

# UNE HISTOIRE DE L'ANALYSE CHIMIQUE DES PARFUMS ARCHÉOLOGIQUES

## 160 ANS DE DÉVELOPPEMENT SCIENTIFIQUE



NICOLAS GARNIER

Au milieu du XIX<sup>e</sup> s., alors que les fouilles archéologiques suscitent l'engouement de nombreux pays européens suite aux découvertes faites à Pompéi et en Égypte, quelques rares archéologues ont pris conscience de la valeur des objets qu'ils exhumaient : à leurs yeux ils ne prévalaient pas seulement par leur aspect esthétique, mais aussi par la valeur scientifique de leurs contenus organiques (mais qui ne pouvaient être révélée que par des scientifiques compétents). Excepté deux cas, à Saint-Médard-des-Prés (Vendée) et à Louxor (tombe de Toutankhamon), on peut regretter le peu de curiosité des archéologues jusqu'à une époque très récente. Ce n'est que dans les années 1970, sous l'impulsion de chimistes décidant de consacrer une partie de leurs recherches à l'étude des matériaux anciens, que quelques archéologues prirent conscience de l'intérêt des analyses chimiques organiques. Les méthodes de chimie analytiques ~~devenaient capables d'apporter des~~ éléments que l'œil ne pouvait voir. Depuis les années 1990, le développement très rapide des nouvelles technologies en matière de séparation et d'identification moléculaire a permis à plusieurs équipes de se spécialiser dans les matériaux dégradés, pour des objets de musée comme pour du matériel directement issu de fouilles archéologiques. Aujourd'hui, les techniques de caractérisation structurale de la matière, notamment par spectrométrie de masse, permettent de remonter à l'origine biologique d'échantillons microscopiques. Les prélèvements peuvent être pratiqués sur tout type d'objets : objets fragmentaires sortis de la fouille ou objets prestigieux d'anciennes collections muséales. Cependant, même si la sensibilité et la sélectivité des

méthodologies d'analyse permettent de repousser les limites de l'analyse de plus en plus loin, l'analyste se heurte au problème des pollutions environnementales ou introduites après la fouille. Le développement de méthodologie d'extraction sélective, de purifications et d'analyse par des méthodes très sensibles sont indispensables pour garantir la pertinence des résultats. Enfin, l'interprétation des résultats doit être largement discutée en collaboration avec des archéobotanistes. Chaque identification doit aussi être replacée dans son contexte et le raisonnement débattu en fonction de l'état des connaissances, à un moment donné, touchant notamment à la phytochimie, la pharmacognosie et la dégradation des matériaux.

### LES PREMIÈRES DÉCOUVERTES



‡ CHEVREUL ET LA TOMBE DE  
SAINT-MÉDARD DES PRÉS (1848) ‡

Lors de travaux d'épierrage d'un champ à Saint-Médard-des-Prés en 1845-1846, le juge de la région, Fillon, lettré et curieux des découvertes, fut vite intéressé par la découverte de structures, puis de fragments de peintures murales. Son attention fut toute mobilisée quand fut mise au jour une tombe contenant un squelette, une quarantaine de vases en verre et des coffres en bois remplis d'ustensiles liés probablement à l'activité d'un oculiste (voir l'article dirigé par Jacques Santrot dans le présent volume).



Fillon ne s'intéressa pas seulement au mobilier correctement conservé – donc de nature minérale –, mais aussi aux contenus organiques amorphes des vases : résines, cires, matières grasses<sup>1</sup>. Le savant Chevreul, chimiste de l'Académie des sciences à qui l'on doit la découverte des acides gras et fondateur des principes de l'analyse organique, accepta d'examiner les couleurs et les matières organiques trouvées. Dans une conférence donnée successivement devant les deux Académies, il énonce déjà l'intérêt que peuvent représenter les sciences physico-chimiques pour l'archéologie : « Elles n'ont pas moins d'utilité quand il s'agit de connaître des objets d'art anciens qui ont résisté à l'action destructive du temps ; en effet, ce but ne peut être atteint qu'à la condition de les soumettre à l'expérience aidée de tous les moyens dont elle dispose aujourd'hui pour découvrir la nature des corps<sup>2</sup>. » Chevreul mit en avant tout l'intérêt de rapprocher les différentes sciences et les Académies, et de présenter, en tant que chimiste, ses résultats lui-même aux membres des autres Académies, condition garante de la rigueur de ses travaux et de ses interprétations. La description de l'examen des matières organiques démontre toute la passion, la méticulosité et la rigueur du savant, et l'application de son savoir-faire et de ses connaissances à la compréhension des matériaux dégradés retrouvés.

Après un examen visuel précis de quatre échantillons, sa méthode d'étude dérivait de tests de dissolution successifs dans l'alcool et l'eau, soit à ébullition, soit à froid. À chaque étape, les vapeurs échappées, les extraits solubles et les résidus insolubles étaient caractérisés par les techniques à disposition : la couleur observée, l'odeur<sup>3</sup>, et pour les solides le point de fusion, la solubilité dans d'autres solvants ou des solutions aqueuses acides ou basiques (test au papier tournesol). En l'état des connaissances de l'époque, les identifications sont précises, notamment pour les cires et les acides gras. Cependant, alors qu'il identifie correctement les acides stéarique et oléique, l'acide margarique qu'il identifie par son point de fusion correspond en fait à un mélange de plusieurs acides gras, palmitique et stéarique en l'occurrence, dont le point de fusion est anormalement bas pour Chevreul : en effet, les découvertes plus tardives de thermodynamique chimique permettent d'établir que le point de fusion d'un mélange de corps purs a toujours un point de fusion inférieur à celui du point de fusion le plus bas des deux corps purs pris séparément<sup>4</sup>. Aujourd'hui, on peut réinterpréter les données de Chevreul et identifier le mélange des acides palmitique et stéarique.

Les travaux du savant Chevreul démontrent bien l'intérêt d'examiner des objets anciens avec les méthodes scientifiques disponibles les plus récentes et les plus performantes et de publier les données brutes. Ainsi, 160 ans après, ses analyses restent toujours valides et peuvent être réinterprétées à la lumière des connaissances acquises depuis.

‡ CHAPMAN ET LE MATÉRIEL DE LA TOMBE  
DE TOUTANKHAMON (1926) ‡

L'extraordinaire découverte de la tombe de Toutankhamon en 1922 par Carter, l'abondance des objets et leur état de conservation exceptionnel, attirèrent les chimistes Chapman et Plenderleith. Des objets organiques étaient directement identifiables – vêtements, végétaux desséchés – alors que d'autres, ustensiles, accessoires cosmétiques, momies et matériel d'embaumement, matériel d'éclairage ou encore de la vaisselle, livraient des traces de matériaux organiques amorphes non identifiables par simple examen visuel. Les chimistes virent une opportunité unique d'examiner des corps gras anciens qui n'avaient pas été totalement décomposés par l'action du temps, d'évaluer quels avaient été les changements structurels dus au temps et d'apporter des éléments sur l'origine des substances (Chapman et Plenderleith 1926). La jarre en calcite scellée, attribuée à un usage cosmétique, contenait 450 g de matière collante et hétérogène, jaune et marron. Au contact de la main, elle fondait partiellement, libérant des odeurs de noix de coco, de genêt ou de valériane. Alors que d'autres chimistes avançaient que les seules sources possibles pour des matières grasses conservées dans des jarres scellées par une couche d'argile étaient les « beurres végétaux » extraits de *Bassia* sp. (Amaranthacées) ou de l'huile de palme, Chapman et Plenderleith restèrent plus prudents et attribuèrent l'odeur de coco à un « produit odorant de décomposition de certaines substances comme les graisses, les résines et les baumes ». Dans leurs analyses, les tests de solubilité sont élargis à l'éther et à l'éther de pétrole ; la présence/absence de soufre et d'azote est établie par combustion. On note les premières quantifications par la détermination des indices d'acide, d'iode, de saponification, ou encore de Reichert et de Polenske, de cendres sèches et le dosage du glycérol. Chapman note l'absence de cholestérol et de phytostérols, malgré les soins apportés aux analyses, se justifiant qu'il est « bien connu que ces stérols se décomposent et tendent à disparaître au cours du temps »<sup>5</sup>. 70 g de matières ont été méthylés puis distillés sous vide, chaque



fraction collectée saponifiée et purifiée par recristallisations successives afin d'en déterminer le point de fusion du composé pur. Les acides stéarique (18:0), palmitique (16:0), myristique (14:0) sont clairement identifiés alors qu'un mélange d'acides, caprique (10:0) et laurique (12:0), est isolé. Au final, Chapman reste prudent et reconnaît que les résultats de l'analyse chimique ne permettent pas d'identifier la(es) graisse(s) présente(s), ni même d'en attribuer une origine végétale ou animale. L'huile de palme est exclue, et l'odeur de coco, l'une des données les plus caractéristiques de l'échantillon, attribuée à des produits de dégradation de résines ou de baumes employés. Aujourd'hui l'on attribuerait cette odeur aux produits de décomposition des acides gras insaturés, notamment les acides gras et diacides à courte chaîne, ainsi que les aldéhydes et acides cétoniques correspondants, composés présents dans l'adipocire que cite d'ailleurs Chapman. Cet exemple montre l'évolution des connaissances concernant un matériau donné, l'adipocire, matériau formé par dégradation oxydante des graisses, notamment sur les momies.


Que ce soit pour Chevreul ou Chapman, les identifications reposaient sur des informations tirées des odeurs, des différents indices liés à un matériau et définis par dosages acido-basique ou d'oxydo-réduction. Seuls les points de fusion déterminés par Chevreul étaient une véritable caractéristique du composé purifié. Chapman notait d'ailleurs que les caractéristiques physico-chimiques macroscopiques d'un matériau, tels les indices de saponification, ne sont d'aucune utilité pour les matériaux dégradés. Seules les techniques permettant l'accès à la structure moléculaire des constituants chimiques conservés sont pertinentes. Ce n'est qu'avec le développement des sciences analytiques à partir des années 1960-1970 que l'analyse chimique s'est réellement développée, permettant ainsi de caractériser de nombreux composés chimiques purs, ou des mélanges de plus en plus complexes, comme dans le cas des échantillons archéologiques. Mais, avant, quelques publications présentent certaines « identifications » de matériaux organiques, déduites de techniques ou de méthodologies non adaptées. Un point rapide permet d'évaluer la pertinence des approches envisagées, ou la qualité des raisonnements interprétatifs des résultats.

## DES MÉTHODOLOGIES OU DES RAISONNEMENTS INADAPTÉS



Les quelques exemples présentés ci-dessous montrent toute la qualité des propos et la prévoyance de Chevreul : pour garantir son utilité et sa pertinence, l'analyse doit mettre en œuvre « tous les moyens dont elle dispose aujourd'hui » et l'auteur de faire preuve du plus haut degré de « certitude que comporte l'espèce de critique essentielle à l'esprit de cette science au nom de laquelle il parle » (Chevreul 1849, p. 182).

### ‡ LES ANALYSES ÉLÉMENTAIRES ‡

L'analyse élémentaire consiste à déterminer les éléments chimiques présents dans un échantillon, tels qu'ils apparaissent dans la classification périodique des éléments de Mendeleïev, et d'en établir les compositions relatives. Les méthodes utilisées sont la fluorescence des rayons X (XRF), la spectroscopie d'émission pour l'analyse chimique (ESCA) aussi appelée spectroscopie photoélectronique de rayons X (XPS), ou la spectroscopie d'émission de rayons X induite par protons (PIXE = Proton-induced X-ray spectroscopy) pour les analyses macroscopiques, ou la microscopie électronique à balayage couplée à une sonde de spectroscopie des rayons X par dispersion d'énergie (MEB-EDX ou SEM-EDX en anglais) pour des micro-analyses. Cependant, la matière organique est essentiellement composée de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, mais aussi d'azote et de soufre pour les protéines. Les proportions des éléments C, H, O ne donnent aucune information sur la nature des matériaux présents, ceci permet uniquement de voir si la proportion de matière organique est importante ou non. Déduire une formule chimique globale de cette analyse n'a pas véritablement de fondement scientifique<sup>6</sup>  ont donné la complexité moléculaire des produits naturels, composés de plusieurs dizaines voire centaines de molécules.

Seule la détection d'éléments peu distribués dans des produits naturels peut apporter une information intéressante, sans du moins constituer une preuve de la présence de tel marqueur<sup>8</sup>. Pour de très rares cas où les données contextuelles ou matérielles sont très précises, la présence d'un élément donné peut confirmer



une hypothèse. C'est le cas des tissus montrant une coloration pourpre (McGovern et Michel 1985; McGovern et Michel 1990) : la détection de brome permet d'en déduire la présence de molécules bromées. Or, les composés naturels bromés sont rares. Dans le cas des colorants pourpres, les murex produisent un précurseur caractéristique, bromé, qui conduit à la formation de la monobromo- et de la dibromo indigotine. De ce fait, la présence de brome sur un tissu pourpre révèle une teinture au murex. Excepté ce cas bien particulier, les analyses élémentaires ne sont d'aucune utilité pour identifier des matériaux organiques, surtout mélangés et fortement dégradés.

#### ‡ TESTS DE FLAMME, DE SOLUBILITÉ ET DE COLORATION ‡

Prélever un fragment de résidu et le porter à la flamme pour tester s'il brûle (d'où sa nature organique) et s'il dégage une odeur, pouvant être reconnue notamment pour les résines et les poix, est une ancienne technique utilisée depuis les débuts de l'archéologie. Ne nécessitant aucun matériel, elle peut être pratiquée sur le terrain. Cependant, au vu des méthodes actuelles, elle est à proscrire pour les petits échantillons, car elle nécessite un fragment assez important, dont l'information chimique renfermée pourrait être mieux exploitée. La méthode de détermination du pourcentage de matière organique par calcination, méthode classique pour les échantillons modernes, a un intérêt limité du fait des nombreuses migrations de matière organique lors de l'enfouissement et de l'introduction de nombreuses pollutions modernes. La valeur obtenue n'a alors que peu de signification et dépend énormément du prélèvement effectué.

Comme les a pratiqués Chevreul en 1848, les tests de solubilité consistent à dissoudre un fragment dans des solvants de polarité différente, allant du plus hydrophobe au plus polaire protique<sup>9</sup>. Par correspondance d'affinité, les cires, poix et bitumes se dissolvent dans les hydrocarbures, les graisses oxydées dans les solvants chlorés et les alcools, les gommes dans les alcools et l'eau. Cependant, étant donné qu'un produit naturel est constitué de plusieurs familles chimiques de polarité chimique différente, les dissolutions ne sont souvent que partielles et sélectives, comme dans le cas des cires. Ces tests permettent d'orienter le choix de solvants pour optimiser les étapes d'extraction et de purification, mais ne consistent en aucune sorte en un test d'identification.

Les tests de coloration, ou tests histochimiques, sont fondés sur le changement de couleur d'un réactif par réaction avec un composé contenu dans l'échantillon. Les tests mettent en évidence la présence d'une fonction chimique, mais en aucun cas d'un matériau donné. Par exemple, la réaction de Bellier (solution de résorcinol dans le benzène et d'acide nitrique), utilisée pour déceler la présence d'acides insaturés dans les corps gras, a été mise en œuvre sur des prélèvements provenant d'un atelier de parfumerie d'En Boqeq, afin d'identifier des traces d'huile d'olive (Donato et Lentini 2006, p. 209-213). Or cette ancienne méthode, vantée avec une mise en garde en 1902<sup>10</sup>, donne des résultats aléatoires : elle ne conduit pas à une coloration positive en présence de certaines huiles d'arachide (1923) ou donne dans d'autres cas trop souvent des réponses positives<sup>11</sup>. Cette méthode, aussi peu spécifique et fiable, n'apporte aucun élément de connaissance des échantillons anciens. En 2003-2004, les résidus de la parfumerie de Pyrgos Mavroraki (Chypre) ont été étudiés par une méthode dérivée de la toxicologie<sup>12</sup>. Aujourd'hui, pour la reconnaissance de drogues, les tests colorimétriques ne sont qu'une première étape permettant de sélectionner les échantillons nécessitant une véritable analyse, par des méthodes structurales. Si ces tests permettent de détecter une famille chimique qui réagit spécifiquement avec le réactif coloré, ils ne permettent pas d'identifier des matériaux naturels, que ce soit la térébenthine, le sylvestrène<sup>13</sup>, la bergamote, la coriandre, le laurier, l'amande amère ou le myrte, le romarin, la valériane ou encore l'opium ou d'autres produits naturels tout aussi séduisants ! Aussi, pour le test de Feigl, décrit par son créateur comme une « chimie de réactions spécifiques, sélectives et sensibles » (Feigl *et alii* 1966) et utilisé comme moyen de détecter des traces de vin, de nombreux composés chimiques présents, autres que le marqueur recherché – ici l'acide tartrique – peuvent conduire à des faux positifs. Il n'existe pas de test colorimétrique spécifique à un composé chimique donné, encore moins à un produit naturel donné constitué de nombreux marqueurs.

Que ce soit pour la détection de vin ou d'espèces aromatiques, les études simplistes, usant de tests à la flamme ou colorimétriques (*spot tests*), devraient être abandonnées à l'avenir afin de garantir toute la rigueur nécessaire à des identifications sérieuses, au profit de méthodes analytiques plus sélectives et sensibles, qui conduisent à l'identification certaines de marqueurs (Boulton et Heron 2000; Guash-Jané *et alii* 2004). Les résultats déjà publiés doivent être considérés avec d'infinies précautions ou définitivement écartés<sup>14</sup>.





## ‡ LA SPECTROMÉTRIE INFRAROUGE ‡

La spectroscopie ou spectrométrie infrarouge, conventionnelle dispersive ou à transformée de Fourier (IRTF), est une technique classique d'analyse utilisée tant dans le domaine minéral qu'organique, pour reconnaître la présence de groupes fonctionnels particuliers. Les molécules absorbent un rayonnement infrarouge incident, à certaines longueurs d'onde spécifiques, correspondant à l'énergie de vibration de groupes fonctionnels donnés. Ainsi on reconnaît facilement la présence de fonctions alcools, acides, aldéhydes, ou encore des portions de squelettes carbonés comme celui des diterpènes ou des triterpènes. En revanche, et surtout dans le cas de mélanges moléculaires ou même pour des molécules complexes, le spectre obtenu est la somme de toutes les bandes d'absorption de toutes les fonctions chimiques présentes dans l'échantillon. Une molécule donnée ne peut être clairement identifiée. La spectrométrie IRTF, largement répandue et utilisée depuis les années 1970, reste un outil pratique pour des analyses préliminaires. Étant donné les difficultés d'interprétation des spectres de mélanges complexes, la spectrométrie IRTF peut être suffisante pour des problématiques et des questions bien précises, comme l'étude des enduits d'imperméabilisation des amphores, pour identifier un dérivé résineux (composés diterpéniques) et distinguer l'oléorésine de la poix. Celle-ci comporte un marqueur spécifique produit lors de la production de la poix (l'acide déhydroabiétique méthylé), qui présente une bande d'absorption du groupe ester méthylique, absente de la résine (Font *et alii* 2007). Dans ce cas, la gamme de matériaux potentiellement présents est très restreinte et l'absence/présence de cette bande d'absorption suffit à trancher.

Dans d'autres cas où les contenus peuvent être plus divers, une étude pionnière est l'analyse de résidus vinaires conservés dans les amphores de la Madrague de Giens. F. Formenti identifie clairement les bandes d'absorption des fonctions acides, alcools, provenant notamment de l'acide tartrique. Connaissant les limites de cette technique, elle conclut à juste titre que l'échantillon pourrait être du vin, par la présence probable d'acide tartrique (Formenti *et alii* 1978).

Encore aujourd'hui, de nombreuses études se limitent à la spectrométrie infrarouge. Connaissant la complexité de la matière organique, qui plus est dans le cas de mélanges de produits naturels fortement dégradés par action du temps ou de l'homme, un seul spectre IRTF ne saurait suffire à identifier des marqueurs, ou même un matériau. Seul le recours à

des techniques séparatives (les chromatographies) et structurales (la spectrométrie de masse) permettent une identification complète et sûre des marqueurs, et par là des matériaux originels.

## ‡ DES INTERPRÉTATIONS HÂTIVES ‡

La pertinence d'une identification de matériau ancien repose non seulement sur l'adéquation entre la méthodologie analytique mise en œuvre et le matériau étudié, mais aussi sur la qualité de l'interprétation des résultats. Longtemps, l'identification d'un seul marqueur était considérée comme un critère suffisant. C'est le cas des premières analyses du contenu d'amphores où de l'acide oléique a été identifié par chromatographie en phase gazeuse. Dans le contexte des amphores, notamment des Dressel 20, amphores à huile par excellence, la présence de l'acide oléique est un bon argument en faveur d'une huile. En revanche, il ne garantit pas que ce soit de l'olive, car l'acide oléique est présent en grande quantité dans toutes les huiles végétales, mais aussi dans les graisses animales et les cires. Si, dans le cas précis des Dressel 20, la présence de l'acide oléique permettait d'avancer l'hypothèse de l'huile d'olive, on doit se restreindre à envisager la présence de corps gras. Le rapprochement des chimistes traitant d'objets archéologiques et des géochimistes a permis de mettre en place un raisonnement interprétatif, fondé sur la définition d'association de marqueurs. Le raisonnement se décompose en plusieurs étapes :

- les constituants chimiques sont identifiés individuellement (par spectrométrie de masse) ;
- ils sont classés en biomarqueurs (molécules présentes à l'état natif dans un produit biologique), en marqueurs de dégradation naturelle ou anthropique (ces deux dernières classes se confondent souvent) ;
- parallèlement, l'étude de produits biologiques modernes, natifs ou altérés, permet de caractériser les mêmes marqueurs et d'évaluer leur pertinence, suivant leur distribution dans la nature : marqueurs discriminants ou marqueurs spécifiques. Le classement des marqueurs en plusieurs groupements (associations de marqueurs) permet d'étayer le classement entre marqueurs discriminants et spécifiques ;
- par confrontation des associations moléculaires définies pour l'échantillon archéologique et son homologue moderne, le matériau biologique natif peut être identifié, et la chaîne opératoire ainsi que les processus de dégradation naturelle ou provoquée qu'il a subis, documentés.



Les interprétations doivent être prudentes et prendre en compte le degré de dégradation des matériaux. Ainsi un matériau ne peut être exclu sous prétexte que les profils de l'échantillon archéologique et du matériau moderne ne sont pas strictement identiques. C'est le cas notamment des huiles végétales, constituées de triglycérides formés d'acides gras insaturés, qui subissent des réactions d'hydrolyse des triglycérides en acides gras, d'oxydation des acides gras insaturés en acides hydroxylés et diacides (Garnier 2007). Ainsi, le baume contenu dans un vase hérodien de Qumran pourrait très bien être une huile végétale, notamment d'olive, hypothèse écartée par l'auteur en raison de l'absence de l'acide oléique (pour une méthodologie d'analyse des huiles, Garnier sous presse). Or le profil montre les dérivés d'oxydation de cet acide (diacides à courte chaîne), éléments omis du raisonnement. Le rapprochement à une huile de noyau de palme, au baume de Judée (*Commiphora opobalsamum*), ou encore à des substances odorantes tels myrrhes et encens, reflète la quête des archéologues à découvrir cette fameuse substance aujourd'hui disparue, hypothèse dénuée de tout fondement scientifique<sup>15</sup>.

Le principe d'identification repose sur le principe logique de correspondance des compositions moléculaires entre les mêmes matériaux, anciens et modernes. Une identification raisonnée sera fondée sur une équivalence ( $a \Leftrightarrow b$ ), alors que de nombreuses identifications reposent simplement sur des implications ( $a \Rightarrow b$ ), signifiant par exemple qu'une molécule est spécifique à une espèce et conduit donc à l'identification de tel matériau, alors qu'elle est très largement répandue dans les règnes animal et végétal. Un des principaux obstacles aujourd'hui est de connaître la distribution de chacun des marqueurs identifiés et d'en déterminer la pertinence. Une part des données est disséminée dans la littérature de phytochimie et de pharmacognosie, pour les molécules d'intérêt thérapeutique, alors que les autres molécules doivent être identifiées par l'analyste dans un travail de fond mené en parallèle à l'analyse archéométrique<sup>16</sup>.

Quant à la surinterprétation des résultats, elle est commune. Les hypothèses formulées au conditionnel dans un article de chimie sont souvent reprises à l'indicatif dans des études archéologiques et considérées comme une vérité. Suivant l'état de dégradation du matériau, la méthodologie d'étude adoptée, les résultats peuvent être plus ou moins argumentés, mais on ne doit pas perdre de vue que l'analyse chimique ne permet pas forcément l'authentification d'une source, mais seulement une discrimination entre plusieurs.

## 1975-1990 : LE DÉVELOPPEMENT DE LA CHROMATOGRAPHIE



### ‡ LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE ‡

D'abord développée sur des supports poreux comme le papier, la chromatographie sur couche mince permet de séparer un mélange moléculaire en ses différents constituants, en faisant migrer sélectivement le mélange sur une phase solide : alumine, silice, silice greffée... En fonction de leur affinité pour la phase solide, les molécules vont migrer plus ou moins rapidement et former des spots. Cette ancienne technique a été le précurseur des techniques actuelles de chromatographie en phase gazeuse (GC) et en phase liquide (LC). Si elle n'est pas utilisée pour l'identification de matériaux anciens, elle est parfois mise en œuvre pour l'examen de colorants, ou encore pour la purification de mélanges complexes avant leur analyse par une technique chromatographique plus sensible et plus résolutive. Aujourd'hui, seuls les résultats obtenus par GC ou LC sont considérés comme réellement pertinents.

### ‡ LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (GC) ET EN PHASE LIQUIDE (LC) ‡

Les chromatographies en phase gazeuse (GC) ou en phase liquide (LC) sont devenues indispensables pour toute analyse de mélange organique complexe. La première, la plus utilisée, est dédiée aux molécules volatiles, la seconde aux molécules thermolabiles et aux marqueurs de haut poids moléculaire. Elles permettent la séparation de chacun des constituants d'un mélange. En revanche, leur identification n'est certaine que par couplage à la spectrométrie de masse. La GC a été largement utilisée seule dans les années 1975-1990 avant la naissance du couplage GC-MS. Elle a permis de mettre en place les fondements de l'archéologie biomoléculaire, par l'étude d'échantillons simples comme le contenu d'amphores (Condamin *et alii* 1976 ; Robinson *et alii* 1987) et d'attirer l'attention des archéologues sur le fait que n'importe quel objet céramique, qu'il présente des dépôts visibles ou non, peut conduire à des résultats permettant de mieux connaître son contenu. Les sources liées au parfum étant extrêmement nombreuses et leur composition chimique complexe, la séparation des constituants chimique par chromatographie n'est pas suffisante et nécessite



obligatoirement le couplage à la spectrométrie de masse pour des identifications rigoureuses.

### 1990–2000 : LES COUPLAGES À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE



#### ‡ LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE ‡

Pour chaque molécule séparée par chromatographie, la spectrométrie de masse fournit le spectre de masse, empreinte structurale qui permet de déterminer la formule chimique complète de la molécule. Le couplage d'une chromatographie résolutive à un spectromètre de masse sensible permet d'identifier plusieurs dizaines voire centaines de molécules dans un même prélèvement injecté. Adaptée aux molécules volatiles, la GC-MS est devenue la méthode indispensable pour l'étude des parfums anciens et plus généralement pour les échantillons archéologiques. Elle a connu un essor important à partir du début des années 1990, suite aux développements technologiques : la sensibilité accrue des spectromètres de masse permettait l'accès à de petits échantillons, condition indispensable pour l'analyse d'échantillons archéologiques précieux. Aujourd'hui, les colonnes chromatographiques permettent des séparations très efficaces avec l'utilisation des micro-colonnes de diamètre toujours plus faible<sup>17</sup>. Les pics chromatographiques sont de plus en plus fins (quelques dixièmes de seconde) et peuvent être détectés par des spectromètres de masse capables de balayer très rapidement les gammes de masse<sup>18</sup>. La GC-MS permet de traiter des micro-échantillons, parfois inférieurs au microgramme de prélèvement global.

Les molécules constituant les fractions odorantes des parfums sont généralement extraites de plantes et appartiennent aux terpènes, renfermant 10 ou 15 atomes de carbone (respectivement mono- et sesquiterpènes). Si l'échantillon n'est pas clos, les molécules diffusent rapidement et sont perdues par évaporation ou sublimation, expliquant que leur découverte soit rare. On note surtout la conservation de camphre et dérivés du bornéol, de verbénone, et des sesquiterpènes et hydrocarbures aromatiques provenant des oléorésines et poix (longifolène, cadalène...). Les notes plus lourdes des parfums, correspondant à des molécules de plus haut poids moléculaire, sont mieux conservées. Si un tel matériau a été contenu dans un objet, la probabilité d'en détecter les marqueurs est importante. En effet, les marqueurs di- et triterpéniques provenant

des résines de conifères et de feuillus constituent l'essentiel des identifications archéologiques. Aussi, le support du parfum ou de la préparation, de nature lipidique la plupart du temps, est bien conservé : les cériques provenant des cires animales (abeille, spermaceti...) ou végétales (cires épicuticulaires recouvrant les fleurs, feuilles et écorces), les triglycérides et les stérols provenant des graisses et des huiles, sont des composés hydrophobes assez stables.

#### ‡ LE COUPLAGE LC-MS ‡

La GC-MS ne permet l'analyse que des composés volatils. Les composés de haut poids moléculaire (cériques, triglycérides, stérols acylés...) ou les composés très polaires (polyphénols, polysaccharides, protéines), peu ou non volatils et sensibles aux hautes températures, sont préférentiellement analysés en phase liquide. La LC était encore peu utilisée, car pas assez sensible et peu performante, contrairement à la GC. Les améliorations techniques des colonnes séparatives permettent dorénavant d'étudier des micro-quantités de matière organique. Un des freins de la méthode d'analyse par LC et LC-MS est la mise au point des conditions chromatographiques, souvent longue et fastidieuse. De plus, la LC ne permet d'analyser correctement qu'une classe de composés et non un prélèvement brut<sup>19</sup> ; elle nécessite donc une purification préalable de l'échantillon en différentes fractions qui seront analysées individuellement selon une méthode optimisée pour chacune. C'est le cas des analyses de triglycérides dans des lampes romaines (Kimpe *et alii* 2001, Romanus *et alii* 2008), de cire d'abeille (Kimpe *et alii* 2002).

Contrairement aux méthodes classiques d'analyse des corps gras après saponification ou transestérification des triglycérides natifs en leurs acides gras constitutifs et leur analyse en GC-MS, la LC-MS permet l'accès direct aux triglycérides natifs, sans aucune dégradation chimique. L'information chimique révélée est donc beaucoup plus riche. Cependant, comme cette technique est assez récente et n'est pas encore reconnue officiellement par les organismes internationaux<sup>20</sup>, il est nécessaire d'établir un référentiel de matériaux modernes.

### LES MÉTHODES DIRECTES D'ANALYSE DE L'ÉCHANTILLON



Plusieurs méthodes d'analyse par spectrométrie de masse seule ont été développées. Elles sont



dérivées des méthodes GC-MS et LC-MS, permettant l'introduction et la volatilisation d'échantillons solides (5.1.) ou d'échantillons mis en solution (5.3.). Sans couplage à une chromatographie, elles présentent l'avantage d'être très rapides, mais aussi l'inconvénient de ne fournir qu'une empreinte globale, sauf dans le cas des spectrométries tandem MS/MS.

#### ‡ LA DÉSORPTION IONISATION- SPECTROMÉTRIE DE MASSE (DE-MS OU DT-MS) ‡

Cette méthode dérive des techniques de caractérisation de composés organiques par spectrométrie de masse, utilisées dans les laboratoires depuis les années 1970. Un fragment de l'échantillon réduit en poudre est placé soit sur un filament de tungstène (DT-MS) soit dans un creuset en quartz (DE-MS)<sup>21</sup>. Deux renseignements sont obtenus : la courbe de désorption et le spectre de masse global. L'analyse permet d'identifier les familles chimiques présentes par leurs composés majoritaires (acides gras palmitique et stéarique par exemple, cholestérol, di- et triterpènes, cérides)<sup>22</sup>, mais ne permet pas une analyse précise. Aussi, le rendement d'ionisation en source est faible. Étant données les performances actuelles des techniques chromatographiques, il est souvent préférable d'analyser un micro-prélèvement en GC-MS pour obtenir le maximum de données structurales, ou en pyrolyse-GC-MS.

#### ‡ PYROLYSE ET THERMOCHIMIOLYSE COUPLÉES À LA GC-SM ‡

La pyrolyse consiste à chauffer un micro-prélèvement brut à haute température (600 à 900 °C). Plusieurs processus physico-chimiques se produisent : volatilisation des composés volatils, fragmentation des macromolécules par craquage thermique selon des mécanismes radicalaires. Les mécanismes réactionnels thermiques ne sont pas contrôlés et conduisent à de nombreux produits de pyrolyse.

L'ajout de réactif d'hydrolyse et de dérivation<sup>23</sup> permet de travailler à moins haute température (250 à 500 °C) et d'éviter tout mécanisme radicalaire incontrôlé. La structure de la matière organique est ainsi mieux conservée et permet une meilleure identification des structures natives, libres ou polymérisées. Contrairement à la pyrolyse classique où le rendement est très faible (autour de 5 à 10 %), la thermochimiolyse permet une analyse quasi quantitative (rendement de 95-100 %)<sup>24</sup>. Facile à mettre en œuvre, elle s'adapte à tous les matériaux

(graisses et huiles, cires, bitumes, résines, poix, bitumes, gommes, colorants, polyphénols...) dont la présence est révélée par leurs marqueurs respectifs (acides gras, stérols, alcools à longues chaînes, hydrocarbures aliphatiques et polyaromatiques, acides di- et triterpéniques, sucres, acides phénoliques...). Dans le domaine des matériaux archéologiques, la THM-GC-MS n'a été mise en œuvre que pour l'analyse de contenu des amphores (Garnier *et alii* 2003 et Garnier 2003). Pour les échantillons comportant des molécules volatiles et des produits polymérisés, l'étude comprend généralement deux étapes : (i) un micro-fragment est désorbé dans le pyrolyseur à 250-300 °C environ et les composés volatils sont analysés par GC-MS ; (ii) le même fragment est analysé par THM-GC-MS afin d'accéder aux composés non volatils et polymérisés. Cette stratégie donne accès à toute la matière organique.

#### ‡ LA TECHNIQUE « HEADSPACE » – GC-MS OU SPME-GC-MS ‡

Les composés volatils peuvent être analysés par pyrolyse/désorption à basse température ou par une technique mieux adaptée appelée « espace de tête » ou SPME (Solid Phase Micro-Extraction). L'échantillon est placé dans un flacon étanche, à une température donnée, en présence d'une fibre recouverte d'un polymère absorbant. La fibre va absorber les molécules qui s'évaporent progressivement de l'échantillon, puis elle est introduite dans l'injecteur du GC-MS. Les molécules désorbent de la fibre et sont directement analysées par GC-MS. Ainsi aucune préparation de l'échantillon n'est nécessaire et d'autres analyses peuvent ensuite être menées sur le fragment partiellement désorbé. Nécessitant une mise au point des conditions de désorption assez délicate, la technique SPME a été peu utilisée jusqu'à lors pour les échantillons anciens<sup>25</sup>.

#### ‡ L'INFUSION EN ELECTROSPRAY (ESI-MS ET ESI-MS/MS) ‡

Pour les molécules non volatiles, l'infusion directe et ionisation par electrospray (ESI) est une méthode particulièrement rapide et performante. L'échantillon est mis en solution dans un solvant, placé dans une micro-seringue puis lentement injecté dans le spectromètre. Le rendement d'ionisation dépend de nombreux facteurs. Si les composés polaires (acides, polyalcools) sont bien ionisés dans le méthanol acidifié, les composés apolaires (cérides, triglycérides) présentent un faible rendement d'ionisation, d'où un





spectre bruiteux (Garnier *et alii* 2002). L'ionisation peut être promue par cationisation avec les ions  $\text{Li}^+$  (Hsu 1999). La méthode est particulièrement efficace pour les molécules oxygénées ou azotées. Le spectre ESI-MS obtenu est une empreinte massique correspondant à toutes les molécules présentes dans l'échantillon injecté. Afin d'accroître la sensibilité de l'appareil, la source electrospray a été miniaturisée en source nanospray. Seulement 1  $\mu\text{L}$  d'une solution diluée d'extrait lipidique est nécessaire pour une analyse nanoESI-MS et l'obtention d'une vingtaine de spectres nanoESI-MS/MS en 5 minutes environ. Les quantités analysées sont de l'ordre du nanogramme.

Les spectromètres tandem (MS/MS) peuvent être mis à profit afin de déterminer la structure moléculaire de chaque composé (ou mélange de composés isobares). Comme pour la GC-MS, l'analyse se fait en deux étapes : la séparation des molécules s'effectue par masse dans le premier analyseur ; chaque molécule sélectionnée est ensuite fragmentée et ses ions fragments analysés dans un second analyseur<sup>26</sup>, donnant un spectre MS/MS. Ainsi, un spectre MS/MS est obtenu pour chaque ion sélectionné, permettant d'en déduire la structure. Encore plus que pour la LC-MS, cette méthode est très récente et peu conventionnelle. Elle permet d'identifier de nombreux matériaux, à condition de construire une base de données spectrales MS/MS de référence. Ainsi, les corps gras peuvent facilement être discriminés en huiles végétales, graisses animales et produits laitiers, et parmi ces deux derniers en produits provenant d'espèces ruminantes ou non-ruminantes. Si des traces de triglycérides natifs sont conservées, l'origine des huiles peut être élucidée : ainsi de l'huile d'olive a pu être mise en évidence dans des amphores romaines (Garnier 2003, p. 295-310 ; Garnier 2004, p. 30-31), ou en mélange à des résines dans des lampes à huile nabatéennes (Garnier *et alii* sous presse<sup>a</sup>) ; l'huile de sésame était utilisée pure comme combustible dans des lampes nabatéennes (Garnier 2008) et des graisses de bœuf dans des lampes romaines à Olbia (Ukraine) (Garnier *et alii* 2009). Plus récemment de l'huile de bèn (*Moringa oleifera*) a été mise en évidence dans des lampes d'Égypte romaine (données non publiées) et dans un baume contenu dans un balsamaire orientalisant de Chiusi, importé d'Égypte (voir l'article de Garnier, Giacchi *et al.* dans le présent volume). Pour les cires, la méthode ESI-MS/MS permet de distin-

guer la cire d'abeille (Garnier 2003, p. 227-235 et p. 311-320 ; Garnier 2007) des autres cires, notamment les cires végétales (Garnier *et alii* 2008).

#### ‡ LA DÉSORPTION ELECTROSPRAY (DESI-MS ET DESI-MS/MS) ‡

Méthode développée en 2004 par l'équipe de Cooks, elle est une variante de l'electrospray : un solvant est ionisé et dirigé sous forme de spray à la surface de l'échantillon à analyser. Un film fin de solvant dissout partiellement les molécules solubles qui, par transfert de charge, sont ionisées et vaporisées en micro-gouttelettes qui sont alors transférées vers le spectromètre de masse. L'intérêt du DESI est d'opérer à pression atmosphérique, de ne nécessiter aucune préparation ni extraction de l'échantillon. La méthode, encore naissante, se révèle encore peu sensible, mais a permis l'identification de protéines (Heaton *et alii* 2009) à partir de tessons céramiques archéologiques ainsi que de triglycérides et triglycérides polymérisés (fig. 1).

## CONCLUSION

Depuis le milieu du XIX<sup>e</sup> s., les objets archéologiques attirent l'attention de quelques chimistes. Souvent marginalisés et isolés dans la science interdisciplinaire naissante qu'est l'archéologie biomoléculaire, ils participent pourtant à une meilleure connaissance des matériaux naturels et dégradés, mais aussi et surtout à l'application des technologies les plus récentes à l'étude structurale la plus précise possible, de mélanges souvent fort complexes et préservés en très faibles quantités. Que ce soit au tout début des analyses ou à l'heure actuelle, les identifications de matériaux anciens présentent diverses pertinences en fonction des méthodologies d'approche, des techniques analytiques employées et de l'interprétation des résultats. Si la technologie permet d'aller de plus en plus loin dans les caractérisations moléculaires, l'on ne doit oublier quelles sont les limites de chaque technique. Enfin, l'analyste doit garder son indépendance vis-à-vis de l'archéologue lors de l'interprétation des résultats bruts, afin de ne pas être trop influencé et d'être poussé à faire parler les spectres plus que ce qu'ils ne révèlent réellement.





## NOTES

1. B. FILLON, « Lettre à M. Letronne sur un tombeau antique découvert à Saint-Médard des Prés », *Revue archéologique ou Recueil de documents et de mémoires relatifs à l'étude des monuments, à la numismatique et à la philologie de l'Antiquité et du Moyen-Âge*, IV<sup>e</sup> année, 1<sup>re</sup> partie, Paris, 1847, p. 618-621 : « Des résines et un pot de terre noire rempli d'une composition verte et de cire. » « La plupart [des quarante vases en verre de fabrique romaine] contenaient encore des matières oléagineuses et résineuses peu altérées et qui donnent au feu une odeur parfumée. »
2. M.-E. CHEVREUL, « Recherches chimiques sur plusieurs objets archéologiques trouvés dans le département de la Vendée. Conférence présentée à l'Académie des Inscriptions et Belles-Lettres (29 déc. 1848) et à l'Académie des Sciences (29 janvier 1849) », p. 181-207.
3. On notera le test intéressant, dans une première étape d'examen, du chauffage d'un fragment de résine dans de l'eau bouillante et la caractérisation olfactive des vapeurs : Chevreul réalisait une hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau, technique actuelle de parfumerie qui permet d'extraire puis de condenser les principes volatils insolubles dans l'eau, à partir d'une plante.
4. Principe de thermodynamique chimique et définition de l'eutectique, mélange de deux corps purs dans différentes proportions et qui présente un point de fusion constant.
5. Aujourd'hui, les stérols sont considérés comme d'excellents marqueurs du fait de leur bonne conservation, mais ils nécessitent des méthodes de purification sélectives, du fait de leur faible concentration dans les huiles et les graisses natives.
6. Patrich et Arubas 1989 : de la composition élémentaire du baume analysé (64.86 % C, 9.26 % H, 0 % N, 0.5 % S, 25 % O) est déduite une formule brute globale  $C_{27}H_{46}O_8$ , « indicative d'une huile glycéridique ». En aucun cas, les proportions ne permettent de déterminer une telle formule, étant donné qu'il manque la masse moléculaire du composé (déterminée par spectrométrie de masse uniquement), ou tout au moins la distribution des masses moléculaires des composés dans l'échantillon. De plus, concernant l'interprétation de cette formule brute moyennée, elle est intermédiaire entre les acides gras ( $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ) et les triglycérides ( $C_{48}$ ,  $C_{54}$ ) pour le nombre de carbone, et indique une forte oxydation par les O (soit des dérivés hydroxylés, soit des diacides).
7. ~~Patrich et Arubas 1989 : de la composition élémentaire du baume analysé (64.86 % C, 9.26 % H, 0 % N, 0.5 % S, 25 % O) est déduite une formule brute globale  $C_{27}H_{46}O_8$ , « indicative d'une huile glycéridique ». En aucun cas, les proportions ne permettent de déterminer une telle formule, étant donné qu'il manque la masse moléculaire du composé (déterminée par spectrométrie de masse uniquement), ou tout au moins la distribution des masses moléculaires des composés dans l'échantillon. De plus, concernant l'interprétation de cette formule brute moyennée, elle est intermédiaire entre les acides gras ( $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ) et les triglycérides ( $C_{48}$ ,  $C_{54}$ ) pour le nombre de carbone, et indique une forte oxydation par les O (soit des dérivés hydroxylés, soit des diacides).~~
8. La matière organique est d'une telle complexité et d'une telle richesse que, pour une formule brute donnée, les molécules candidates (les isomères) peuvent atteindre plusieurs centaines ou milliers. La donnée de la formule brute ne permet, en aucun cas, de différencier les isomères.
9. Dans l'ordre de polarité croissante : hydrocarbures aliphatiques comme l'hexane, l'éther de pétrole ; hydrocarbures aromatiques, toluène ; solvants chlorés, dichlorométhane et chloroforme ; éther diéthylique ; cétones tels acétone, butanone ; puis les solvants protiques, alcools (éthanol, méthanol), les acides (acides acétique, formique) et enfin l'eau.
10. C. FRIEDEL et G. F. JAUBERT, *Revue générale de Chimie Pure et Appliquée*, Bureau de la Revue, 1902, p. 423 : « Kreis-Bäle insiste sur le fait que la réaction de Bellier, décelant la présence de l'huile d'arachides dans l'huile d'olives reste trop ignorée ; il reste cependant attentif au fait que les huiles exposées à l'action de la lumière ne donnent plus de réaction. »
11. Kling 1922, p. 532. Société des experts-chimistes de France, *Annales des falsifications et des fraudes*, vol. 33, n° 133-136, 1940, p. 24.
12. Lentini et Scala 2006, p. 209-243 : méthode de Halphen-Grimaldi, mélange de Bloor, réactions de Liebermann, Marquis, Bellier, Chen, Vitali, Becchi et McNally.
13. La méthode Halphen-Grimaldi (dibrome en solution dans le chloroforme) met en évidence des liaisons insaturées (alcènes et alcynes). En aucun cas ce réactif ne permet l'identification précise de sylvestrène, ni même de tout autre terpène insaturé.
14. Stern 2008 : on notera l'examen critique du test de Feigl et de son utilisation, notamment par P. McGovern pour la détection de l'acide tartrique et par conséquent du vin. L'analyse des mêmes échantillons par des méthodes structurales a infirmé la présence de vin. En effet, l'environnement post-dépositionnel, les pollutions anciennes et récentes, la complexité des résidus, conduisent facilement à des faux positifs.
15. L'analyse révèle la seule présence d'acides gras et de dérivés glycéridiques (tri-, di- et monoglycérides) alors que les baumes, myrrhes et encens sont caractérisés par une série de triterpènes, d'acides phénoliques, de polysaccharides (pour les myrrhes et gomme-oléorésines), mais ils ne renferment aucune trace de triglycérides.
16. C'est le cas des cires végétales, bien conservées en contexte archéologique de par leur forte hydrophobicité. Pour un exemple d'étude parallèle d'un matériau ancien et de son homologue moderne : le cas des cistes, Garnier et Dodinet sous presse.
17. Les colonnes remplies des années 1980 ont été remplacées par des colonnes capillaires de diamètre interne 0,53 mm, puis 0,32-0,25 mm jusqu'à 0,18 mm dans les années 1995-2000. Aujourd'hui les colonnes narrow-bore atteignent 0,10 à 0,05 mm.
18. Alors que les balayages rapides (de l'ordre de 10 000 amu/s) étaient réservés aux analyseurs à temps de vol (TOF, Time of Flight) à la fin des années 1990, les analyseurs plus courants et moins onéreux de type quadripolaire atteignent aujourd'hui des balayages de l'ordre de 12 000 amu/s. Ainsi, le spectromètre permet l'enregistrement de spectres à une fréquence de 10 à 50 Hz, voire 100 Hz, performance compatible avec la finesse des pics chromatographiques obtenus par GC haute résolution.
19. L'analyse du contenu d'un rhyton de la tombe du Roi Midas par HPLC montrant deux pics n'est pas réellement une analyse LC, mais plutôt une séparation-purification par chromatographie (McGovern *et alii* 1999), le premier pic (ou première fraction) correspondant à l'ensemble des triglycérides. Le but d'une analyse LC est de séparer au mieux les constituants d'un mélange complexe, afin de les identifier un à un en MS.
20. En agro-alimentaire, cosmétologie, pharmacologie, etc., les méthodes d'analyses sont régies et établies par des organismes internationaux proposant des protocoles standards souvent vétustes. L'information chimique obtenue est largement moins pertinente que celle extraite grâce aux moyens analytiques les plus récents. Il faudra attendre plusieurs années avant que les protocoles les plus performants, utilisés pour les matériaux anciens et précieux, soient transposés au monde de l'industrie. Les données disponibles dans la littérature, à propos des compositions globales en acides gras, ne sont plus d'aucune utilité.
21. Le filament est chauffé par passage d'un courant électrique et les molécules désorbées sous vide dans la source du spectromètre (direct temperature mass spectrometry, DT-MS). Dans le second cas, le creuset en quartz est chauffé dans la source et les molécules volatilisées (direct exposure mass spectrometry, DE-MS).
22. Méthode DE-MS : Regert 2002 ; Colombini *et alii* 2005<sup>b</sup> ; Modugno *et alii* 2006<sup>b</sup> ; Ribichini *et alii* 2008<sup>a</sup> et 2008<sup>b</sup>. Méthode DT-MS : Scalrone *et alii* 2003.
23. La technique s'appelle alors thermochimie ou Thermal Hydrolysis Methylation (THM) avec les réactifs TMAH ou TMAAc (hydroxyde ou acétate de tétraméthylammonium) ou TMSH (hydroxyde de triméthylsulfonium). Une silylation *in situ* peut être réalisée avec le HMDS (hexaméthyldisilazane).
24. Pour un bilan bibliographique et une présentation des possibilités d'analyse par thermochimie (notamment les corps gras, résines et polyphénols), Garnier 2003 et Garnier *et alii* 2003.
25. Étude de fragments résineux provenant du Fayoum (Hamm 2004) et d'encens de Qana (port yéménite, Hamm 2005) et de brais de bouleau néolithique (Regert 2006).
26. Le premier analyseur est souvent de type quadripolaire (noté Q), le deuxième étage du spectromètre est aussi un quadripôle (q) transformé en cellule de collision où se fragmente l'ion sélectionné selon sa masse. Le troisième étage où les ions fils sont analysés peut être un quadripôle (Q), un temps de vol (TOF) ou une trappe à ions (IT). L'analyse est décrite par ESI-Q-q-TOFMS/MS par exemple.



