



**HAL**  
open science

# Analyse moléculaire de substances organiques provenant des céramiques de Berstett

N Tarifa-Mateo, Philippe Schaeffer, Pierre Adam

► **To cite this version:**

N Tarifa-Mateo, Philippe Schaeffer, Pierre Adam. Analyse moléculaire de substances organiques provenant des céramiques de Berstett. [Rapport de recherche] UMR 7177. 2021. hal-03547313

**HAL Id: hal-03547313**

**<https://hal.science/hal-03547313>**

Submitted on 28 Jan 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Analyse moléculaire de substances organiques provenant des céramiques de Berstett

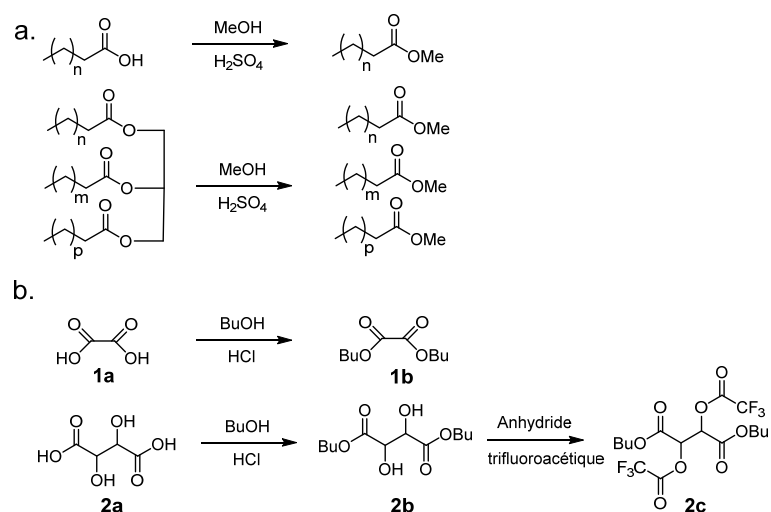
N. Tarifa Mateo, P. Schaeffer, P. Adam  
Equipe de Biogéochimie Moléculaire  
Institut de Chimie de Strasbourg  
Institut Le Bel  
4, rue Blaise pascal  
67000 Strasbourg

Nous avons réalisé l'analyse moléculaire par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) des extraits lipidiques de dix échantillons de céramiques qui ont été échantillonnés au niveau de la partie intérieure des céramiques par un décapage mécanique (Dremmel) de la surface, sur une profondeur de quelques millimètres. Les quantités de poudre échantillonnées sont de l'ordre de 0,1 à 3 grammes (**Tableau 1**).

<i>N° d'identification</i>	<i>Référence</i>	<i>Masse (g) des échantillons extraits avec BuOH/HCl</i>	<i>Masse (g) des échantillons extraits avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>
TCR01	16884-TCR-1061-1	0.30	1.13
TCR02	16884-TCR-1061-9	0.18	0.21
TCR03	16884-TCR-2032-1	1.06	2.39
TCR04	16884-TCR-2032-9	0.49	0.78
TCR05	16884-TCR-2204-1	0.46	1.24
TCR06	16884-TCR-2204-2	0.49	0.8
TCR07	16884-TCR-2067-14	0.13	0.2
TCR08	16884-TCR-2067-18	0.46	0.67
TCR09	16884-TCR-2128-10	0.90	1.25
TCR10	16884-TCR-2128-13	0.36	1.04

**Tableau 1** : Liste des échantillons analysés et quantités échantillonnées pour les extractions avec BuOH/HCl et MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Les poudres de céramiques obtenues par décapage mécanique ont ensuite été extraites selon deux protocoles différents. Le premier consiste en une extraction avec du méthanol contenant 2 % d'acide sulfurique. En effet, les travaux réalisés par Correo-Ascensio et Evershed (2014) sur l'analyse de résidus alimentaires dans les céramiques ont montré que des rendements d'extraction bien meilleurs pouvaient être obtenus en utilisant un protocole d'extraction avec du méthanol en présence d'acide sulfurique (MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 %) qu'avec une extraction plus classique avec des solvants organiques du type CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH en conditions non acides. Ces conditions sont supposées permettre l'extraction de matériel organique dans des pores des céramiques non accessibles avec des solvants organiques non acides. Ce traitement conduit également à l'hydrolyse des triglycérides, composés de hauts poids moléculaires non directement analysables par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), pour conduire à la libération d'acides gras sous forme d'esters méthyliques analysables par GC-MS (**Schéma 1**). Cette méthode est par ailleurs compatible avec la détection d'autres substances lipidiques contenues dans les céramiques ou l'identification de substances utilisées pour enduire les céramiques ou bien les réparer (e.g. résine, poix, brai de bouleau, ...).



**Schéma 1** : (a) Méthylation des acides gras et transestérification des triglycérides en présence de MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %), (b) Dérivation de l'acide oxalique **1a** et de l'acide tartrique **2a** lors du traitement avec, successivement, BuOH/HCl et l'anhydride trifluoroacétique.

Par ailleurs, nous avons réalisé pour chaque échantillon de céramique l'extraction d'une autre aliquote de poudre obtenue par décapage de la surface avec une approche permettant l'analyse de composés qui indiquent l'utilisation de la céramique pour la préparation ou le stockage de boissons fermentées. Ces composés comprennent l'acide oxalique **1a** (les numéros font référence aux structures présentées dans l'Annexe) qui est considéré comme un marqueurs de bière (e.g. Michel et al., 1993 ; Wang et al., 2016 ; Perruchini et al., 2018) de même que l'acide tartrique **2a**, un marqueur pour le vin (Michel et al., 1993 ; Garnier et Valamoti, 2016) ainsi que d'autres acides carboxyliques comme les acides succinique **3a**, pyruvique **4a**, fumarique **5a** et pimélique **6a** considérés, parfois, comme des marqueurs de fermentation (e.g. Garnier et Valamoti, 2016 ; Manzano et al., 2016 ; Perruchini et al., 2018) mais qui peuvent également correspondre à des produits d'oxydation d'acides gras insaturés (**6a**). La méthode d'extraction mettant en jeu le méthanol en présence d'acide sulfurique n'est cependant pas adaptée pour l'analyse de ces composés car elle conduit à la formation d'esters méthyliques qui, dans le cas de ces acides carboxyliques de bas poids moléculaires, sont très volatils et peuvent être perdus par évaporation lors du protocole mis en œuvre (évaporation des solvants sous pression réduite ou sous flux d'argon). C'est pourquoi nous avons substitué l'extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) par une extraction avec un mélange butanol/acide chlorhydrique (BuOH/HCl) selon un protocole adapté à partir de ceux mis en œuvre par Kajjout et al. (2012) et Garnier et Valamoti (2016) pour l'analyse d'acide tartrique par GC-MS. Il s'agit, à l'aide de ce protocole, d'extraire les acides et diacides carboxyliques et de les transformer en esters butyliques **1b-6b**, composés moins volatils que leurs équivalents sous forme d'esters méthyliques et qui peuvent être analysés par GC-MS. Il est important également d'effectuer le traitement avec BuOH/HCl directement sur la poudre de céramique et non pas sur un extrait obtenu à l'aide d'un solvant organique. En effet, les diacides comme l'acide oxalique **1a** et l'acide tartrique **2a** forment avec le calcium des sels très peu solubles (Garnier et Valamoti, 2016). Le traitement acide (BuOH/HCl) conduit à leur transformation tout d'abord en acides puis en esters qui sont extractibles avec le BuOH (**Schéma 1**). Enfin, comme l'acide tartrique **2a** possède, par ailleurs, deux fonctions alcools, une étape supplémentaire de dérivation de ces alcools en trifluoroacétates s'avère indispensable après l'étape de butylation pour transformer ce composé en un dérivé **2c** analysable par GC-MS (**Schéma 1**).

## 1. Protocole d'analyse

### *Extraction à l'aide de méthanol acidifié*

Une aliquote des échantillons de poudre de céramique ont été extraits avec du méthanol contenant 2 % (v/v) d'acide sulfurique (MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 %) (4 ml) après chauffage pendant 4 heures à 70 °C. Après retour à température ambiante, le mélange MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (surnageant) est récupéré par pipetage après décantation ou centrifugation et le solide résiduel est ré-extrait avec du MeOH (2 ml, 2 x). De l'eau (3 ml) est ajoutée à la phase méthanolique et les lipides sont alors extraits avec du cyclohexane (2 ml; 3 x). Les phases organiques ainsi obtenues sont mélangées et le solvant éliminé sous flux d'argon. Les extraits organiques obtenus sont filtrés sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle, AcOEt). Les fractions ainsi récupérées sont analysées par GC-MS après ajout d'un standard interne (*n*-C<sub>34</sub> ; 50 µL d'une solution à 24,98 ng/ µL).

### *Extraction à l'aide de butanol acidifié*

Les échantillons sont extraits avec un mélange butanol/acide chlorhydrique (BuOH/HCl, 1.5 N, 2 ml) pendant 4 heures à 90 °C. Après retour à température ambiante, le mélange BuOH/HCl est récupéré par pipetage après décantation et le solide résiduel est ré-extrait avec du dichlorométhane (DCM) (2 ml, 2 x). Les phases organiques ainsi obtenues sont combinées puis évaporées sous pression réduite. Les extraits sont alors transférés dans des piluliers avec du DCM et traités avec de l'anhydride trifluoroacétique (100 µl) à température ambiante. Au bout de 2 h, le solvant et le réactif sont évaporés sous flux d'argon. Les extraits ainsi obtenus sont ensuite fractionnés sur colonne de gel de silice. Les fractions apolaires éluées avec 3 volumes morts d'un mélange DCM/AcOEt (8/2) sont analysées par GC-MS.

### *Analyses par chromatographie gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (GC-FID)*

Les analyses par GC-FID ont été effectuées sur un appareil de type Hewlett Packard HP 6890 Series GC System équipé d'un injecteur on-column et d'une colonne capillaire HP-5 (30 m x 0,32 mm ; 0,25 µm). Le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène avec un débit constant de 2,5 mL/min. Le programme de température du four pour l'analyse des produits obtenus par extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) est le suivant : 70 °C (1 min), 70-200 °C (10 °C/min) ; 200-300 °C (10 °C/min) ; isotherme à 300 °C (20 min). Dans les cas des produits obtenus par extraction avec BuOH/HCl, le programme de température du four est le suivant : 70 °C (5 min), 70-200 °C (10 °C/min) ; 200-300 °C (10 °C/min) ; isotherme à 300 °C (20 min).

### *Analyses par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)*

Les analyses par GC-MS en impact électronique (EI, 70eV, balayage de masse allant de 50 *m/z* à 700 *m/z*) ont été réalisées avec un spectromètre de masse triple quadripôle TSQ Quantum (Thermo Scientific) couplé à un chromatographe en phase gazeuse Trace GC Ultra (Thermo Scientific) équipé d'un injecteur PTV (Programmed Temperature Vaporization) en mode « simili on column » et d'une colonne de type HP-5 MS (30 m x 0,25 mm ; 0,1 µm). L'ensemble est piloté par un ordinateur à l'aide du logiciel Xcalibur (Thermo Scientific). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit constant de 1,1 mL/min. Le même programme de température du four que celui utilisé pour les analyses en GC-FID est utilisé.

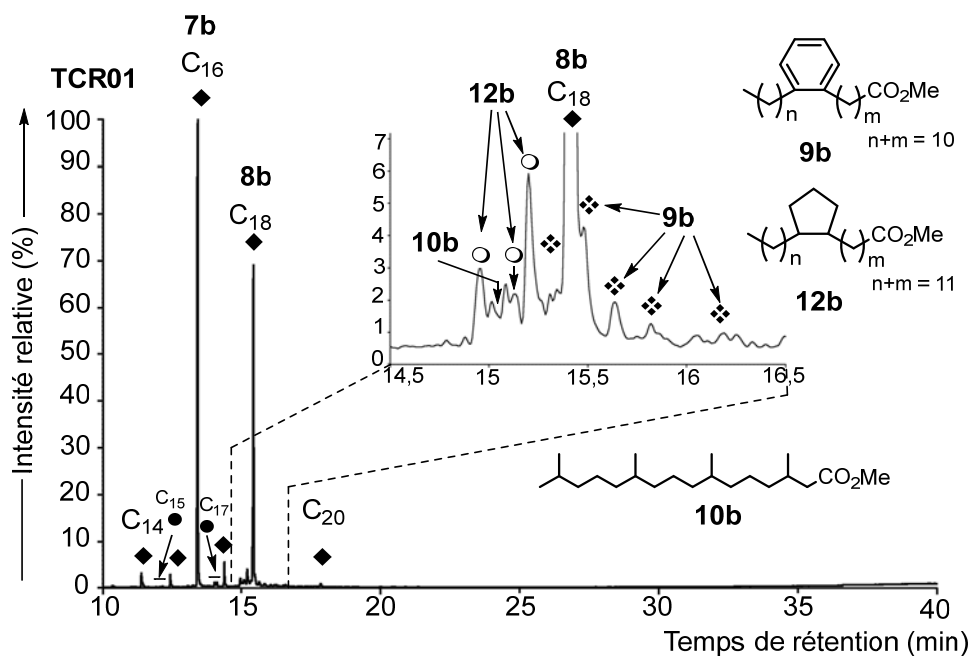
## 2. Résultats

### 2.1 Analyses des extraits obtenus avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %)

#### 2.1.1. Echantillon TCR01

La **Figure 1** présente le chromatogramme en phase gazeuse des composés obtenus par extraction de la poudre de céramique TCR01 avec le mélange MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). Les composés prédominants sont des esters méthyliques d'acides gras dont la distribution s'étend du terme en C<sub>14</sub> au terme en C<sub>20</sub>. Ces esters ont été formés par estérification par le méthanol d'acides gras libres dans l'échantillons qui peuvent être issus de l'hydrolyse d'esters lourds constituant de cires cuticulaires végétales ou de triglycérides, les constituants principaux des huiles végétales et graisses animales. Ils peuvent également être issus directement de la trans-estérification par le méthanol d'esters lourds et de triglycérides intacts encore présents dans la céramique.

Les termes largement prédominants sont les esters méthyliques des acides palmitique (**7b**) et stéarique (**8b**) qui sont des composés ubiquistes. Il est parfois difficile de se prononcer sur leur origine sur la seule base des proportions relatives entre ces deux acides. En effet, les proportions entre ces deux acides gras peuvent évoluer avec le degré d'altération subi par la matière organique par rapport à la proportion relative entre ces deux acides dans la substance grasse dont ils sont issus (e.g. Evershed et al., 1991). Des informations supplémentaires concernant leur origine pourraient être obtenues par une analyse de leur composition isotopique du carbone (e.g. Mottram et al., 1999 ; Copley et al., 2003 ; Craig et al., 2007, 2011).



**Figure 1** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR01 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires ; ❖ : esters méthyliques d'acides ω-(o-alkylphenyl)alcanoïques ; ○ : esters méthyliques d'acides cyclopentanylalcanoïques ; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés.

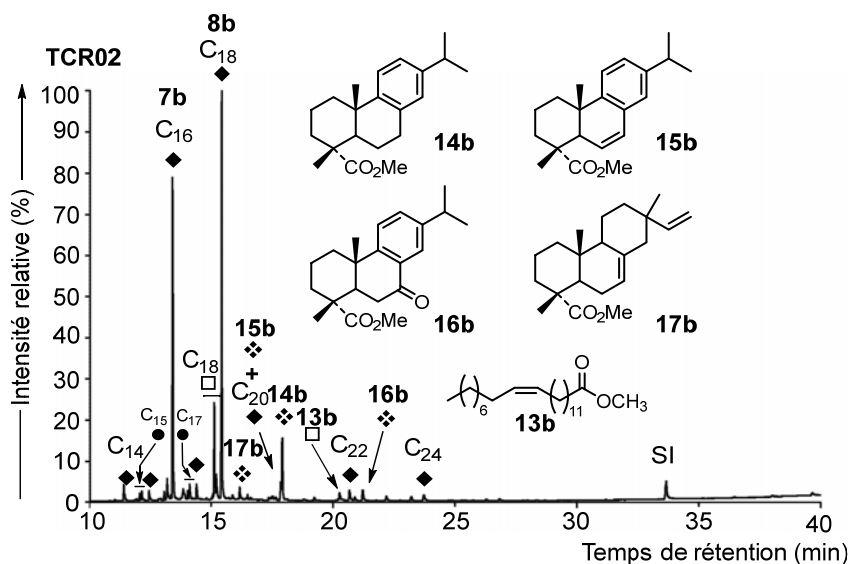
La fraction analysée contient également d'autres acides gras plus spécifiques comme les acides  $\omega$ -(*o*-alkylphényl)alcanoïques ici principalement basés sur des squelettes hydrocarbonés en C<sub>18</sub> (**9a**), qui sont des produits de cyclisation d'acides gras linéaires tri-insaturés (e.g. Hansel et al., 2004 ; Craig et al., 2007 , 2011; Lucquin et al., 2016) abondants dans les graisses d'animaux aquatiques, notamment, mais dont la formation nécessite néanmoins une étape de chauffage comme, par exemple, lors de la cuisson d'aliments (e.g. Hansel et al., 2004). Cependant, si les acides  $\omega$ -(*o*-alkylphényl)alcanoïques sont issus de la cuisson de viande d'animaux aquatiques, ils comprennent généralement des homologues allant de C<sub>16</sub>, à C<sub>22</sub> (e.g. Hansel et al., 2004 ; Craig et al., 2007 , 2011; Lucquin et al., 2016) or, ici, leur distribution semble limitée aux termes en C<sub>18</sub> avec une contribution en traces des termes en C<sub>20</sub>. Par ailleurs, lorsque ces composés sont issus de la transformation de lipides d'animaux aquatiques, ils sont généralement accompagnés par une contribution significative d'acide phytanique (**10a**) (e.g. Hansel et al., 2004 ; Craig et al., 2007 ; Lucquin et al., 2016). Ce composé n'est présent ici qu'à l'état de trace. Alternativement, l'acide phytanique **10a** peut également être trouvé en quantités relatives plus mesurées dans la graisse de ruminants (Lucquin et al., 2016). Chez les ruminants, l'acide phytanique est formé par transformation du phytol **11**, qui correspond à la chaîne latérale des chlorophylles, par des microorganismes vivant dans le rumen de l'animal. On peut donc proposer sur la base de ces observations que les acides gras trouvés dans la céramique TCR01 ne soient pas issus de lipides d'organismes aquatiques mais plutôt d'une autre source de lipides contenant des acides gras insaturés en C<sub>18</sub>. Ces composés pourraient conduire par cyclisation et aromatisation à la formation lors de la cuisson des acides  $\omega$ -(*o*-alkylphényl)alcanoïques **9a** trouvés dans cette céramique (e.g. Sébédio et Grandgirard, 1989 ; Christie et Dobson, 2000). A cet égard, il est également intéressant de noter la présence dans cette céramique d'acides cyclopentanealcanoïques **12a** qui ont été identifiés, par ailleurs, dans des huiles végétales riches en acides gras (poly)insaturés ayant subi un stress thermique important (e.g. Sébédio et Grandgirard, 1989 ; Sébédio et al., 1989 ; Dobson et al., 1996). Cependant, Christie et Dobson (2000) ont proposé que les dérivés cyclopentanealcanoïques saturés **12a** pourraient être issus de la cyclisation d'acides gras monoinsaturés induite thermiquement. On ne peut donc pas exclure que la substance grasse à l'origine de ces composés puisse être une graisse sous-cutanée animale qui contient également des acides gras insaturés, bien qu'en quantités relativement plus faibles que dans le cas d'huiles végétales. A cet égard, on peut noter également que l'extrait de l'échantillon TCR01 ne contient que peu d'acides gras au-delà de C<sub>18</sub>, ce qui conduit à envisager l'hypothèse d'une origine animale partielle, voire principale, pour les résidus organiques dans la céramique. En effet, dans le cas de substances végétales, la présence d'homologues supérieurs à prédominance paire serait attendue.

Enfin, les traces d'acide phytanique **10a** mises en évidence pourraient, comme mentionné plus haut, provenir d'une contribution de graisse de ruminants (Lucquin et al., 2016) aux résidus organiques dans la céramique. Toutefois, les faibles quantités de ce composé ainsi que la présence d'acides gras ramifiés en C<sub>15</sub> et C<sub>17</sub> (composés qui sont généralement trouvés dans les graisses sous-cutanées des ruminants et qui proviennent de l'activité microbienne dans le rumen (Dudd et al., 1999 ; Evershed, 1993 ; Drieu, 2017)) conduisent également à envisager une contribution de graisse d'animaux monogastriques comme le porc. Il en est de même de la prédominance relative de l'ester en C<sub>16</sub> **7b** par rapport à celui en C<sub>18</sub> **8b** (e.g. Romanus et al., 2007 ; Han et al., 2021). L'analyse de leur composition isotopique du carbone permettrait de trancher entre ces hypothèses ou d'évaluer l'importance respective de ces deux types de contributions (e.g. Mottram et al., 1999 ; Copley et al., 2003 ; Craig et al., 2007, 2011).

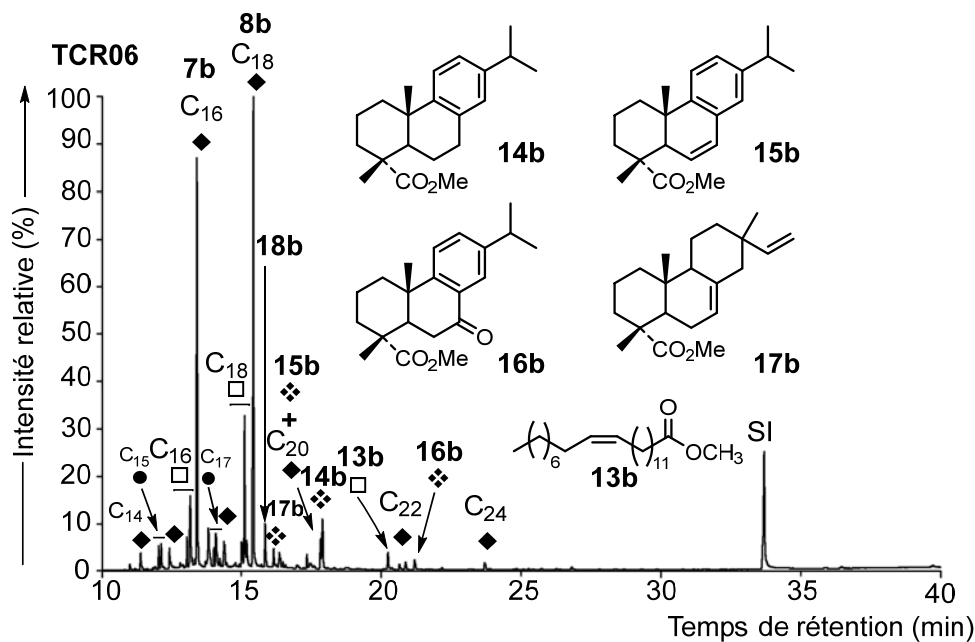
Pour conclure, la céramique TCR01 pourrait avoir servi à la cuisson de viande (ruminants et animaux monogastriques) avec, éventuellement, une contribution d'origine végétale riche en acides gras insaturés peut-être à l'origine des acides  $\omega$ -(*o*-alkylphényl)alcanoïques **9a**. En ce qui concerne le mode de cuisson, il s'agirait donc ici d'une cuisson à forte température de type friture plutôt que qu'une cuisson à plus basse température de type mijotage. Il est possible, enfin, que de la graisse animale ait été utilisée non pas en tant qu'aliment, mais lors de la fabrication de la céramique, comprenant une étape de traitement à chaud de la surface de la céramique après cuisson (Drieu, 2017), ce qui pourrait également rendre compte de la présence de marqueurs de chauffe intense.

### 2.1.2. Echantillons TCR02, TCR06 et TCR10

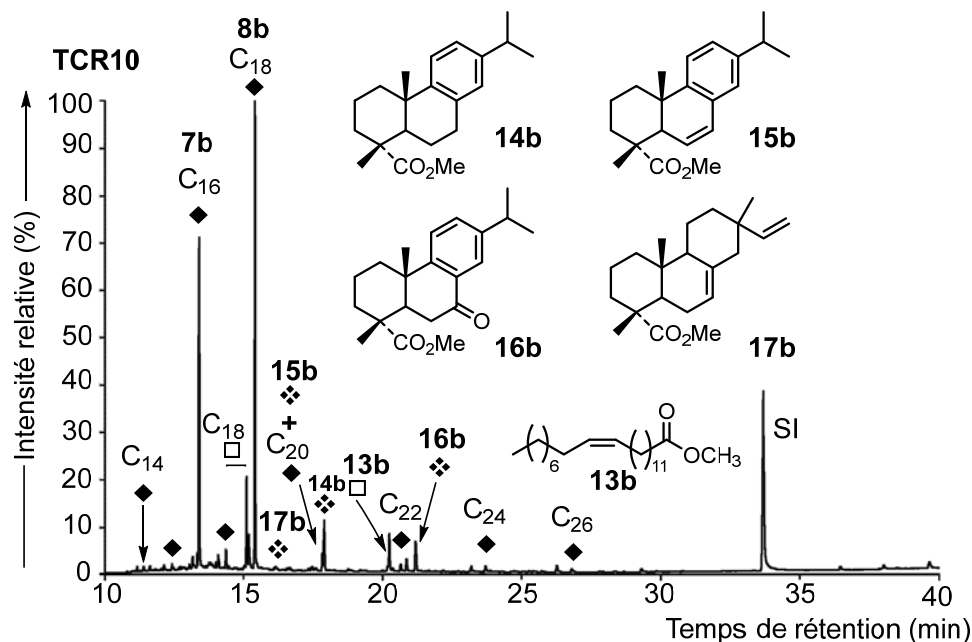
Les distributions des composés obtenus par extraction de la poudre de céramique TCR02, TCR06 et TCR10 avec le mélange MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) (**Figures 2, 3, 4**) sont très semblables et sont caractérisées par la présence d'acide érucique (acide gras monoinsaturé en C<sub>22</sub>) **13a** et d'acides diterpéniques **14a-17a** à côté des composés prédominants que sont les esters méthyliques d'acides gras dont la distribution s'étend du terme en C<sub>14</sub> au terme en C<sub>24</sub> (TCR02, TCR06) ou en C<sub>26</sub> (TCR10). La prédominance de l'ester méthylique de l'acide stéarique **8a** par rapport à celui de l'acide palmitique **7a** ainsi que la contribution limitée d'esters au-delà de C<sub>18</sub> est compatible avec une origine principalement animale pour les substances grasses dont ces composés sont issus (Evershed et al., 1997 ; Romanus et al., 2007 ; Han et al., 2021 ; Drieu, 2017). Cette origine ne peut cependant être précisée plus en détail en l'absence de données isotopiques du carbone (e.g. Mottram et al., 1999 ; Copley et al., 2003 ; Craig et al., 2007, 2011). Cependant, on peut proposer que la contribution animale aux substances grasses dont sont issus les composés **7a** et **8a** provienne plutôt d'animaux monogastriques que de ruminants. En effet, la présence de l'ester méthylique de l'acide phytanique **10a**, qui peut être interprétée comme la marque de graisses de ruminants (Craig et al., 2007 ; Lucquin et al., 2016), n'a pas été observée.



**Figure 2** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR02 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires ; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés ; ◇ : esters méthyliques d'acides diterpéniques ; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés. SI : standard interne.



**Figure 3 :** Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR06 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires ; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés ; ❖ : esters méthyliques d'acides diterpéniques ; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés. SI : standard interne.



**Figure 4 :** Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR10 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires ; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés ; ❖ : esters méthyliques d'acides diterpéniques. SI : standard interne.



Par ailleurs, la contribution des acides ramifiés à nombre impair de carbone ( $C_{15}$  et  $C_{17}$ ) que l'on trouve également dans les graisses de ruminants et qui provient de l'activité microbienne dans le rumen (Evershed, 1993, Dudd et al., 1999 ; Drieu, 2017) reste plutôt faible (TCR02, **Figure 2** ; TCR06, **Figure 3**) voire quasi-absente (TCR10, **Figure 4**). Enfin, ces acides peuvent également provenir des microorganismes dans les sols (Dudd et al., 1998, Drieu, 2017) où les céramiques ont été trouvées.

L'acide érucique **13a** qui a été mis en évidence dans ces trois céramiques est un acide gras abondant dans les huiles provenant de graines de Brassicacées (e.g. Mukherjee et Kiwitt, 1984) et a été trouvé en contexte archéologique notamment dans le cas de lampes (e.g. Colombini et al., 2005a, b ; Mitkidou et al., 2008 ; Romanus et al., 2008). Il ne s'agit sans doute pas d'une contribution majeure aux substances grasses imprégnées sur la surface de ces céramiques car, dans le cas des huiles de Brassicacées, l'acide gras saturé en  $C_{16}$  (**7a**) devrait, en effet, être plus important que l'acide gras saturé en  $C_{18}$  (**8a**) (e.g. Mukherjee et Kiwitt, 1984, Sharafi et al., 2015) bien que, comme évoqué plus haut, les proportions entre ces deux acides gras puissent évoluer en fonction du degré d'altération subi par la matière organique (e.g. Evershed et al., 1991). Si les acides en  $C_{18}$  insaturés et l'acide érucique **13a** sont parfois les acides gras prédominants dans les huiles de Brassicacées (e.g. Mukherjee et Kiwitt, 1984, Sharafi et al., 2015), leur importance limitée ici par rapport aux acides saturés pourrait également s'expliquer par leur sensibilité aux processus d'altération (oxydation).

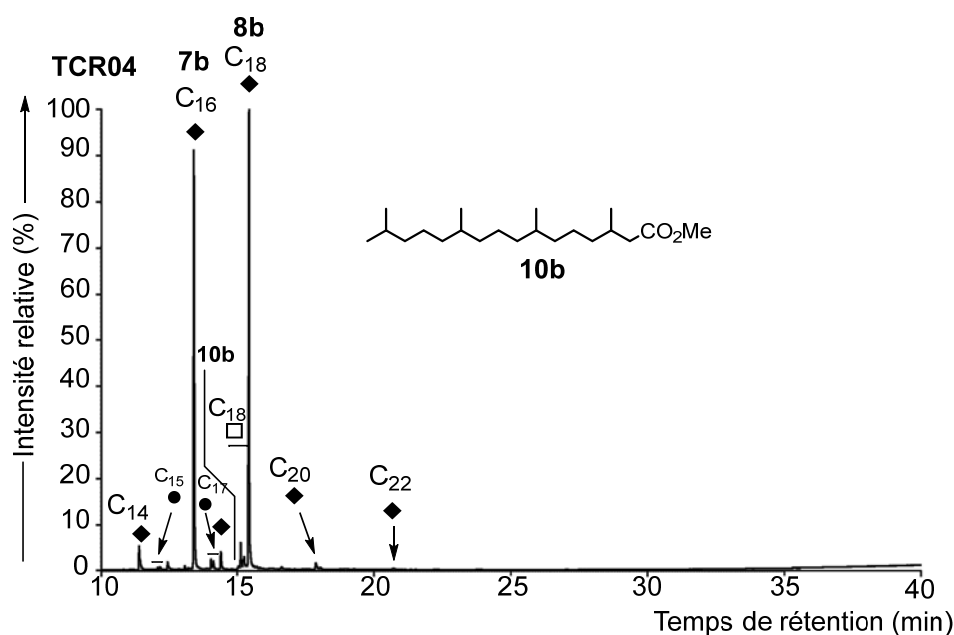
Ces trois échantillons sont également caractérisés par la présence de composés de type acides diterpéniques de la série de l'abiétane (**14a-16a**) et du pimarane (**17a**) indiquant une contribution organique provenant de Pinacées (e.g. Evershed et al., 1985 ; Colombini et al., 2003, Connan et Nissenbaum, 2003 ; Bailly, 2017 ; Bailly et al., 2016). L'absence de diterpènes aromatiques comme le rétène **18** et de composés mono- et diaromatiques apparentés (**19, 20**, respectivement) indique que la substance issue de Pinacées n'a pas subi un stress thermique important et pourrait donc correspondre à de la résine plutôt qu'à de la poix, ce dernier étant dugoudron obtenu par chauffage de bois de conifère (e.g. Evershed et al., 1985 ; Colombini et al., 2003 ; Connan et Nissenbaum, 2003 ; Bailly et al., 2016). Dans le cas de céramiques, les résines de Pinacées peuvent avoir été utilisées pour étanchéifier la céramique (Rageot et al., 2016 ; Drieu, 2017), pour aromatiser les aliments ou les substances préparés ou stockés dans les céramiques ou pour favoriser leur conservation (Garnier et al., 2003 ; Colombini et al., 2005b ; Mitkidou et al., 2008 ; Drieu, 2017).

### 2.1.3. Echantillons TCR03 et TCR05

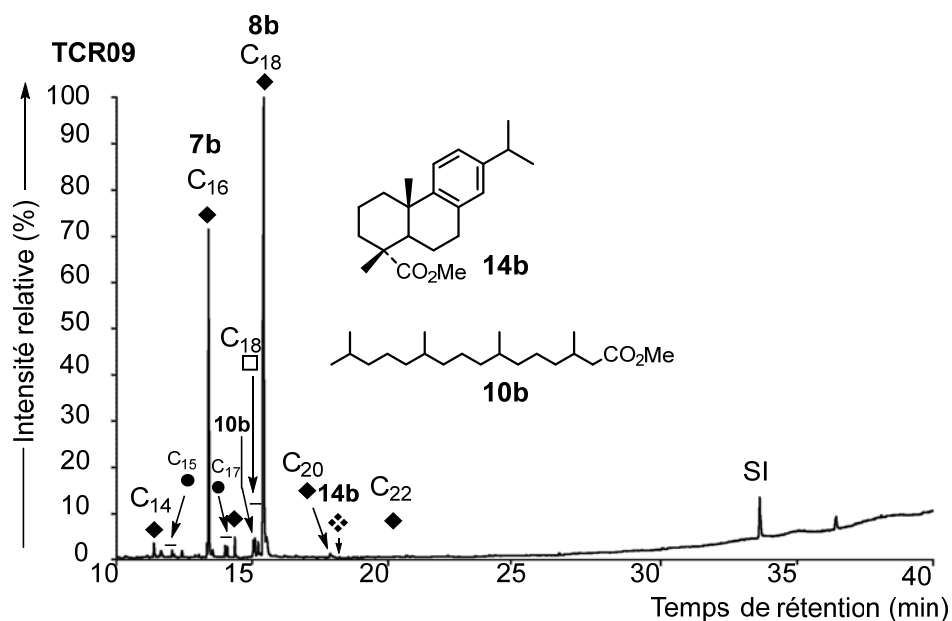
Dans le cas de l'échantillon TCR03, les rendements d'extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) ont été très faibles et un composé principal correspondant à une contamination industrielle a été mis en évidence dans le chromatogramme en phase gazeuse de la fraction extraite de l'échantillon (non présenté). Les autres produits présents en traces correspondent également à des contaminations. Dans le cas de l'échantillon TCR05, la quantité d'extrait obtenue est trop faible pour pouvoir être analysée par GC.

#### 2.1.4. Echantillons TCR04 et TCR09

Les chromatogrammes en phase gazeuse des extraits obtenus avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) des échantillons TCR04 et TCR09 sont présentés sur les **Figures 5** et **6**. Ils montrent la présence presque exclusive des esters méthyliques des acides palmitique **7a** et stéarique **8a** avec une prédominance du terme en C<sub>18</sub> ainsi qu'une faible contribution d'acides monoinsaturés en C<sub>18</sub> et d'acides gras saturés au-delà de C<sub>20</sub>. Ces observations orientent plutôt vers une graisse animale sous-cutanée comme origine principale des résidus organiques trouvés dans ces céramiques (Evershed et al., 1991 ; Drieu, 2017). On peut noter également la présence en trace de l'acide phytanique **10a** qui a souvent été associé à des lipides issus d'organismes aquatiques (e.g. Hansel et al., 2004 ; Craig et al., 2007 ; Lucquin et al., 2016). Cependant, comme mentionné plus haut, en l'absence d'autres acides carboxyliques spécifiques comme les acides ω-(o-alkylphenyl)alcanoïques (e.g. **9a**), l'acide phytanique **10a** peut s'interpréter comme un marqueur de graisse de ruminants (e.g. Lucquin et al., 2016). Il en est de même des acides ramifiés en C<sub>15</sub> et C<sub>17</sub> que l'on trouve également dans les graisses de ruminants (Dudd et al., 1999 ; Evershed, 1993, Drieu, 2017) mais qui peuvent également être issus de l'activité microbienne dans les sols (Dudd et al., 1998, Drieu, 2017). Quant à l'ester méthylique de l'acide déhydroabiétique **14a**, il pourrait provenir, comme cela a été mentionné dans le cas des échantillons TCR02, TCR06, et TCR10, d'un traitement d'étanchéification de la surface de la céramique par de la résine de conifère ou d'un ajout devant favoriser la conservation du contenu de la céramique ou dans un but d'aromatisation (Drieu, 2017). Cependant, il n'a été trouvé qu'en trace et pourrait également provenir de la matière organique du sol environnant (e.g. Trendel et al., 2010).



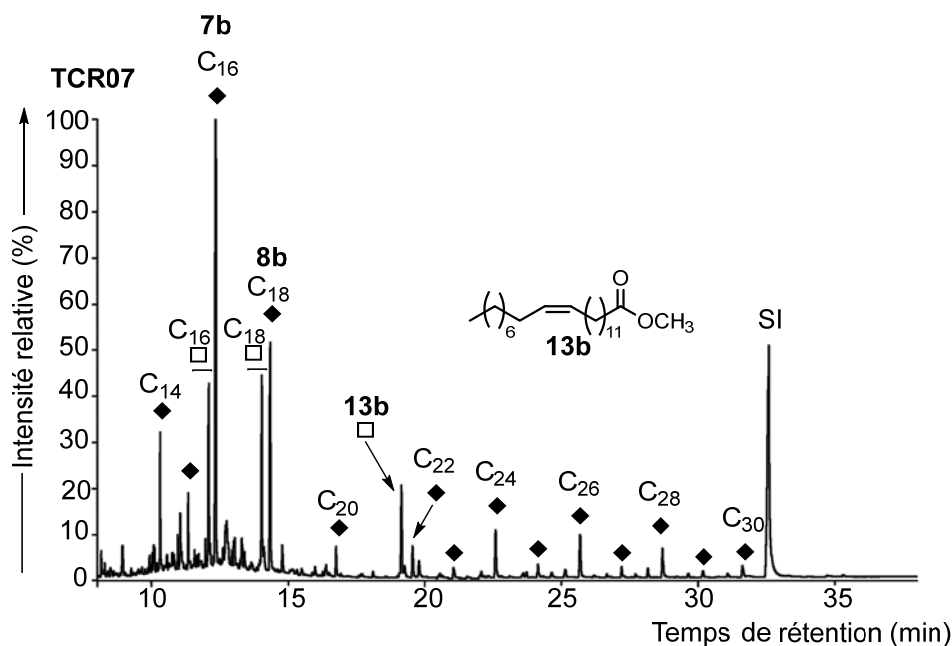
**Figure 5** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR04 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés.



**Figure 6** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR9 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés; ❖ : esters méthyliques d'acides diterpéniques; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés. SI : standard interne.

#### 2.1.5. Echantillon TCR07

Les composés principaux obtenus par extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) sont des esters méthyliques d'acides gras linéaires dont la distribution s'étend du terme en C<sub>14</sub> au terme en C<sub>30</sub> (**Figure 7**). Les termes largement prédominants sont les esters méthyliques des acides palmitique **7a** et stéarique **8a** avec une prédominance importante du palmitate de méthyle **7b** par rapport au stéarate de méthyle **8b**, ce qui conduit à envisager une origine végétale pour ces composés (Dubois et al., 2007 ; Drieu et al., 2017). Cette hypothèse est renforcée par la présence en proportions significatives d'esters d'acides gras insaturés en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> (Dubois et al., 2007 ; Drieu et al., 2007) et de l'ester méthylique de l'acide érucique **13a** qui est considéré comme un marqueur d'huiles de Brassicacées (e.g. Mukherdjee et Kiwitt, 1984, Sharafi et al., 2015). Une contribution d'origine végétale est, par ailleurs, également signalée par la présence d'acides gras plus lourds en C<sub>24</sub>-C<sub>30</sub> issus de cires végétales (e.g. Gülz et al., 1994).



**Figure 7** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR07 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés. SI : standard interne.

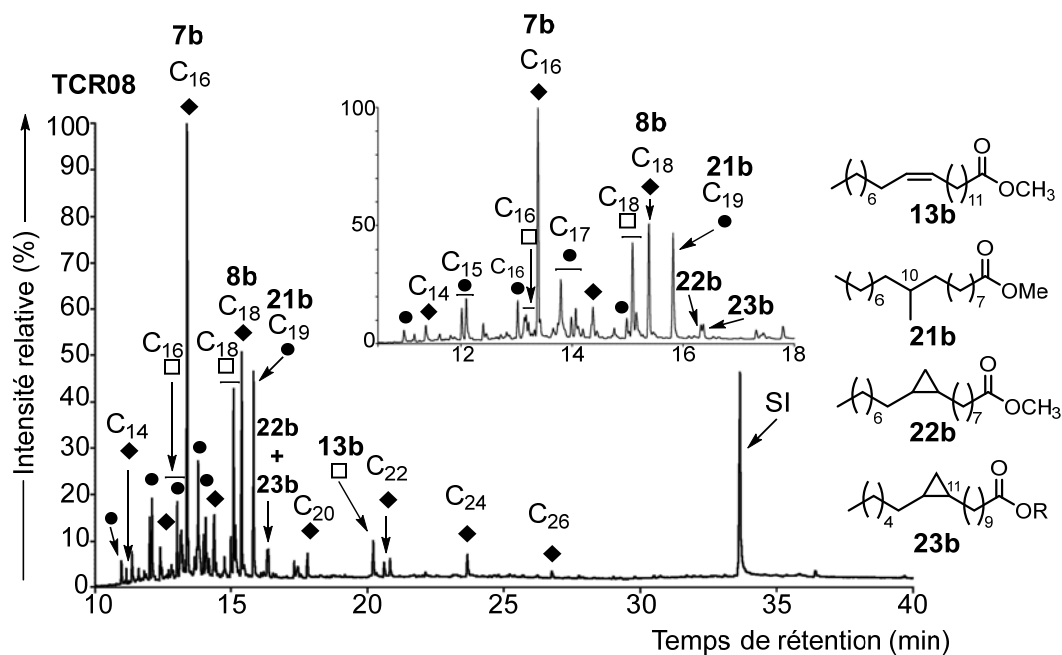
#### 2.1.6. Echantillon TCR08

L'échantillon TCR08 présente des similitudes avec l'échantillon TCR07. En effet, les composés principaux obtenus par extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %) sont des esters méthyliques d'acides gras linéaires dont la distribution, un peu moins étendue que dans le cas de l'échantillon TRC07, va du terme en C<sub>14</sub> au terme en C<sub>26</sub> (**Figure 8**). Une contribution d'huile d'origine végétale peut donc également être proposée dans ce cas et repose, en particulier, sur : (1) la prédominance importante du palmitate de méthyle **7b** par rapport au stéarate de méthyle **8b** (Dubois et al., 2007 ; Drieu et al., 2017), (2) la présence en proportions significatives d'esters d'acides insaturés en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> (Dubois et al., 2007 ; Drieu et al., 2007) et de l'ester méthylique de l'acide érucique (**13b**), un marqueur d'huiles de Brassicacées (e.g. Mukherjee et Kiwitt, 1984, Sharafi et al., 2015), (3) la présence d'acides gras plus lourds en C<sub>22</sub>-C<sub>26</sub> qui pourraient être issus de cires végétales (e.g. Gülz et al., 1994).

Cependant, l'extrait de l'échantillon TCR08 contient également de nombreux esters méthyliques d'acides gras d'origine microbienne. Il s'agit par exemple d'esters de l'acide 10-méthylstéarique **21a** (acide tuberculostéarique), d'acides gras monocycliques en C<sub>19</sub> portant un cyclopropane **22a** et **23a** (acide dehydrosterculique et acide lactobacillique, respectivement) et des acides gras ramifiés en C<sub>15</sub> et C<sub>17</sub>. On peut trouver les acides gras ramifiés en C<sub>15</sub> et C<sub>17</sub> dans la graisse ou le lait de ruminants où ils sont issus de microorganismes se développant dans le rumen de ces animaux (Evershed, 1993 ; Dudd et al., 1999 ; Vlaeminck et al., 2006. Drieu, 2017), mais ils peuvent également provenir de microorganismes actifs dans les sols et sédiments (e.g. Boon et al., 1977 ; Dudd et al., 1998). De même, les acides cyclopropaniques **22a** et **23a** ont été détectés dans des produits laitiers (Cagliani et al., 2014). Ils sont alors issus de l'ensilage utilisé pour nourrir les bovidés. Il s'agit

en effet de lipides de bactéries impliquées dans la fermentation (e.g. bactéries lactiques ; Montanari et al., 2010; Cagliani et al., 2014) qui peuvent également jouer un rôle dans la préparation d'aliments fermentés. Enfin, l'acide tuberculostéarique **21a** est caractéristique des actinomycètes qui sont des bactéries que l'on trouve essentiellement dans les sols (Macnaughton et O'Donnell, 1994).

La présence de ces marqueurs bactériens pourrait signifier que la céramique a contenu un aliment ou une substance vraisemblablement d'origine végétale qui a fermenté de manière intentionnelle ou, plus simplement, qui a été corrompue par des microorganismes. On ne peut cependant pas exclure que cette empreinte moléculaire ait été héritée du sol environnant.



**Figure 8** : Chromatogramme en phase gazeuse (GC-MS, EI, 70 eV) des lipides obtenus par extraction de la céramique TCR08 avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %). ◆ : esters méthyliques d'acides gras linéaires ; □ : esters méthyliques d'acides gras insaturés ; ● : esters méthyliques d'acides gras ramifiés. SI : standard interne.

## 2.2. Analyses des extraits obtenus avec BuOH/HCl

L'analyse des extraits obtenus avec BuOH/HCl a généralement conduit à des distributions d'acides gras similaires à celles obtenues par extraction avec MeOH/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 %), les acides étant cette fois analysés sous forme d'esters butyliques. Tout au plus peut-on noter la présence de dérivés d'acides gras à chaînes plus courtes (jusqu'en C<sub>6</sub>) ainsi que de diacides vraisemblablement issus de la dégradation d'acides gras insaturés, la présence de la chaîne butyle rendant ces composés moins volatils que leurs analogues méthylés. Ce protocole n'a donc pas permis de mettre en évidence de marqueurs de boissons fermentées comme l'acide oxalique **1a** (bière) ou l'acide tartrique **2a** (vin), comme cela avait été initialement envisagé.

### 3. Conclusion

L'analyse d'échantillons provenant de dix céramiques trouvées à Berstett a permis de mettre en évidence principalement des contributions de substances grasses d'origine animale, végétale ou microbienne en proportions variables selon les échantillons sauf dans les échantillons TCR03 et TCR05 où les quantités d'extraits obtenues étaient trop faibles pour permettre leur analyse. La présence de marqueurs de résine de Pinacées a également pu être mise en évidence dans quatre céramiques. Cinq typologies moléculaires différentes ont ainsi pu être dégagées.

#### 1. TCR01

La distribution des acides gras linéaires conduit à proposer **une origine animale partielle, voire principale, pour les substances grasses résiduelles**. Si la présence d'acide phytanique indique clairement une petite contribution provenant de graisse de ruminants, les faibles proportions de cet acide ainsi que des acides ramifiés en  $C_{15}$  et  $C_{17}$  conduisent à proposer que la contribution provenant **d'animaux monogastriques est prédominante**. Compte tenu de la présence de marqueurs caractéristiques de substances grasses ayant subi un stress thermique (acides gras portant un cycle aromatique ou en cyclopentane), la céramique TCR01 pourrait donc avoir servi pour la **cuisson de viande** (ruminants et animaux monogastriques) avec, éventuellement, une **contribution d'aliments d'origine végétale riches en acides gras insaturés selon un mode de cuisson à haute température, de type friture**. Il est possible enfin que de la graisse animale ait été utilisée pour le **traitement à chaud de la surface de la céramique après cuisson** lors de sa préparation, ce qui pourrait également rendre compte de la présence de marqueurs de chauffe intense.

#### 2. TCR02, TCR06, TCR10

Les distributions des acides gras semblent indiquer une **origine principalement animale (animaux monogastriques)** pour les résidus organiques dans ces trois céramiques. Une contribution **d'origine végétale est également envisagée** en raison de la détection d'acide érucique, un marqueur d'huile de Brassicacées, et d'acides gras au-delà de  $C_{20}$  en faibles quantités. Ces trois céramiques sont également caractérisées par la présence de composés diterpéniques issus de **résines de Pinacées** qui peuvent avoir été utilisées pour étanchéifier les céramiques, pour aromatiser les aliments ou les substances préparés ou stockés dans les céramiques ou pour favoriser leur conservation

#### 3. TCR04, TCR09

La prédominance de l'acide stéarique, la présence d'acide phytanique ainsi qu'une faible contribution d'acides gras insaturés en  $C_{18}$  et d'acides gras au-delà de  $C_{20}$  oriente vers une **graisse sous-cutanée de ruminants** comme origine principale des résidus organiques trouvés dans ces deux céramiques.

#### 4. TCR07

L'extrait obtenu à partir de cet échantillon présente une distribution d'acides gras caractérisée par la présence en proportions significatives d'acides insaturés en  $C_{16}$  et  $C_{18}$ , d'acide érucique (un marqueur de Brassicacées), ainsi que d'acides gras plus lourds (e.g.  $C_{24}$ -

C<sub>30</sub>). C'est pourquoi, une **origine végétale** a été attribuée aux substances grasses détectée dans la céramique.

## 5. TCR08

La distribution des acides gras linéaires présents dans cet échantillon présente des similitudes avec celle mis en évidence dans le cas de l'échantillon TCR07. Les résidus organiques dans cette céramique comprennent donc vraisemblablement une **composante végétale**. L'abondance et la variété des acides gras microbiens détectés par ailleurs permet de proposer que la céramique a contenu **un aliment ou une substance d'origine végétale qui a fermenté de manière intentionnelle ou qui a été corrompu par des microorganismes**. On ne peut pas exclure que cette empreinte moléculaire ait été héritée du sol environnant.

Enfin, l'analyse des extraits obtenus avec BuOH/HCl n'a **pas permis de mettre en évidence des marqueurs de boissons fermentées** comme l'acide oxalique (bière) ou l'acide tartrique (vin).

## Références

- Bailly, L., 2015. Caractérisation moléculaire et isotopique de goudrons et résines archéologiques dérivés de conifères en contexte maritime. Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, France.
- Bailly, L., Adam, P., Charrié, A., Connan, J., 2016. Identification of guaiacyl dehydroabietates as novel markers of wood tar from Pinaceae in archaeological samples. *Organic Geochemistry* 100, 80-88. [doi.org/10.1016/j.orggeochem.2016.07.009](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2016.07.009).
- Boon, J.J., De Leuw, J.W., Hoek, C.J. Vosian J.H., 1977. Significance and taxonomic value of iso and anteiso monoenic fatty acids and branched beta-hydroxy acids in *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Bacteriology* 129, 1183-1191. [doi.org/10.1128/jb.129.3.1183-1191.1977](https://doi.org/10.1128/jb.129.3.1183-1191.1977).
- Cagliani, A., Marseglia, A., Palla, G., 2014. An overview on the presence of cyclopropane fatty acids in milk and dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 7828-7832. [doi.org/10.1021/jf4057204](https://doi.org/10.1021/jf4057204).
- Christie, W.W., Dobson, G., 2000. Formation of cyclic fatty acids during the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology* 102, 515-520. [doi.org/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9<515::AID-EJLT515>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<515::AID-EJLT515>3.0.CO;2-Z).
- Colombini, M.P., Giachi, G., Modugno, F., Pallecchi, P., Ribechini, E., 2003. The characterization of paints and waterproofing materials from the shipwrecks found at the archaeological site of the Etruscan and Roman harbor of Pisa (Italy). *Archaeometry* 45, 659-674. [doi.org/10.1046/j.1475-4754.2003.00135.x](https://doi.org/10.1046/j.1475-4754.2003.00135.x).
- Colombini M.P., Modugno F., Ribechini E., 2005a, Organic mass spectrometry in archaeology: evidence for *Brassicaceae* seed oil in Egyptian ceramic lamps. *Journal of Mass Spectrometry* 40, 890-898. [doi.org/10.1002/jms.865](https://doi.org/10.1002/jms.865).

- Colombini, M.P., Giachi, G., Modugno, F., Ribechini, E., 2005b. Characterisation of organic residues in pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt). *Microchemical Journal* 79, 83-90. [doi.org/10.1016/j.microc.2004.05.004](https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.05.004).
- Copley, M.S., Berstan, R., Dudd, S.N., Docherty, G., Mukherjee, A., Straker, V., Payne, S., Evershed, R.P., 2003. Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 1524-1529. [doi/10.1073/pnas.0335955100](https://doi.org/10.1073/pnas.0335955100).
- Connan, J., Nissenbaum, A., 2003. Conifer tar on the keel and hull planking of the Ma'agan Mikhael Ship (Israel, 5<sup>th</sup> century BC): identification and comparison with natural products and artefacts employed in boat construction. *Journal of Archaeological Science* 30, 709-719. [doi.org/10.1016/S0305-4403\(02\)00243-1](https://doi.org/10.1016/S0305-4403(02)00243-1).
- Correo-Ascensio, M., Evershed, R.P., 2014. High throughput screening of organic residues in archaeological potsherds using direct acidified methanol extraction. *Analytical Methods* 6, 1330-1340. [doi.org/10.1039/C3AY41678J](https://doi.org/10.1039/C3AY41678J).
- Craig, O.E., Forster, M., Andersen, S.H., Koch, E., Crombé, P., Milner, N.J., Stern, B., Bailey, G.N., Heron, C.P., 2007. Molecular and isotopic demonstration of the processing of aquatic products in Northern European prehistoric pottery. *Archaeometry* 49: 135-152. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2007.00292.x>
- Craig, O.E., Heron, C.P., 2011. Ancient lipids reveal continuity in culinary practices across the transition to agriculture in Northern Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 17910-17915. [doi/10.1073/pnas.1107202108](https://doi.org/10.1073/pnas.1107202108).
- Dobson, G., Christie, W.W., Sébédio, J.L., 1996. Monocyclic saturated fatty acids formed from oleic acid and heated sunflower oils. *Chemistry and Physics of Lipids* 82, 101-110. [doi.org/10.1016/0009-3084\(96\)02567-4](https://doi.org/10.1016/0009-3084(96)02567-4)
- Drieu, L., 2017. Fabrication et usages des poteries durant le Néolithique et la Protohistoire en Europe : les apports de l'archéologie moléculaire. Thèse de Doctorat, Université Côte d'Azur.
- Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M., 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 710-732. [doi.org/10.1002/ejlt.200700040](https://doi.org/10.1002/ejlt.200700040).
- Dudd, S.N., Regert, M., Evershed, R.P., 1998. Assessing microbial lipid contributions during laboratory degradations of fats and oils and pure triacylglycerols absorbed in ceramic potsherds. *Organic Geochemistry* 29, 1345-1354. [10.1016/S0146-6380\(98\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(98)00093-X).
- Dudd, S.N., Evershed, R.P., Gibson, A.M., 1999. Evidence for varying patterns of exploitation of animal products in different prehistoric pottery traditions based on lipids preserved in surface and absorbed residues. *Journal of Archaeological Science* 26, 1473-1482. [doi.org/10.1006/jasc.1998.0434](https://doi.org/10.1006/jasc.1998.0434).
- Evershed, R.P., Jerman, K., Eglinton, G., 1985. Pine wood origin for pitch from the Mary Rose. *Nature* 314, 528-530. [doi.org/10.1038/314528a0](https://doi.org/10.1038/314528a0).
- Evershed, R.P., Heron, C., Charters, S., Goad, L.J., 1991. The survival of food residues: new methods of analysis, interpretation and application. *Proceedings of the British Academy* 77, 187-208.



Evershed, R.P., 1993. Biomolecular archaeology and lipids. *World Archaeology* 25, 74-93. [doi.org/10.1080/00438243.1993.9980229](https://doi.org/10.1080/00438243.1993.9980229).

Evershed, R.P., Mottram, H.R., Dudd, S.N., Charters, S., Stott, A.W., Lawrence, G.J., Gibson, A.M., Conner, A., Blinkhorn, P.W., Reeves, V., 1997. New criteria for the identification of animal fats preserved in archaeological pottery. *Naturwissenschaften* 84, 402-406. [doi.org/10.1007/s001140050417](https://doi.org/10.1007/s001140050417).

Garnier, N., Richardin, P., Cheynier, V., Regert, M., 2003. Characterization of thermally assisted hydrolysis and methylation products of polyphenols from modern and archaeological vine derivatives using gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 493, 137-157. [doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00869-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00869-9).

Garnier, N., Valamoti, S.M., 2016 Prehistoric wine-making at Dikili Tash (Northern Greece): Integrating residue analysis and archaeobotany. *Journal of Archaeological Science* 74, 195-206. [doi.org/10.1016/j.jas.2016.03.003](https://doi.org/10.1016/j.jas.2016.03.003).

Gülz, P.G., 1994. Epicuticular leaf waxes in the evolution of the plant kingdom. *Journal of Plant Physiology* 143, 453-464. [doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81807-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81807-9)

Hansel, F.A., Copley, M.S., Madureira, L.A.S., Evershed, M.P., 2004. Thermally produced  $\omega$ -(o-alkylphenyl)alkanoic acids provide evidence for the processing of marine products in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters* 45, 2999-3002. [doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.01.111](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.01.111).

Han, B., Sun, Z., Chong, J., Lyu, N., Rao, H., Yang, Y., 2021. Lipid residue analysis of ceramic vessels from the Liujiawa site of the Rui State (early Iron Age, north China). *Journal of Quaternary Science*, 1-9. [doi.org/10.1002/jqs.3377](https://doi.org/10.1002/jqs.3377).

Hansel, F.A., Copley, M.S., Madureira, L.A.S., Evershed, R.P., 2004. Thermally produced  $\omega$ -(o-alkylphenyl)alkanoic acids provide evidence for the processing of marine products in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters* 45, 2999-3002. [doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.01.111](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.01.111).

Kajjout, M., Hebling, Y., Albrecht, P., Adam, P., 2012. Reductive coupling of aldehydes by H<sub>2</sub>S in aqueous solutions, a C-C bond forming reaction of prebiotic interest. *Chemistry & Biodiversity* 9, 714-728. [doi.org/10.1002/cbdv.201100124](https://doi.org/10.1002/cbdv.201100124).

Lucquin, A., Colonese, A.C., Farrell, T.F.G., Craig O.E., 2016. Utilising phytanic acid diastereomers for the characterisation of archaeological lipid residues in pottery samples. *Tetrahedron Letters* 57, 703-707. [doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.01.011](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.01.011).

Macnaughton, S.J., O'Donnell, 1994. Tuberculostearic acid as a means of estimating the recovery (using dispersion and differential centrifugation) of actinomycetes in soil. *Journal of Microbiological Methods* 20, 69-77. [doi.org/10.1016/0167-7012\(94\)90065-5](https://doi.org/10.1016/0167-7012(94)90065-5).

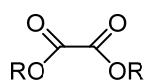
Manzano, E., Cantarero, S., Garcia, A., Adroher, A., Vilchez, J.L., 2016. A multi-analytical approach applied to the archaeological residues in Iberian glasses. Earliest evidences on the consumption of fermented beverages in votive rituals. *Microchemical Journal* 129, 286-292. [doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.006](https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.006).

Michel, R.H., McGovern, P.E., Badler, V.R., 1993. The first wine and beer: chemical detection of ancient fermented beverages. *Analytical Chemistry* 65, 408-413. [doi.org/10.1021/ac00056a734](https://doi.org/10.1021/ac00056a734).

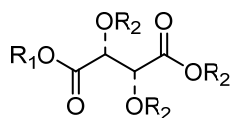
- Mitkidou, S., Dimitrakoudi, E., Urem-Kotsou, D., Papadopoulou, D., Kotsakis, K., Stratis, J.A., Stephanidou-Stephanatou, I., 2008. Organic residue analysis of Neolithic pottery from North Greece. *Microchimica Acta* 160, 493-498. [doi.org/10.1007/s00604-007-0811-2](https://doi.org/10.1007/s00604-007-0811-2).
- Montanari, C., Sado Kamdem, S.L., Serrazanetti, D.I., Etoa, F.X., Guerzoni, M.E., 2010. Synthesis of cyclopropane fatty acids in *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus sanfranciscensis* and their cellular fatty acids changes following short term acid and cold stresses. *Food Microbiology* 27, 493-502. [doi.org/10.1016/j.fm.2009.12.003](https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.12.003).
- Mottram, H.R., Dudd, S.N., Lawrence, G.J., Stott, A.W., Evershed, R.P., 1999. New chromatographic, mass spectrometric and stable isotope approaches to the classification of degraded animal fats preserved in archaeological pottery. *Journal of Chromatography A* 833, 209-221. [10.1016/S0021-9673\(98\)01041-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)01041-3)
- Mukherjee K.D., Kiwitt I., 1984. Changes in fatty acid composition of lipid classes in developing mustard seed. *Phytochemistry* 23, 349-352. [doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80331-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80331-3).
- Perruchini, E., Glatz, C., Hald, M.M., Casana, J., Toney, J.L., 2018. Revealing invisible brews: A new approach to the chemical identification of ancient beer. *Journal of Archaeological Science* 100, 176-190. [doi.org/10.1016/j.jas.2018.05.010](https://doi.org/10.1016/j.jas.2018.05.010).
- Rageot, M., Pêche-Quilichini, K., Py, V., Filippi, J.-J., Fernandez, X., Regert, M., 2016. Exploitation of beehive products, plant exudates and tars in Corsica during the early Iron Age. *Archaeometry* 58, 315-332. [doi.org/10.1111/arcm.12172](https://doi.org/10.1111/arcm.12172).
- Romanus, K., Poblome, J., Verbeke, K., Luyperts, A., Jacobs, P., De Vos, D., Waelken, M., 2007. An evaluation of analytical and interpretative methodologies for the extraction and identification of lipids associated with pottery sherds from the site of Sagalassos, Turkey. *Archaeometry* 49, 729-747. [doi.org/10.1111/j.1475-4754.2007.00332.x](https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2007.00332.x)
- Romanus K., Van Neer W., Marinova E., Verbeke K., Luypaerts A., Accardo S., Hermans I., Jacobs P., De Vos D., Waelkens M., 2008. Brassicaceae seed oil identified as illuminant in Nilotic shells from a first millenium AD Coptic church in Bawit, Egypt. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 390, 783-793. [doi.org/10.1007/s00216-007-1704-2](https://doi.org/10.1007/s00216-007-1704-2).
- Sébédio, J.L., Grandgirard, A., 1989. Cyclic fatty acids natural sources, formation during heat treatment, synthesis and biological properties. *Progress in Lipid Research* 28, 303-336. [doi.org/10.1016/0163-7827\(89\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0163-7827(89)90003-9).
- Sébédio, J.L., LeQuere, J.L., Morin, O., Vatele, J.M., Grandgirard, A., 1989. Heat treatment of vegetable oils III. GC-MS characterization of cyclic fatty acid monomers in heated sunflower and linseed oils after total hydrogenation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 66, 704-709. [doi.org/10.1007/BF02669957](https://doi.org/10.1007/BF02669957).
- Sharafi, Y., Majidi, M.M., Goli, S.A.H., Rashidi, F., 2015. Oil content and fatty acids composition in Brassica species. *International Journal of Food Properties* 18, 2145-2154. DOI: 10.1080/10942912.2014.968284.
- Trendel, J.M., Schaeffer, P., Adam, P., Ertlen, D., Schwartz, D., 2010. Molecular characterisation of soil surface horizons with different vegetation in the Vosges Massif (France). *Organic Geochemistry* 41, 1036-1039. [doi.org/10.1016/j.orggeochem.2010.04.014](https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2010.04.014).
- Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Dewhurst, R.J., 2006. Factors affecting odd-and branched chain fatty acids in milk: A review. *Animal Food Science and Technology* 131, 389-417. [doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017).

Wang, J., Liu, L., Ball, T., Yu, L., Li, Y., Xing, F., 2016. Revealing a 5000-y-old beer recipe in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113, 6444-6448. doi/10.1073/pnas.1601465113.

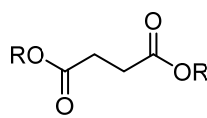
## Annexe



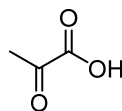
**1a** : R = H  
**1b** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>



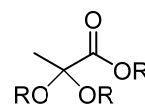
**2a** : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H  
**2b** : R<sub>1</sub> = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>; R<sub>2</sub> = H  
**2c** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>; R<sub>2</sub> = COCF<sub>3</sub>



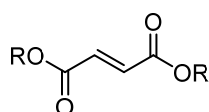
**3a** : R = H  
**3b** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>



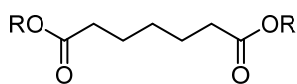
**4a** : R = H



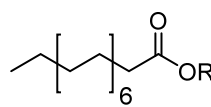
**4b** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>



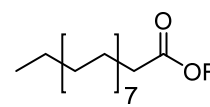
**5a** : R = H  
**5b** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>



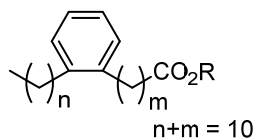
**6a** : R = H  
**6b** : R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>



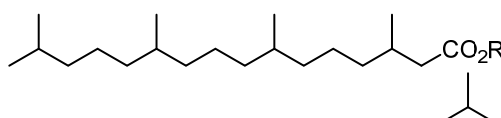
**7a** : R = H  
**7b** : R = CH<sub>3</sub>



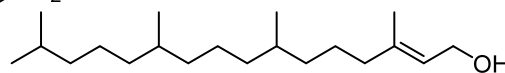
**8a** : R = H  
**8b** : R = CH<sub>3</sub>



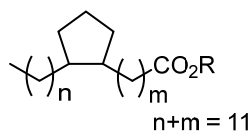
**9a** : R = H  
**9b** : R = CH<sub>3</sub>



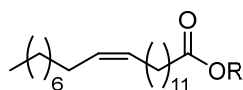
**10a** : R = H  
**10b** : R = CH<sub>3</sub>



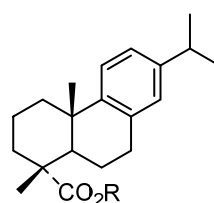
**11**



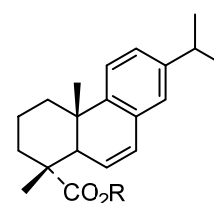
**12a** : R = H  
**12b** : R = CH<sub>3</sub>



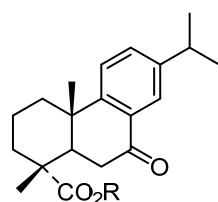
**13a** : R = H  
**13b** : R = CH<sub>3</sub>



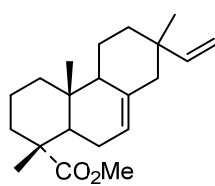
**14a** : R = H  
**14b** : R = CH<sub>3</sub>



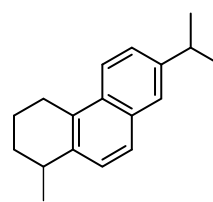
**15a** : R = H  
**15b** : R = CH<sub>3</sub>



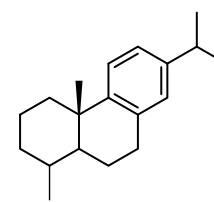
**16a** : R = H  
**16b** : R = CH<sub>3</sub>



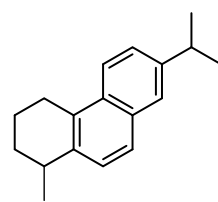
**17a** : R = H  
**17b** : R = CH<sub>3</sub>



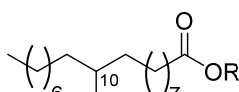
**18**



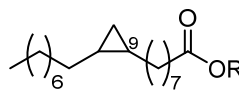
**19**



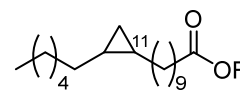
**20**



**21a** : R = H  
**21b** : R = CH<sub>3</sub>



**22a** : R = H  
**22b** : R = CH<sub>3</sub>



**23a** : R = H  
**23b** : R = CH<sub>3</sub>