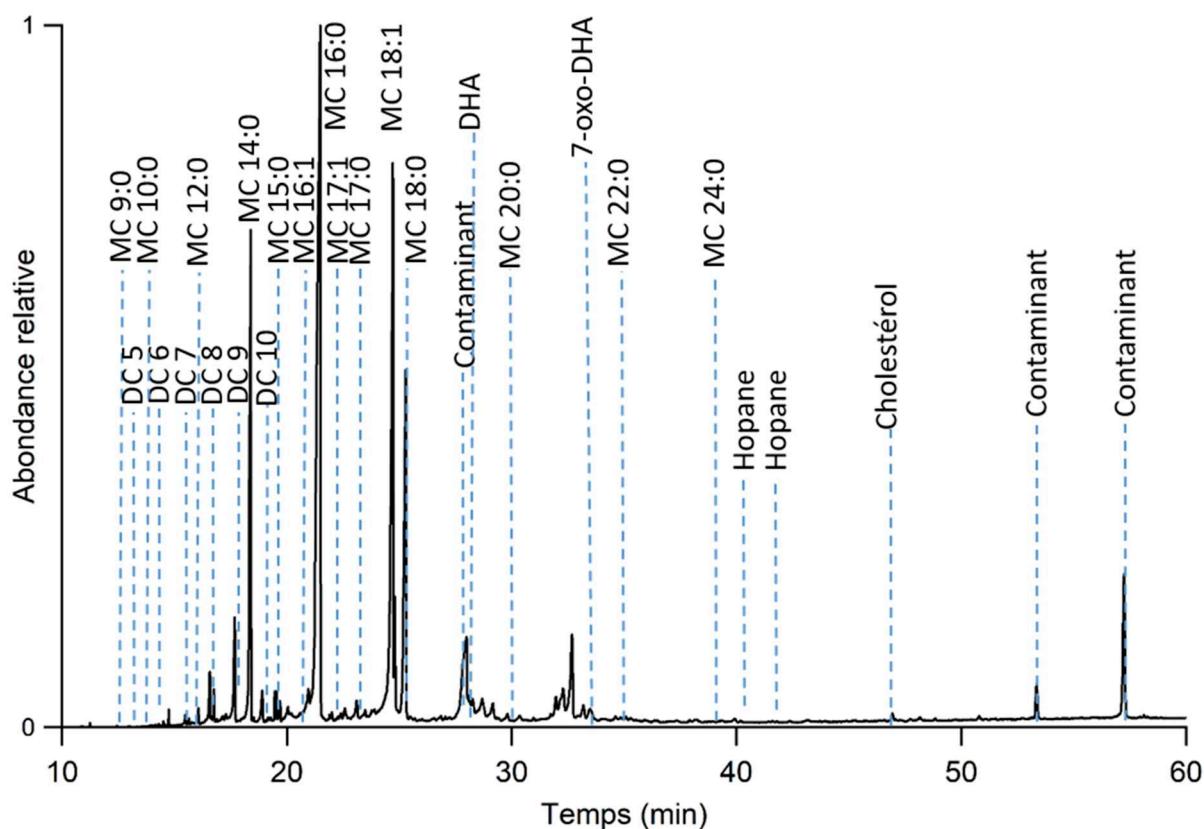
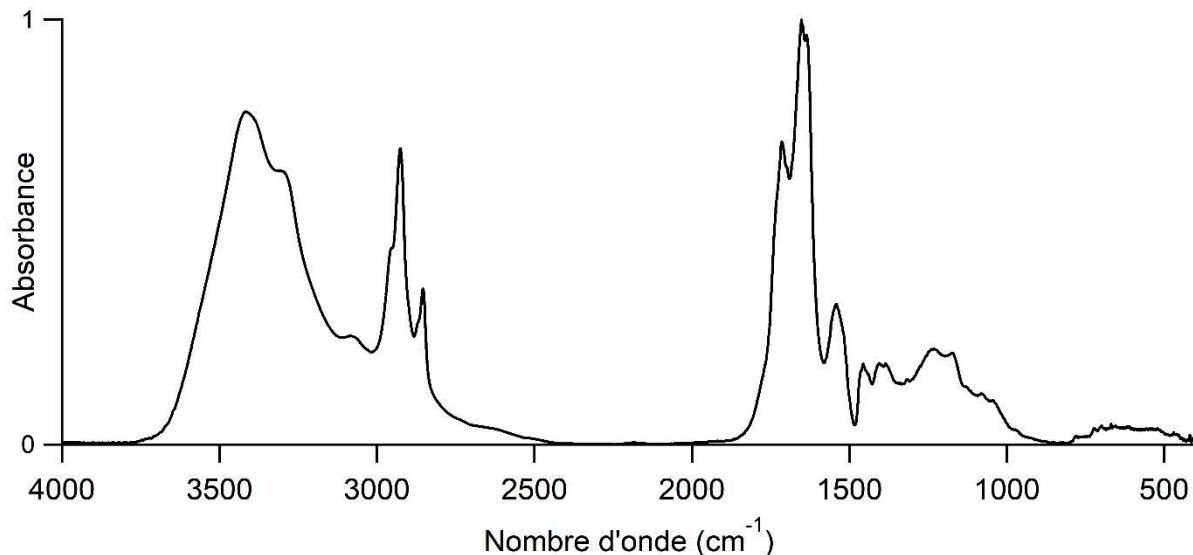
Prélèvement n°60 : Tête



Momie 90001627

Sexe	Indéterminé
Age	Enfant
Localisation géographique	Rôda
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

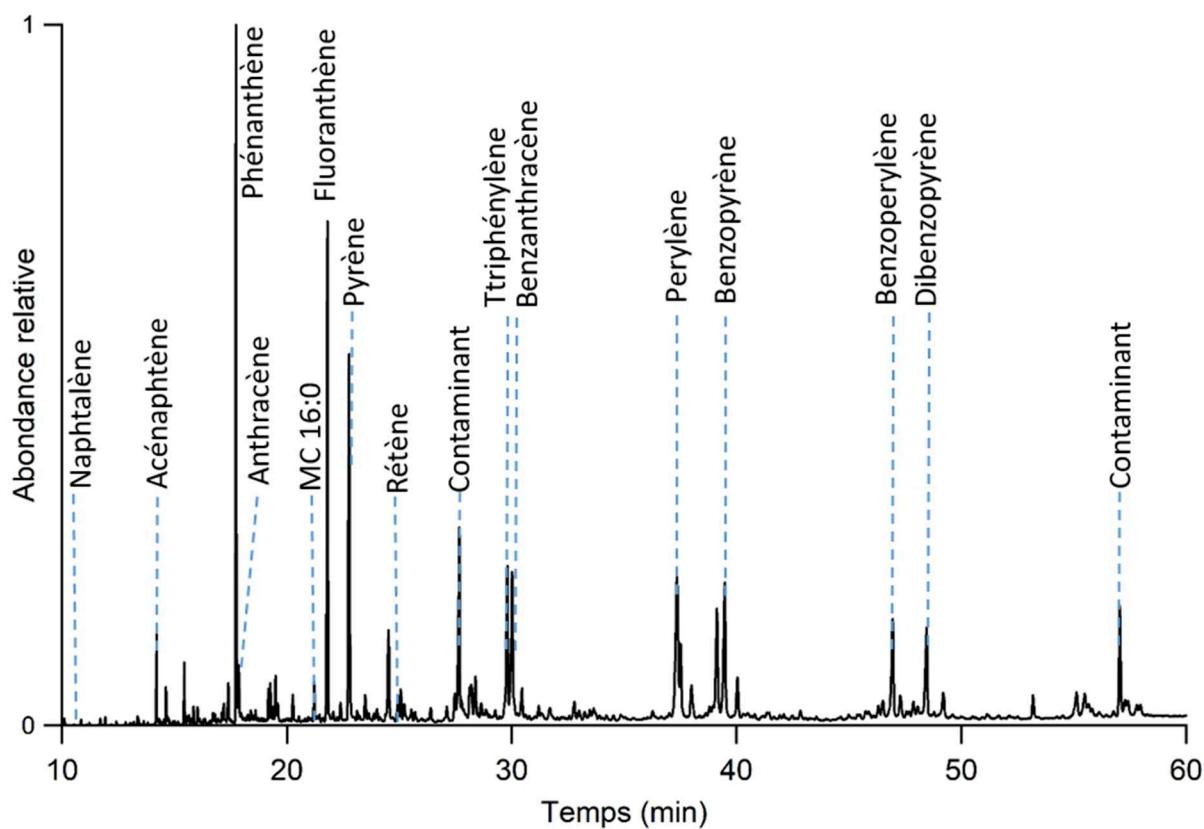
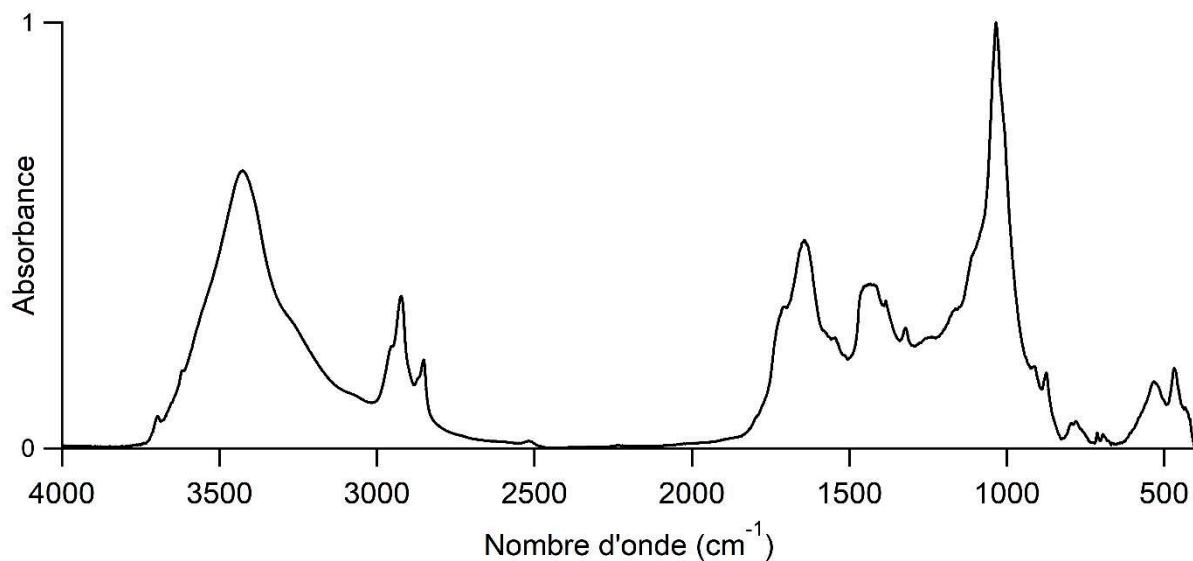
Prélèvement n°61 : Interne près de l'acétabulum gauche



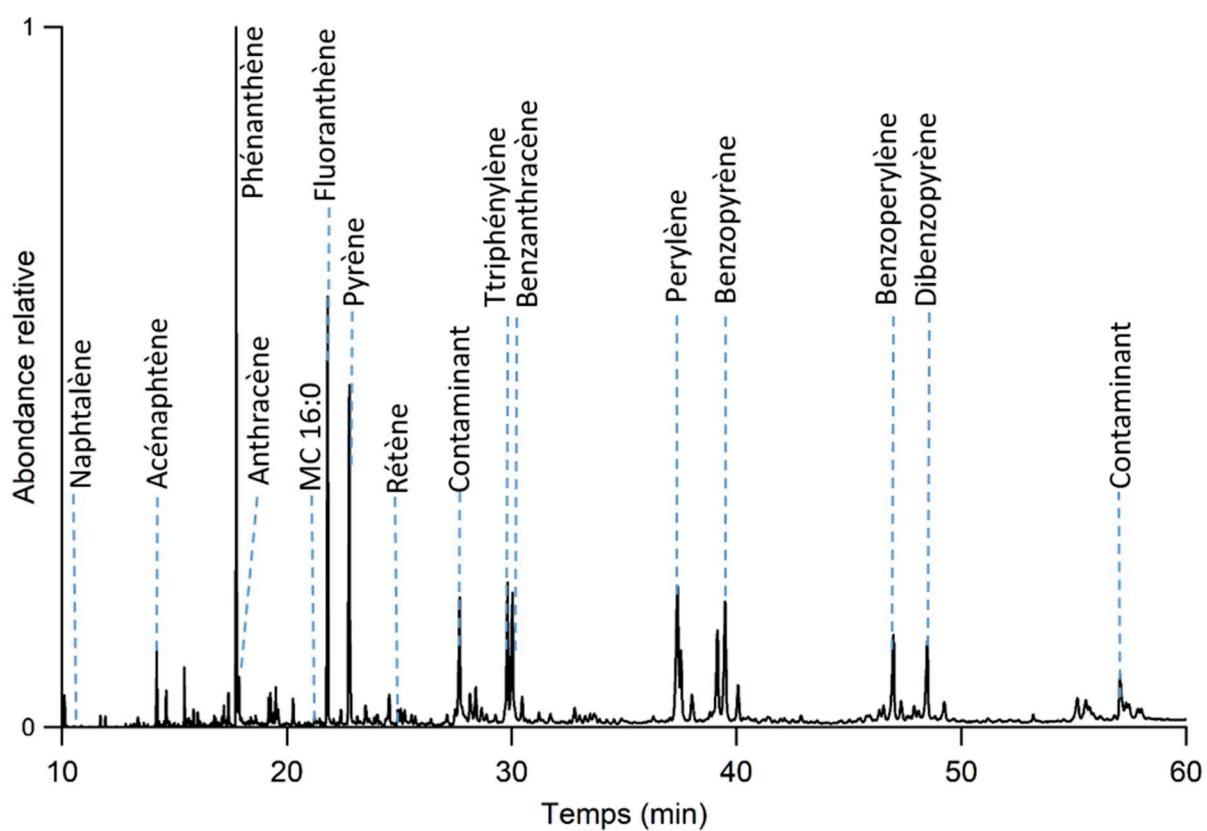
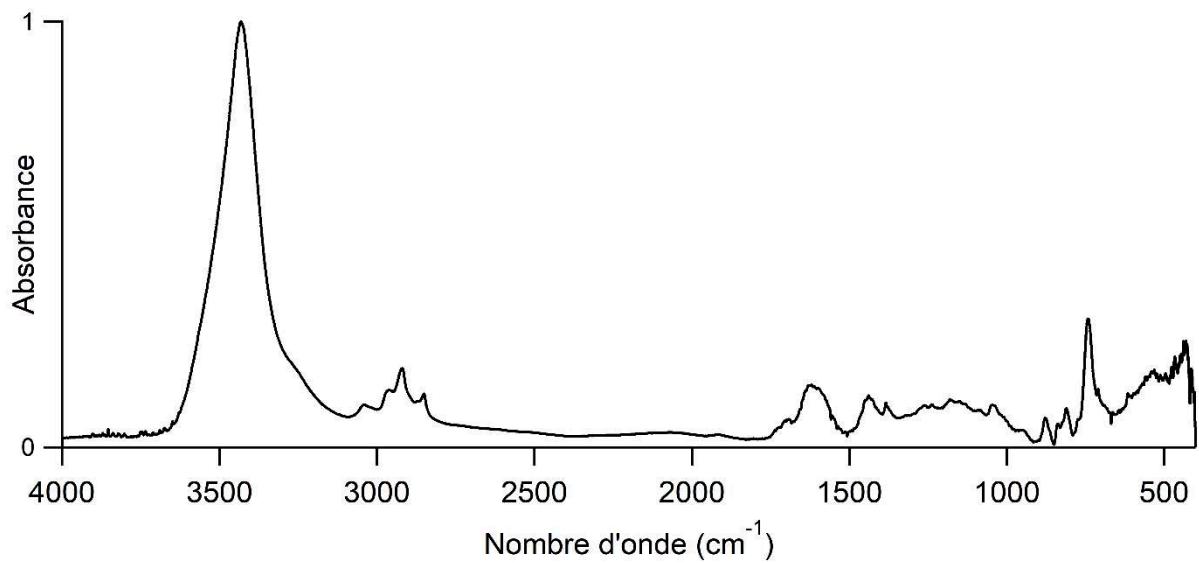
Momie 90001948A

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Fin Nouvel Empire à Troisième Période Intermédiaire

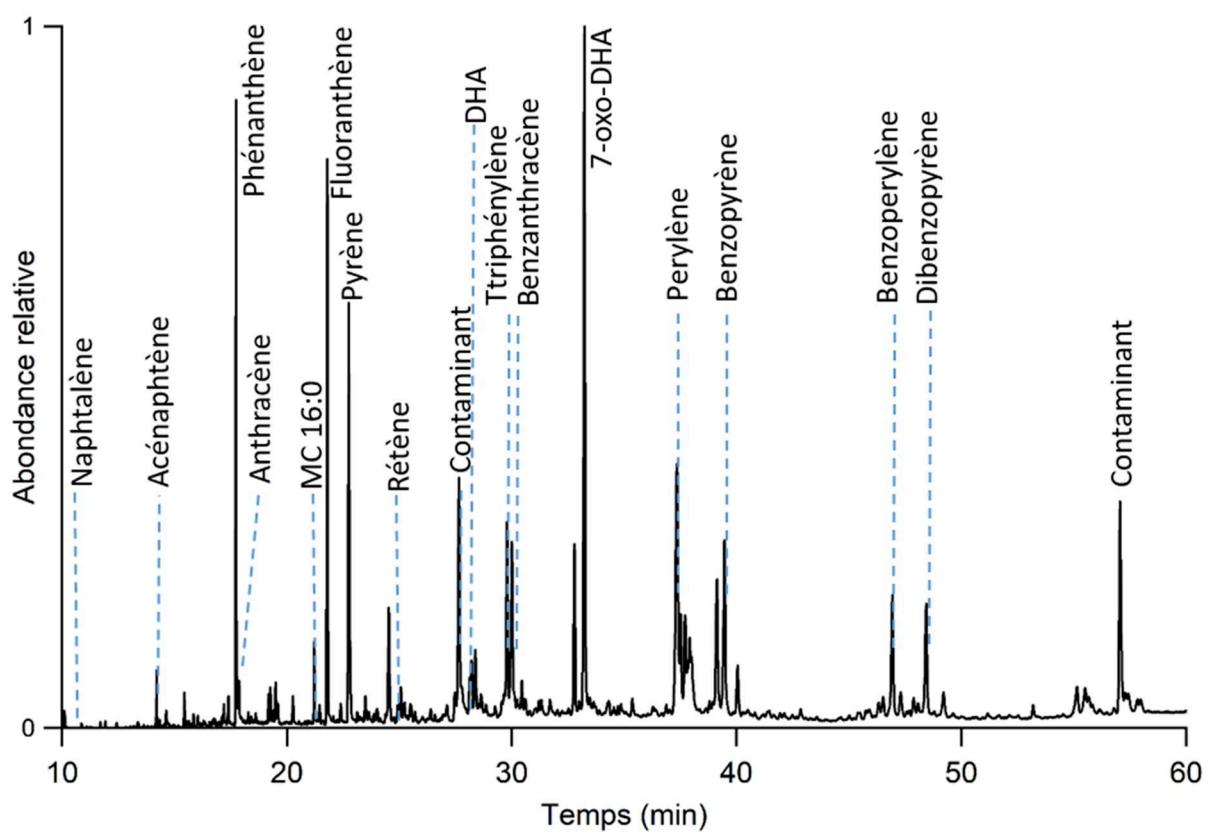
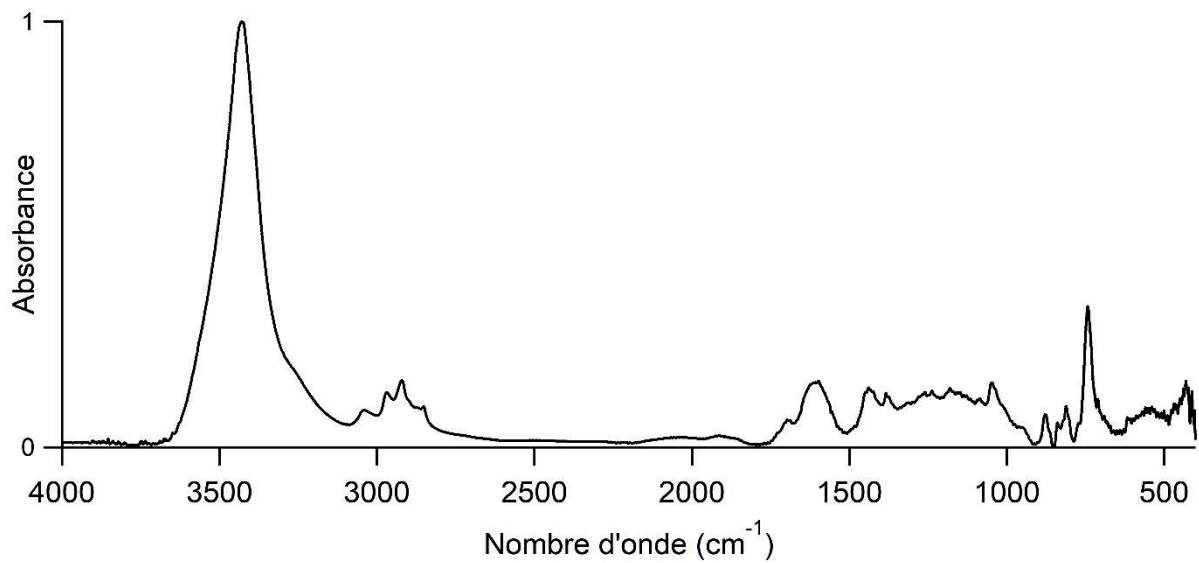
Prélèvement n°44 : Tête



Prélèvement n°45 : Morceau détaché



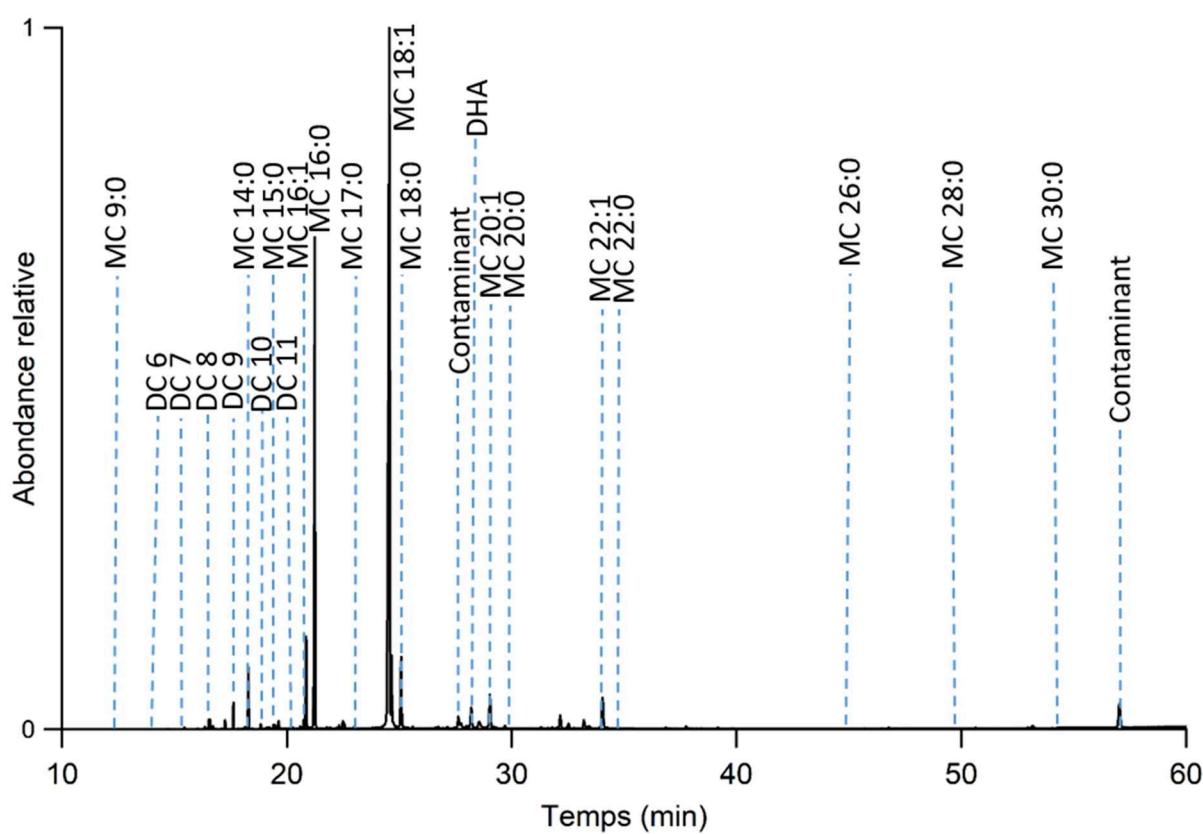
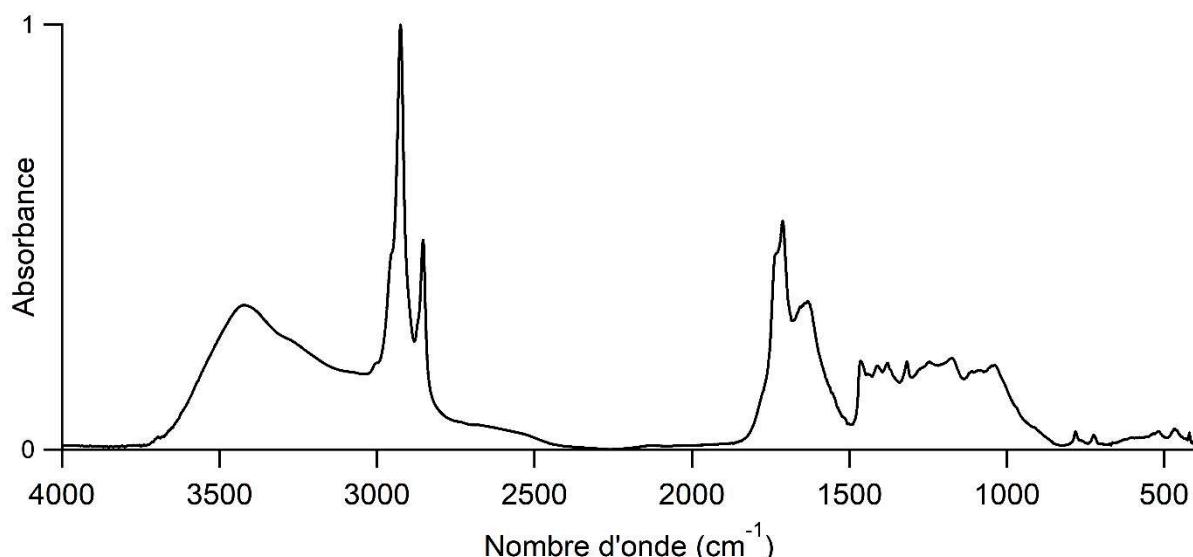
Prélèvement n°46 : Arrière du crâne, base du cou



Momie 90001949A

Sexe	Féminin
Age	Agée
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Époque Romaine

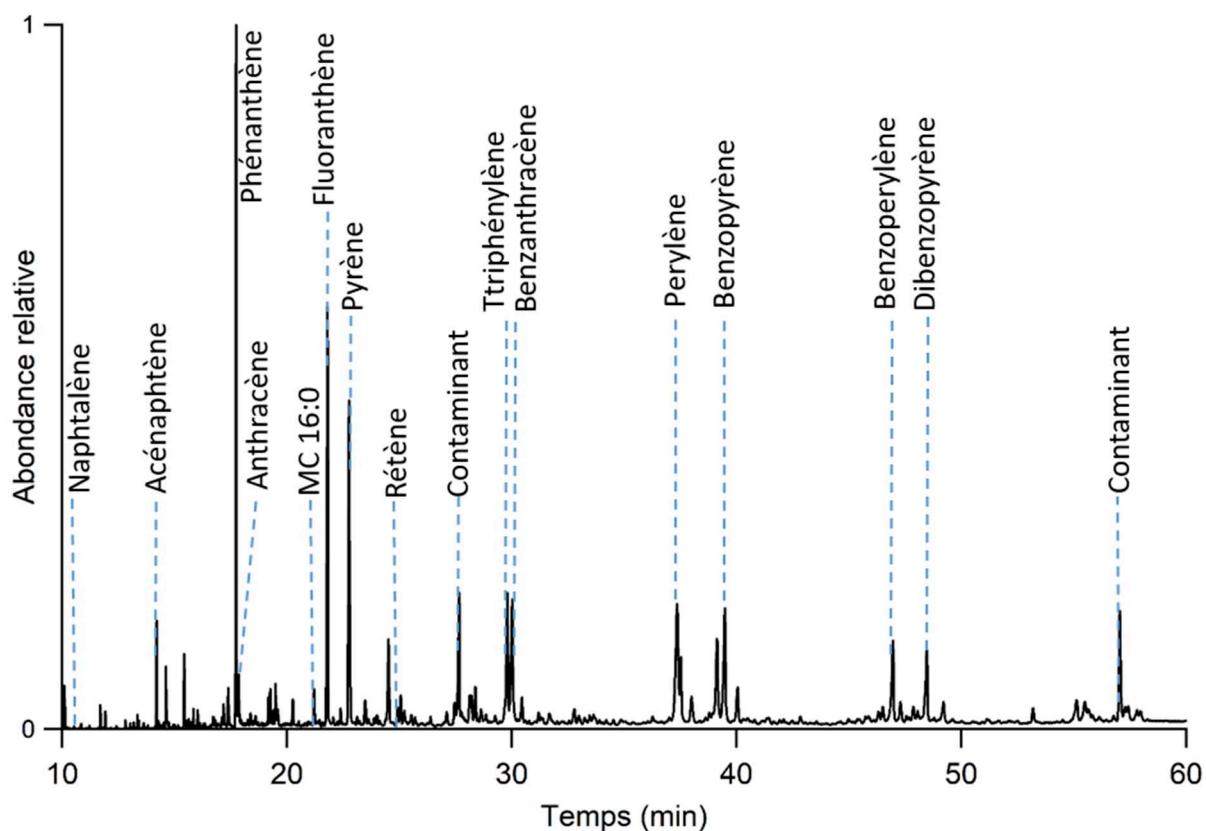
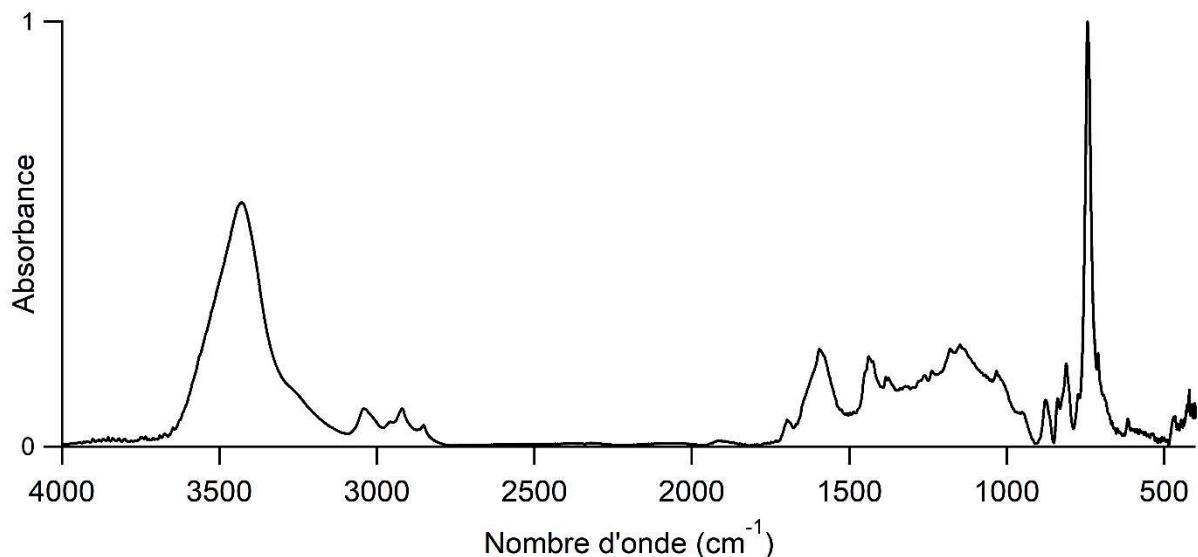
Prélèvement n°49 : Coin de la mandibule à droite



Momie 90001950A

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Basse Époque à Époque Ptolémaïque

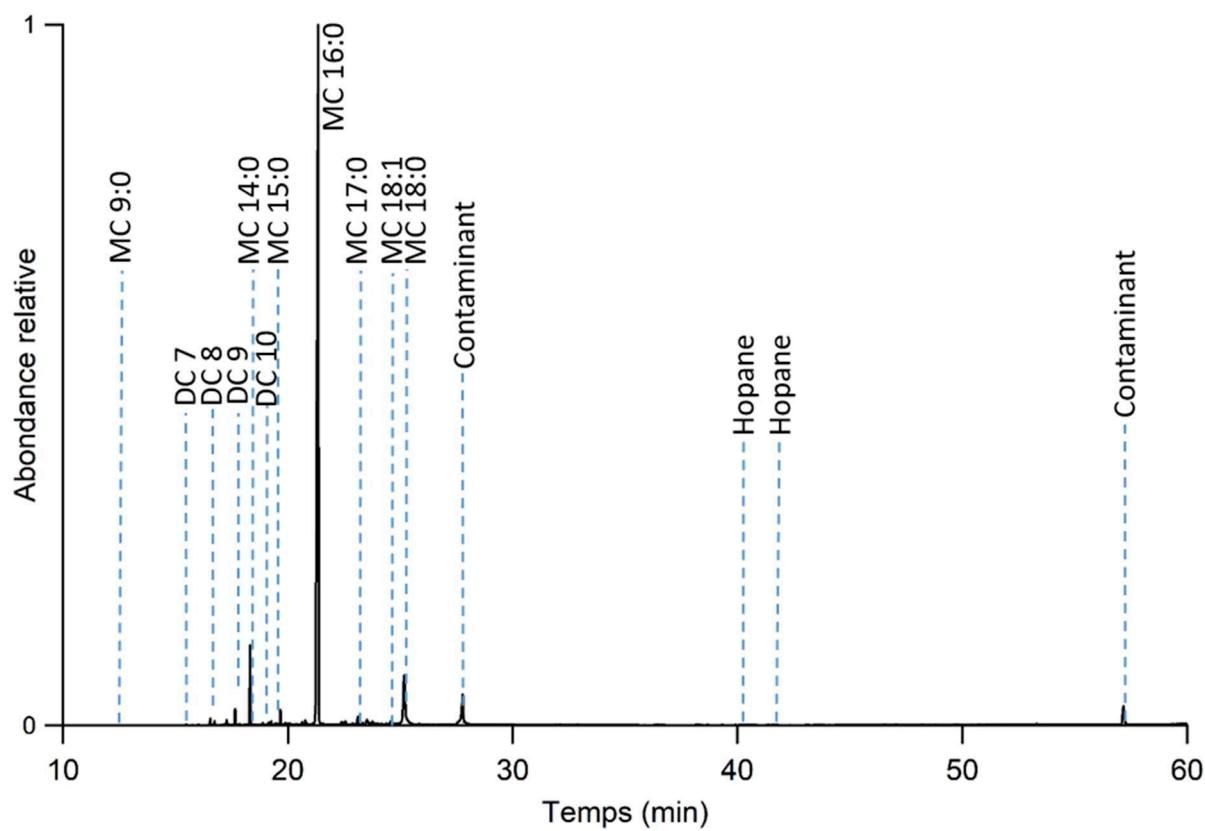
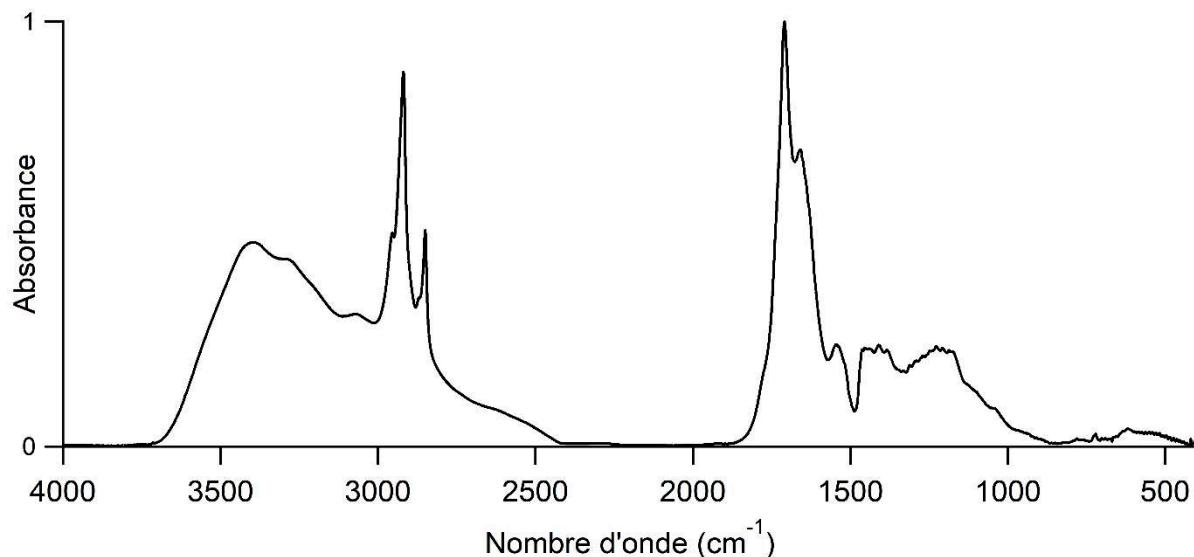
Prélèvement n°52 : Côté droit du crâne



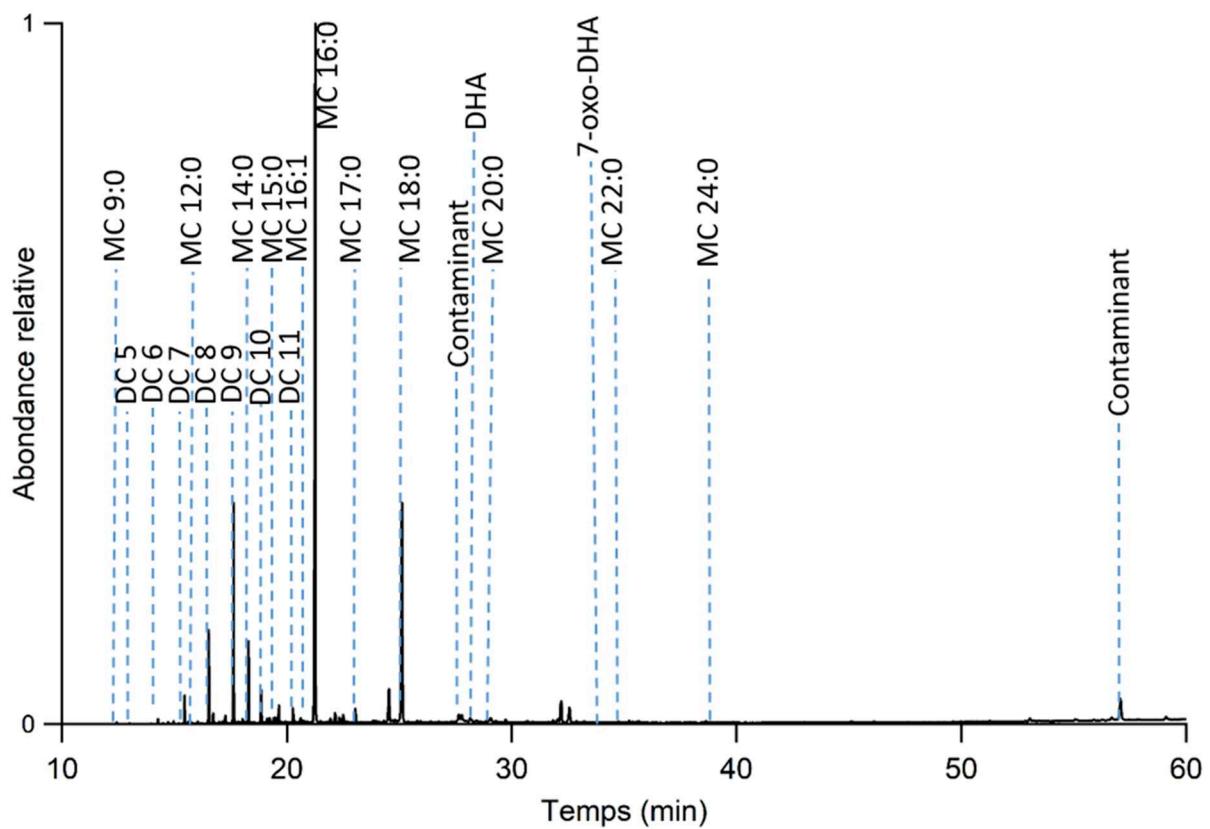
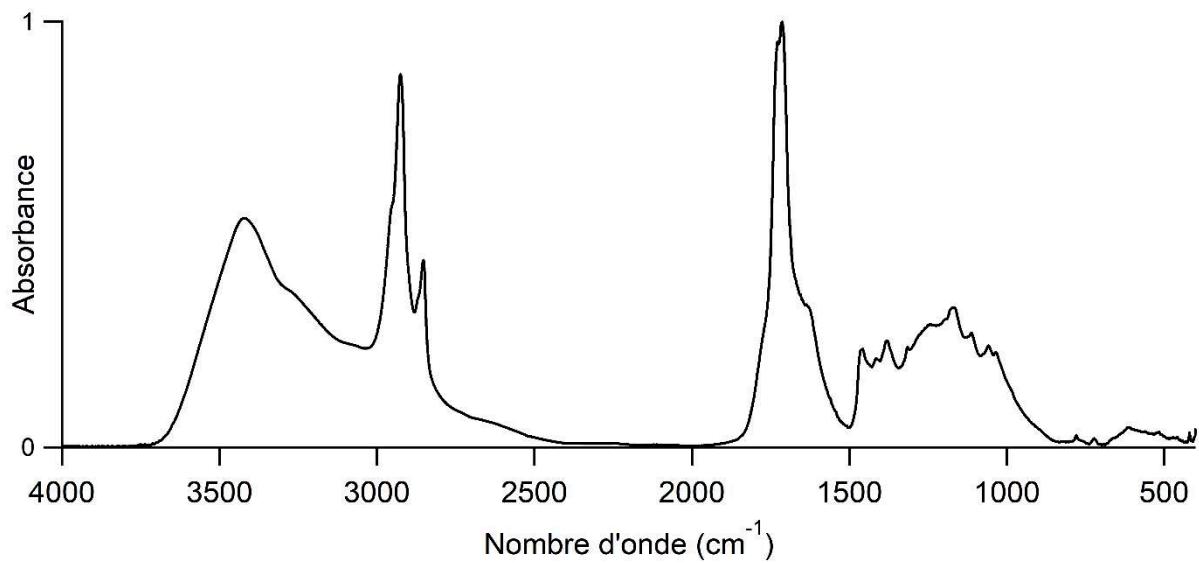
Momie 90001951A

Sexe	Indéterminé
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseignée

Prélèvement n°50 : Sous l'oreille gauche



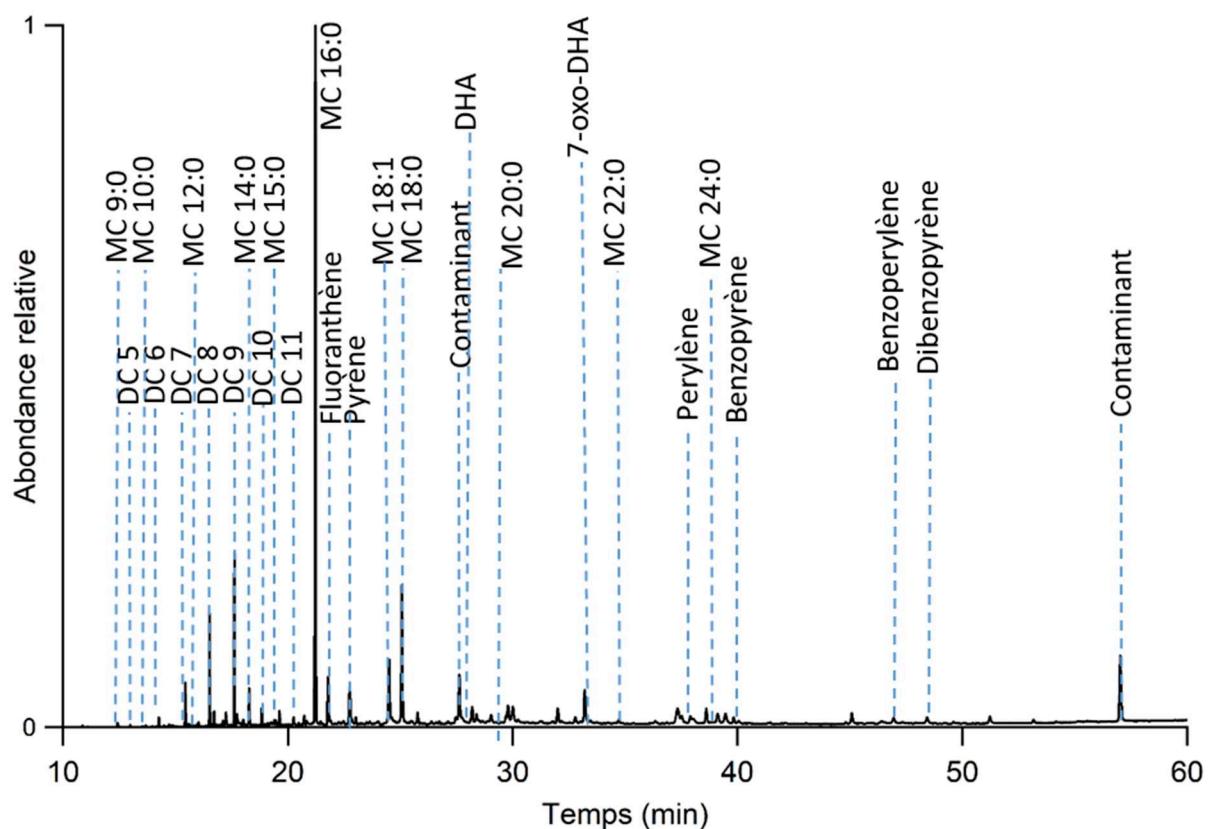
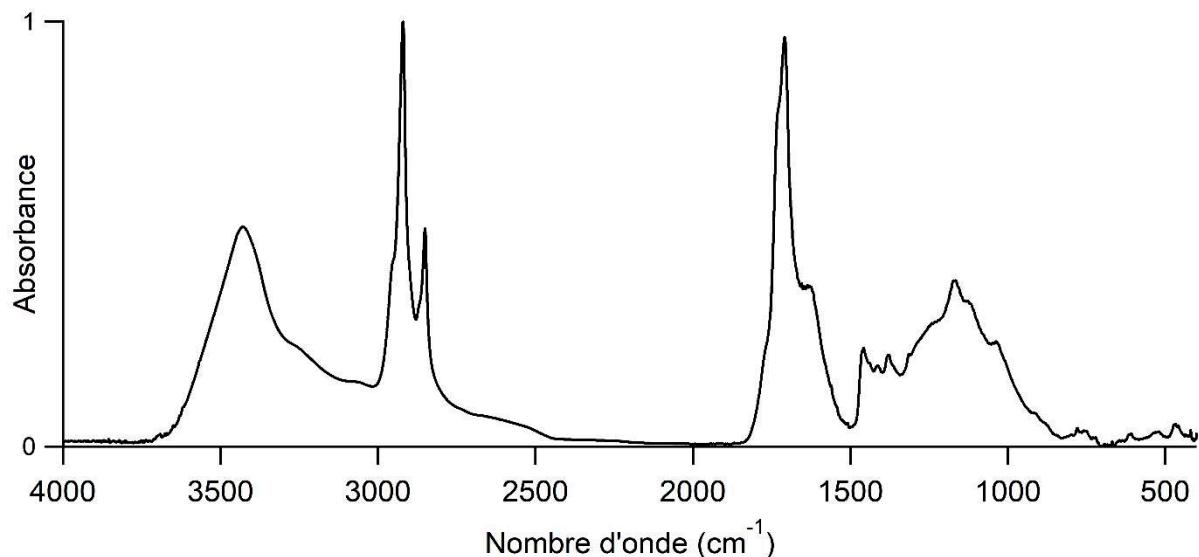
Prélèvement n°51 : Derrière la mandibule gauche



Momie 90001953A

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Nouvel Empire à Troisième Période Intermédiaire

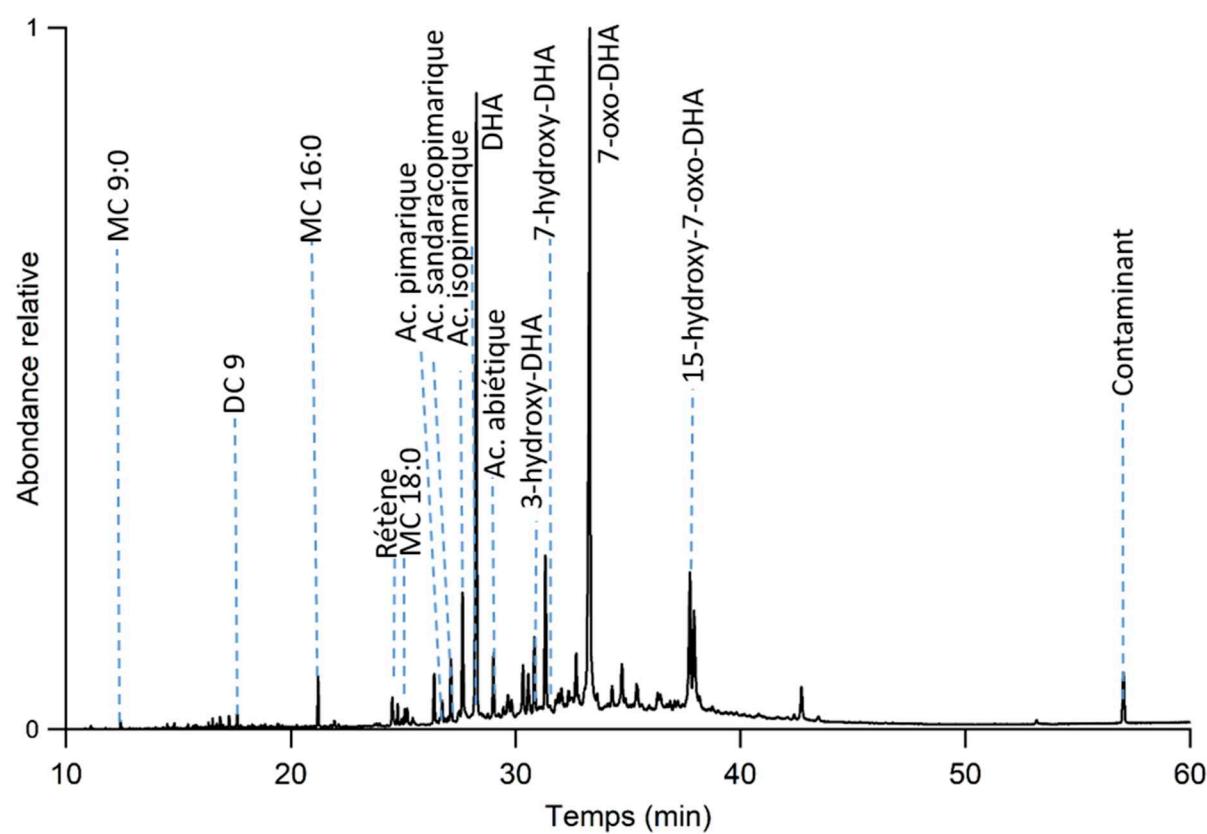
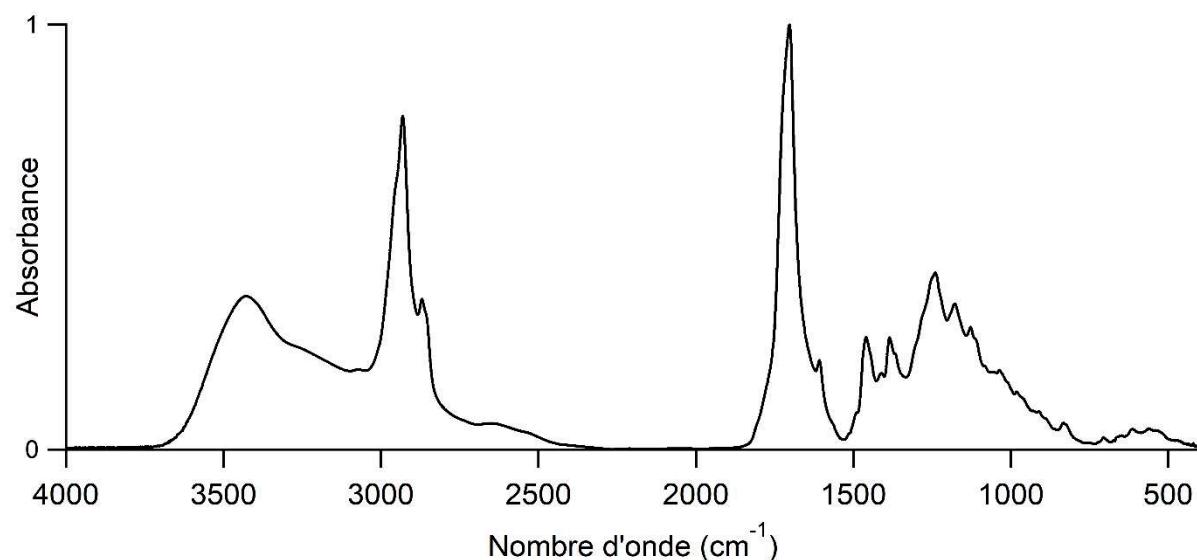
Prélèvement n°58 : Endocrânien



Momie 90001954A

Sexe	Indéterminé
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Époque Ptolémaïque à période Romaine

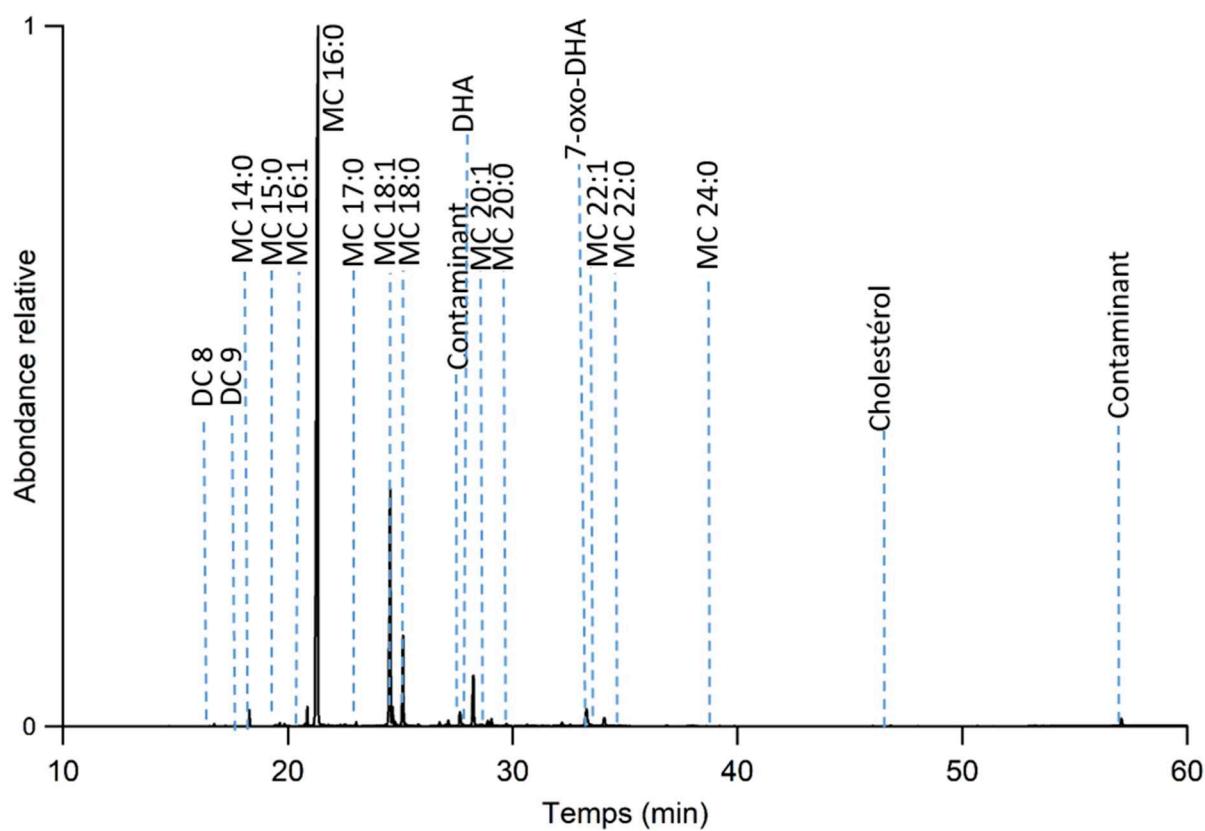
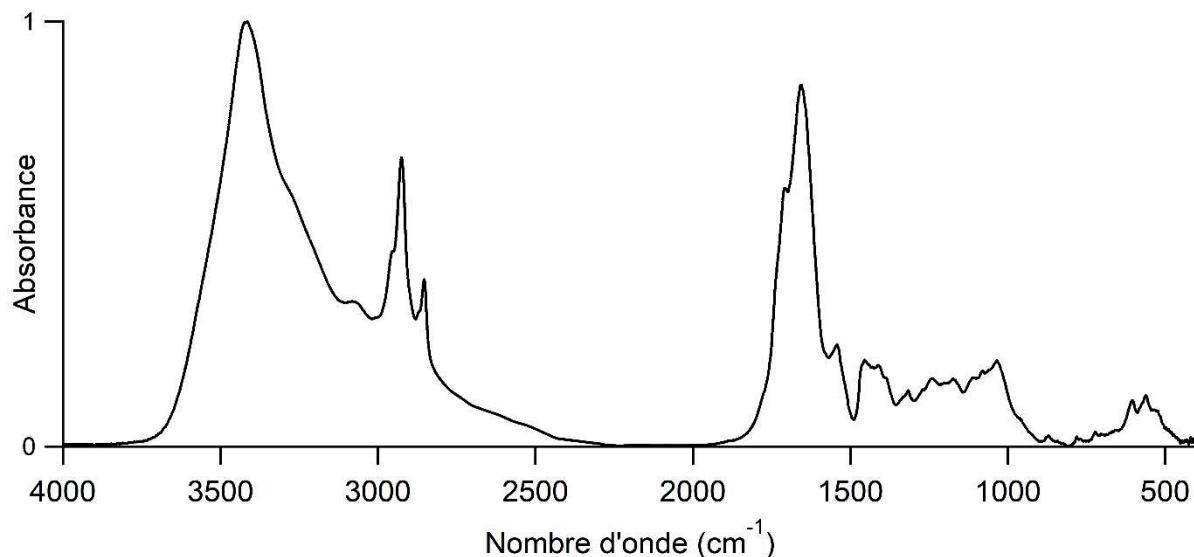
Prélèvement n°65 : Sous malaire gauche



Momie 90001955A

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseignée

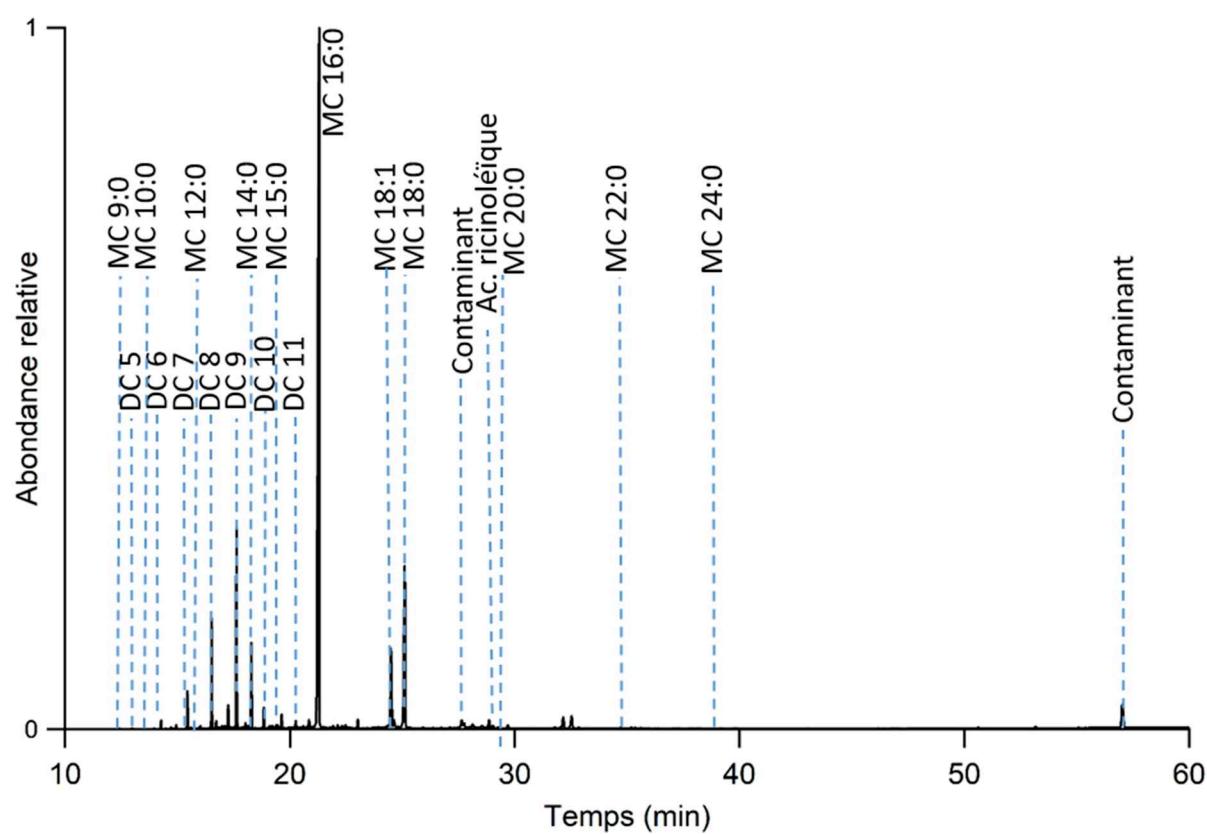
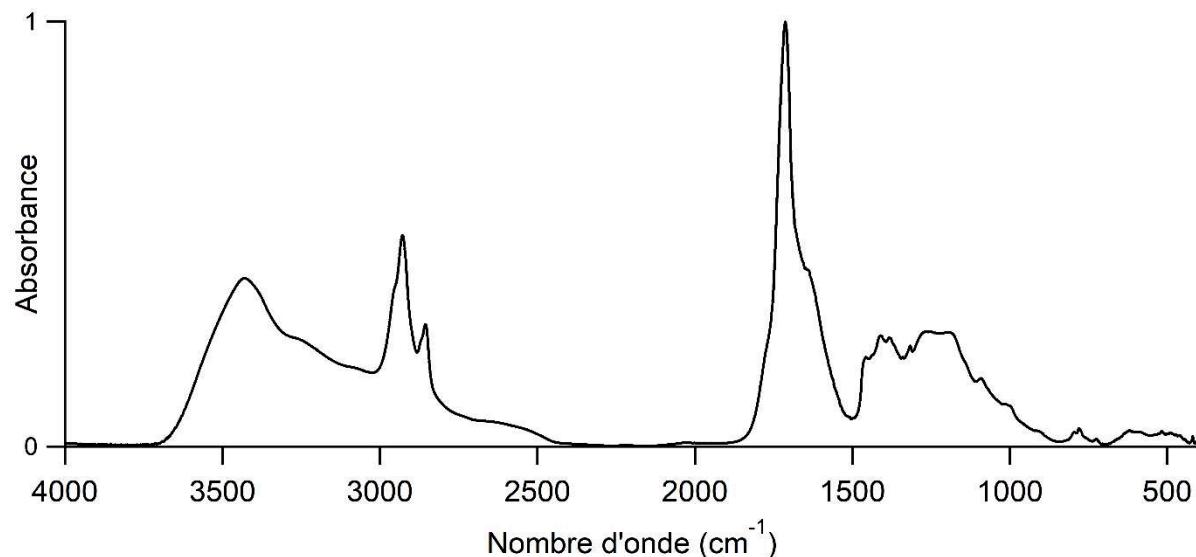
Prélèvement n°64 : Base du crâne en interne



Momie 90001956A

Sexe	Féminin
Age	Jeune fille
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseigné

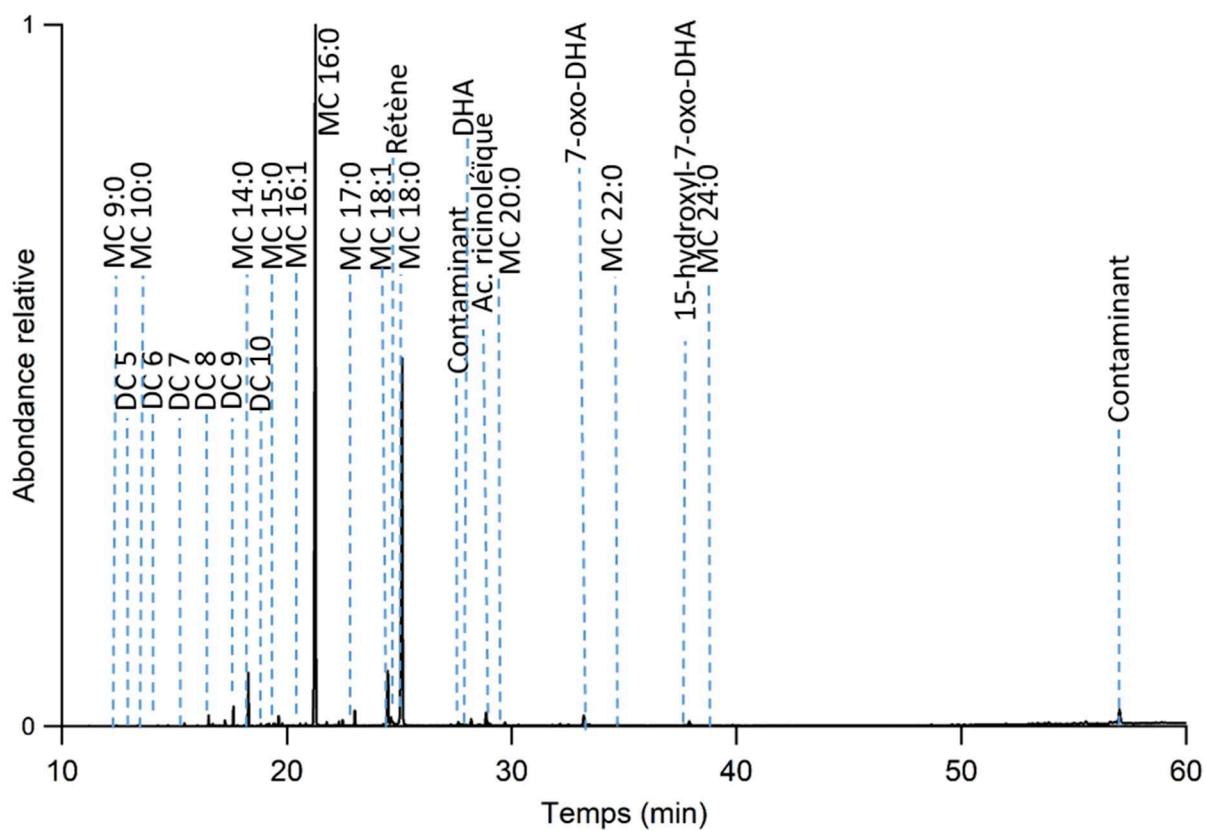
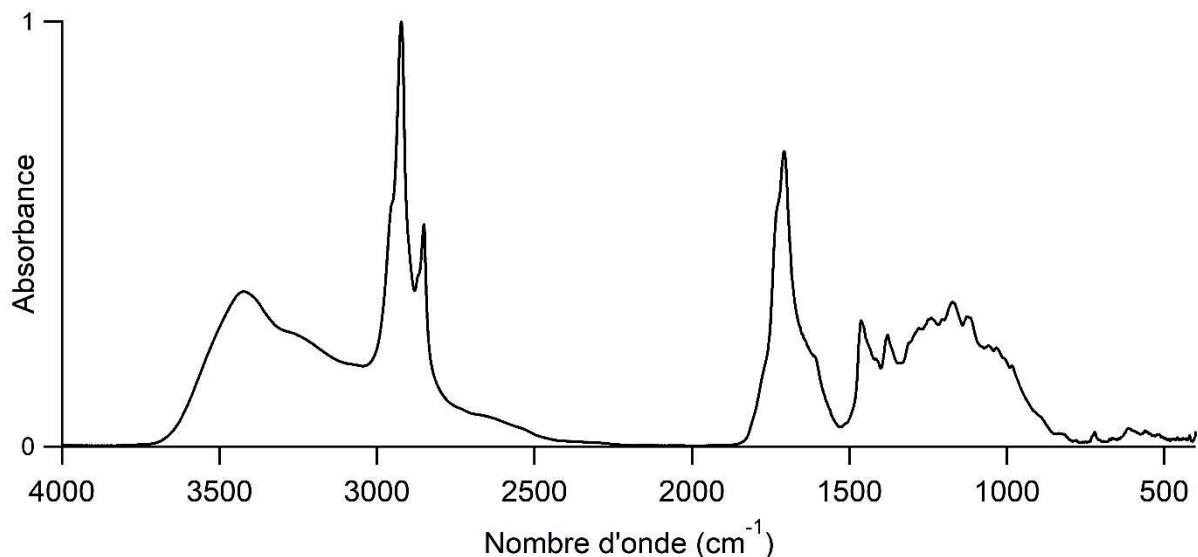
Prélèvement n°56 : Base du cou côté gauche



Momie 90001957A

Sexe	Indéterminé
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Troisième Période Intermédiaire à Basse Époque

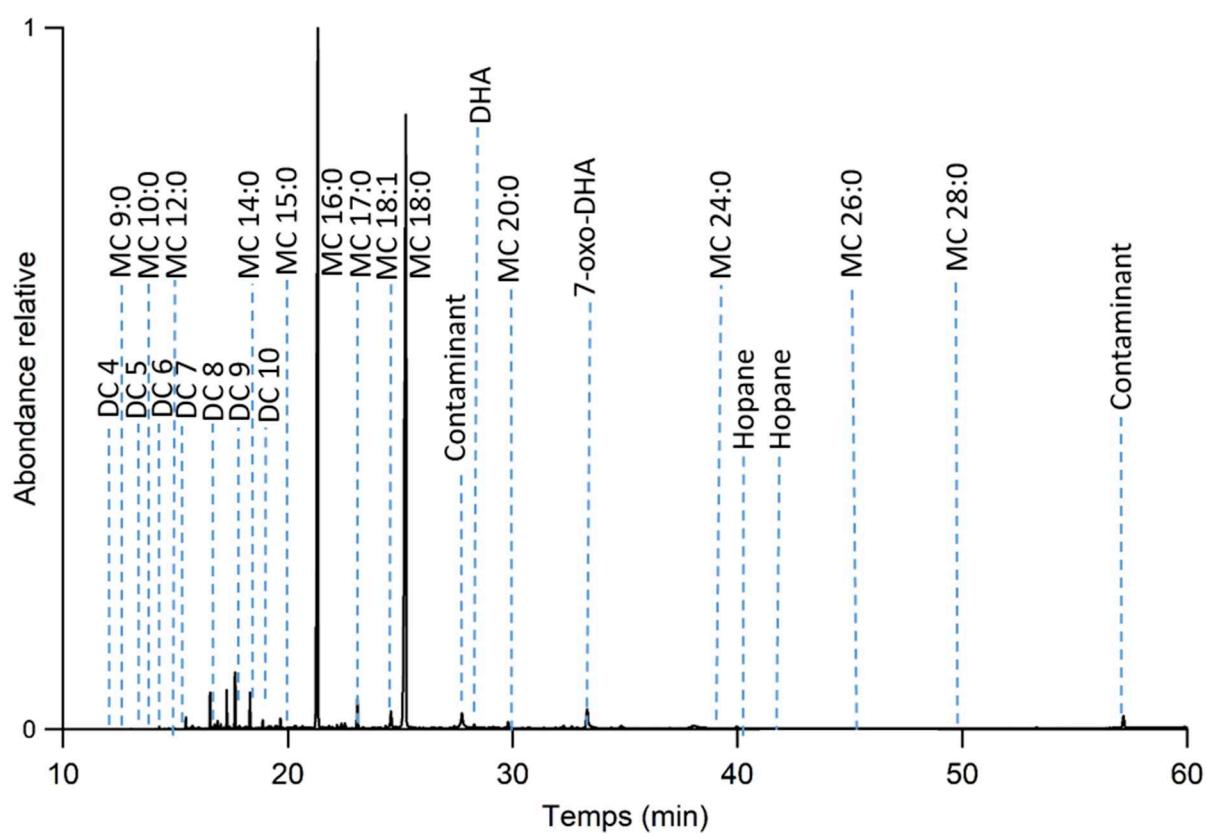
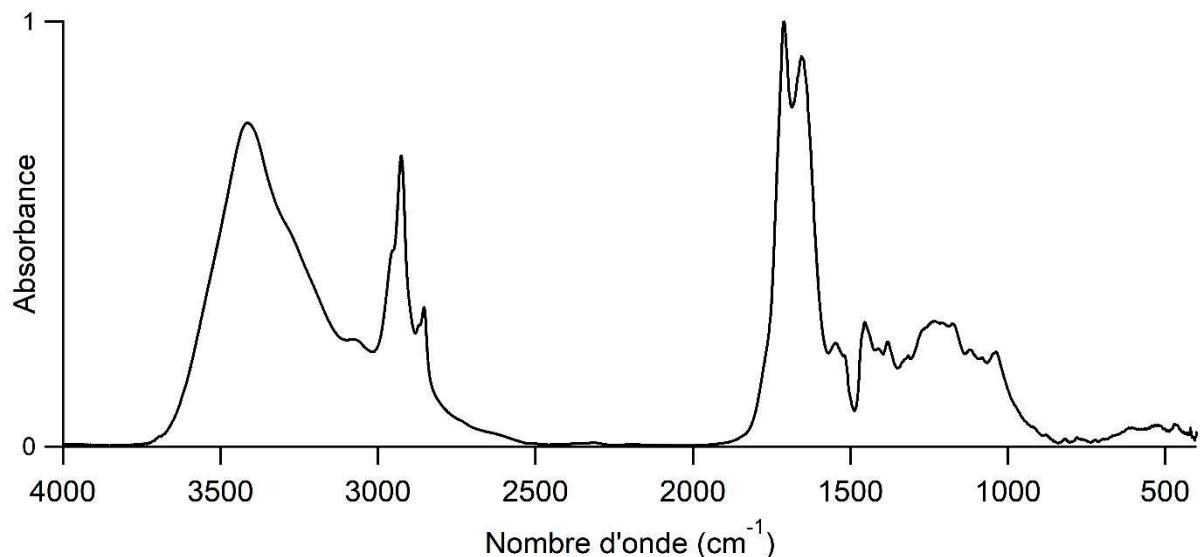
Prélèvement n°57 : Occipital gauche



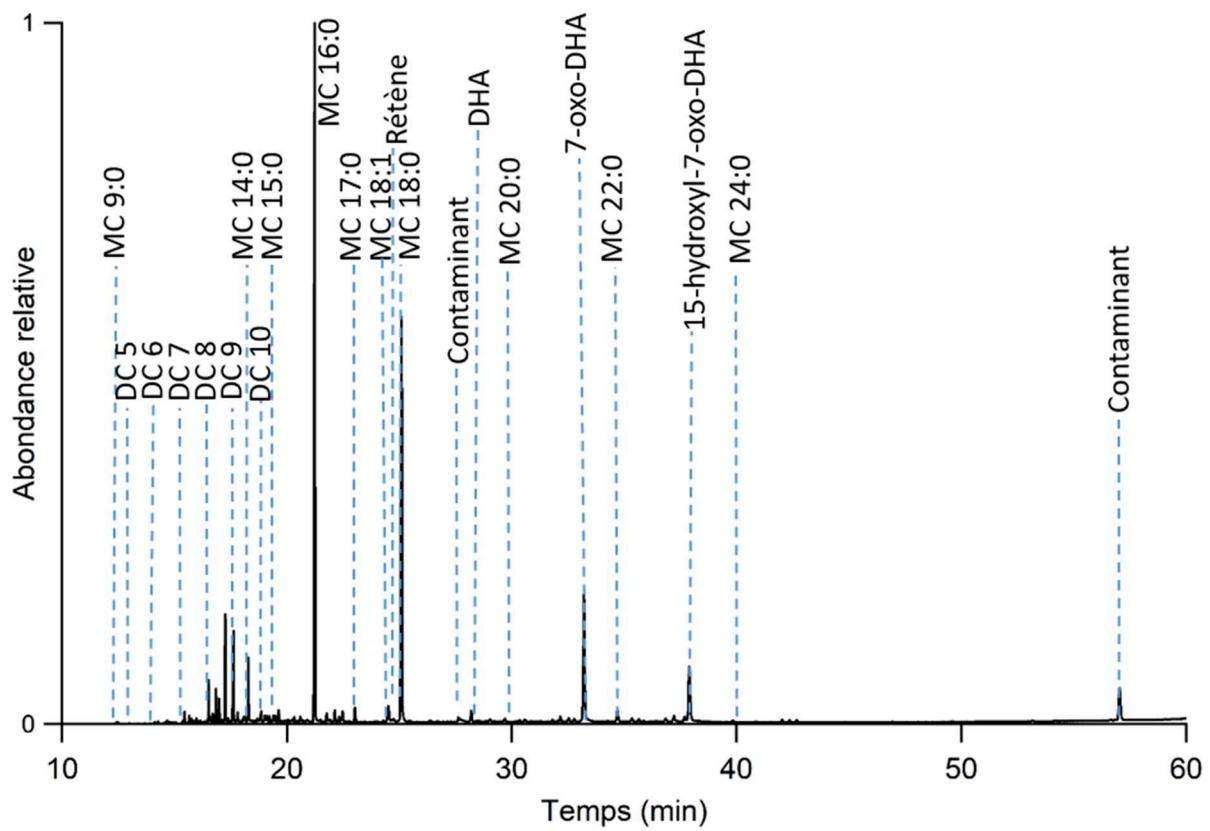
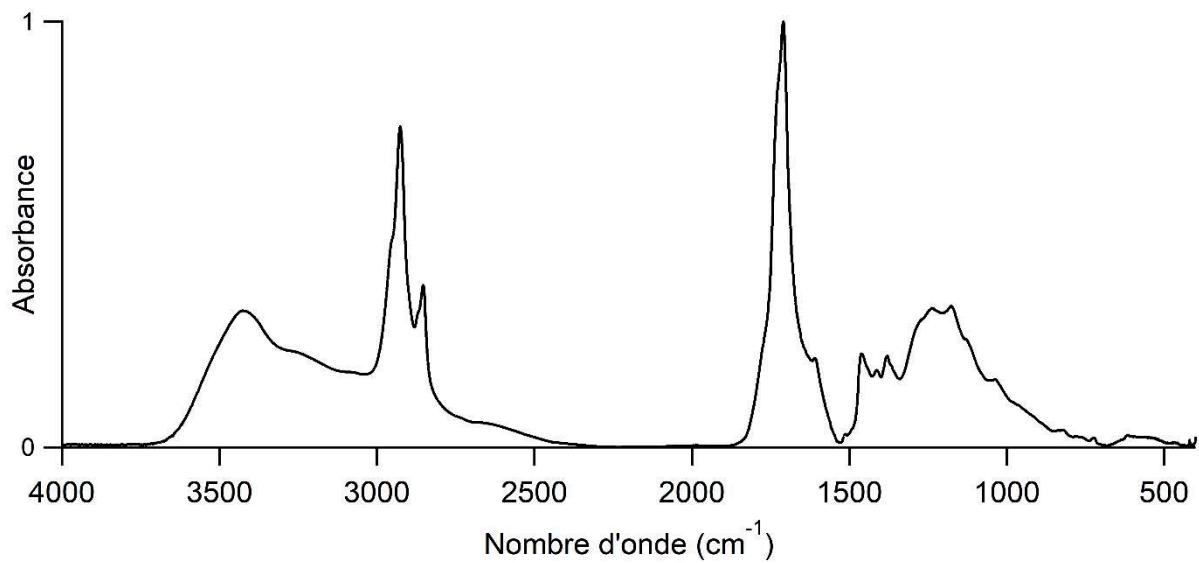
Momie 90001257

Sexe	Masculin
Age	Adulte
Localisation géographique	Gournah
Période historique	Non renseignée

Prélèvement n°43 : Intérieur du tampon abdominal



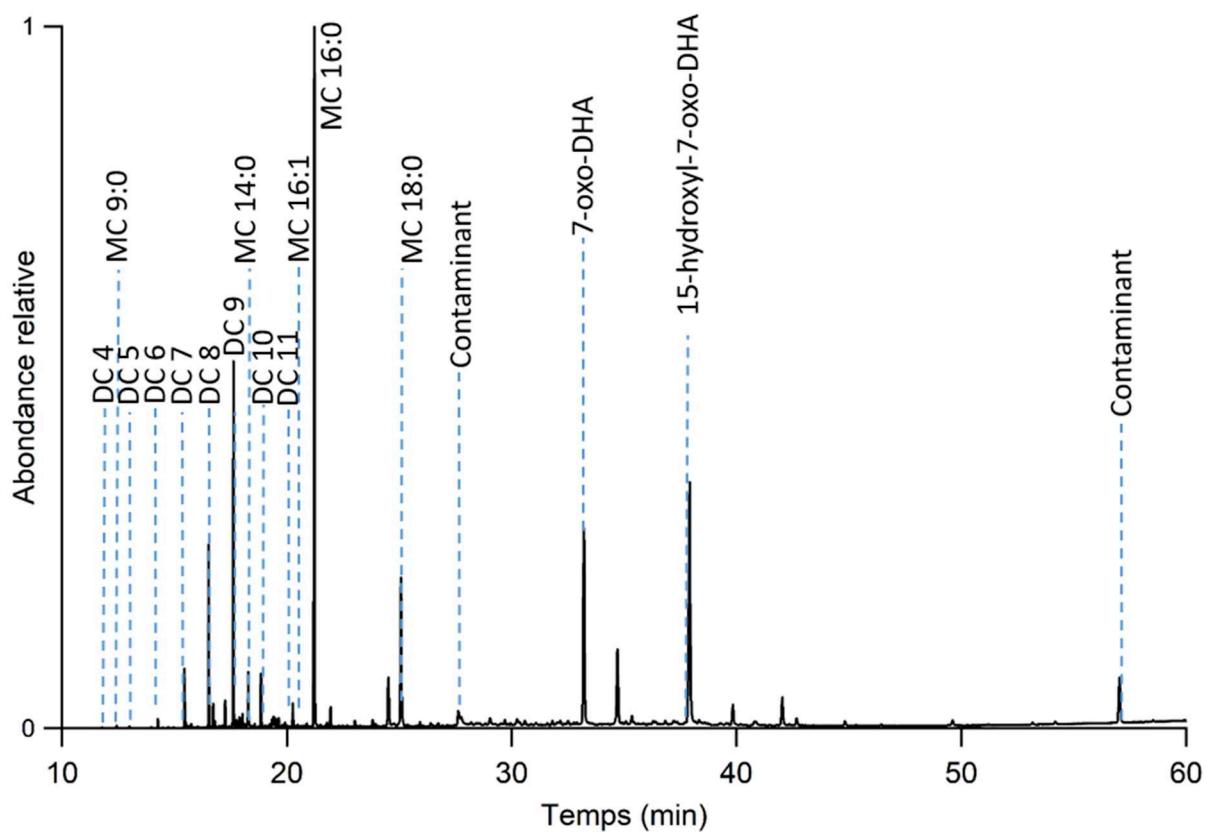
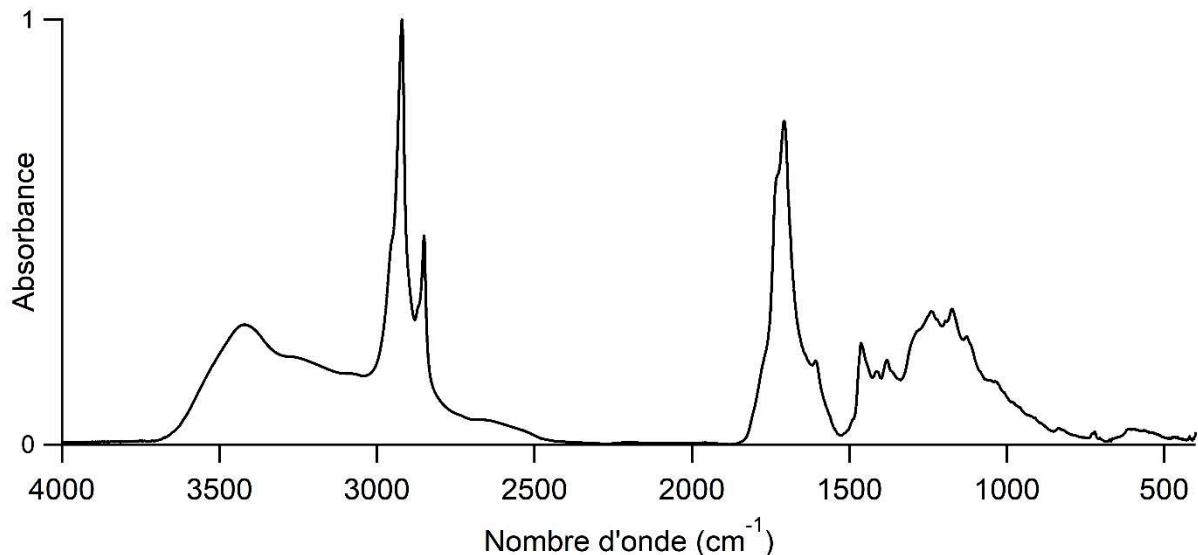
Prélèvement n°69 : Cavité abdominal près de l'orifice d'éviscération côté gauche



Momie 90001597

Sexe	Féminin
Age	Adulte
Localisation géographique	Non renseignée
Période historique	Fin Basse Époque à Époque Ptolémaïque

Prélèvement n°66 : Épaule droite



Résumé

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du projet scientifique HEYCOM (Human Egyptian LYon COnfluences Mummies) dans le Labex Archimede, mené par une équipe de recherche interdisciplinaire. Ici, l'objectif est de caractériser et d'identifier la nature des éléments chimiques présents dans la constitution des baumes de momification issus de 10 momies entières et 33 têtes de momies d'Égypte ancienne. Les individus proviennent de la collection égyptienne et d'ostéologie du Musée des Confluences à Lyon et ils n'avaient jamais été étudiés jusqu'alors.

Étant donné la grande variété de substances naturelles pouvant être utilisées dans la formulation des baumes, différentes techniques d'analyse, chacune fournissant des informations complémentaires, ont été employées telles que l'infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM).

L'étude par spectroscopie infrarouge a été effectuée sur les 61 échantillons de baumes de momies permettant de caractériser les différentes familles chimiques présentes. Compte-tenu du nombre conséquent de prélèvements étudiés, des analyses statistiques ont été réalisées par Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) afin de les regrouper en cluster et ainsi pouvoir les comparer entre eux du point de vue de leur composition chimique. Préalablement aux analyses chromatographiques, une étape d'extraction a été élaborée *via* l'utilisation conventionnelle d'un solvant. De plus, afin de parfaire l'identification moléculaire, la mise au point d'un nouveau protocole d'extraction en phase solide a été développée et optimisée avec succès. L'ensemble de cette étude a permis de caractériser différentes compositions de baumes associées à diverses formulations et états d'altération et/ou de dégradation. Huile végétale, graisse animale, cire d'abeille, résines di- et triterpéniques, bitume, correspondent à l'ensemble des substances identifiées. Une interprétation des procédés d'altération et de dégradation des molécules diterpéniques a été menée en Analyses en Composantes Principales (ACP).

Abstract

This PhD work is part of HEYCOM (Human Egyptian LYon COnfluences Mummies) scientific project as part of Archimedes Labex, led by an interdisciplinary research team. The present objective is to characterize and identify the nature of chemical elements present in mummification balms from 10 whole mummies and 33 mummies heads from ancient Egypt. The individuals come from the Egyptian collection of the Musée des Confluences in Lyon and they have never been studied before.

Given the wide variety of natural substances that can be used in the formulation of balms, different analytical techniques, each providing complementary information, were used such as Fourier Transform Infrared (FT-IR) and Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).

The infrared spectroscopy study was carried out on 61 mummy balm samples to characterize the different chemical families present. Given the large number of samples studied, statistical analyses were carried out by Agglomerative Hierarchical Clustering (AHC) in order to group them into clusters and thus to compare them with each other in terms of their chemical composition. Prior to the chromatographic analyses, an extraction step was developed using a conventional solvent. In addition, in order to perform molecular identification, the development of a novel solid phase extraction protocol has been successfully developed and optimized. The whole of this study has permitted to characterize different balm compositions associated with different formulations and states of alteration and/or degradation. Plant oil, animal fat, beeswax, di- and triterpenic resins, bitumen, correspond to all the identified substances. An interpretation of the alteration and degradation processes of diterpenic molecules was carried out in Principal Component Analysis (PCA).