Chapitre 9

Vers une meilleure évaluation de l'état de préservation des matières osseuses archéologiques par la caractérisation résolue spatialement multi-échelle

Ina Reiche[1], Matthieu Lebon[2]
1- Sorbonne Universités, Université Paris VI, LAMS UMR 8220 CNRS, Paris, France
et Rathgen-Forschungslabor, Staatliche Museen zu Berlin - Preußischer Kulturbesitz, Berlin, Allemagne.
2- Laboratoire « Histoire Naturelle de l'Homme Préhistorique » - UMR 7194 CNRS, Département de Préhistoire,
Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France.

9.1 Obtention d'information résolue spatialement : un enjeu majeur pour la caractérisation des matériaux osseux archéologiques et fossiles

Les ossements ou les matières osseuses en générale sont caractérisés par une organisation complexe et fortement hiérarchisée de leur structure et composition, depuis l'échelle macroscopique jusqu'à nanoscopique (*cf.* partie I). A la suite des processus diagénétiques et taphonomiques, cette hétérogénéité de la morphologie, de la structure, et de la composition chimique et isotopique est accrue et peut être très variable en fonction du milieu d'enfouissement et d'état de conservation des vestiges osseux. De plus, leur aspect macroscopique ne reflète pas forcément leur état de conservation à plus petite échelle. Au cours de ces dernières années, le développement des techniques instrumentales de micro-analyse et d'imagerie, et leur application aux matières dures animales archéologiques et fossiles ont démontré combien il était important de définir précisément l'état de préservation des vestiges osseux archéologiques aux différents niveaux de leur structure afin de mieux évaluer leur potentiel informatif, notamment pour mieux sélectionner les échantillons, ou zones d'échantillon, susceptibles de fournir des données paléoalimentaires, -climatiques ou encore géochronologiques fiables. Dans cette optique, il est nécessaire de caractériser le matériau osseux de façon plus précise en localisant les zones plus ou moins altérées.

Pour ce faire, des stratégies analytiques multi techniques et multi échelles doivent êtres mises en œuvre afin de répondre aux critères suivants :

- Les techniques utilisées doivent permettre d'obtenir des informations complémentaires sur l'état de préservation des phases minérales et organiques.

- Ces informations doivent pouvoir se présenter sous la forme de paramètres suffisamment explicites (semi - quantitatifs voire quantitatifs) pour permettre la comparaison entre les échantillons ou zones d'échantillons.

- Les méthodes d'analyses simples d'accès et applicables à un grand nombre d'échantillons doivent être privilégiées afin d'obtenir des données statistiquement représentatives.

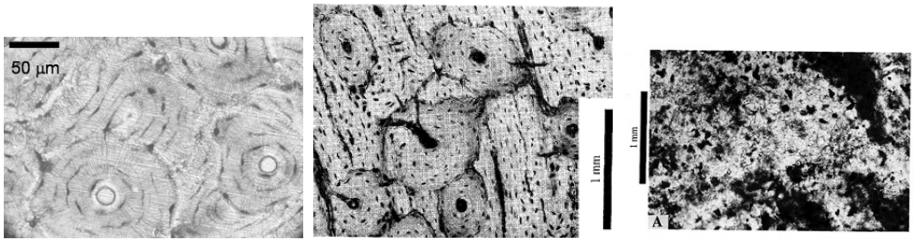
9.2 Aperçu des méthodes analytiques

Le Tableau 1 présente les techniques qui sont généralement employées pour mieux comprendre les modifications affectant la structure et la composition chimique et isotopique des matériaux osseux archéologiques et fossiles. L'état de préservation étant défini par rapport à une référence moderne de matière osseuse équivalente.

9.3 Etude morphologique des structures osseuses par microscopie optique et électronique - des méthodes d'imagerie classiques aux nouvelles techniques

9.3.1 Observation des structures de l'os à micro-échelle : microscopies optique (MO) et électronique à balayage (MEB)

La préparation de coupes histologiques permet d'observer les structures histologiques des matières osseuses, et notamment les ostéons. En fonction des altérations diagénétiques, ces structures sont plus ou moins modifiées. Ainsi, il est possible de mettre en évidence, sous lumière visible ou UV [1], la perte de la matière organique, la dissolution - recristallisation de la phase minérale, la précipitation des minéraux exogènes et les traces d'une attaque microbienne (Figure 1).



(a) (b) (c)

Figure 1 – Micrographies optiques de deux échantillons d'os animaux néolithique du site de Bercy, Paris présentant a) une altération importante et b) une bonne préservation de la structure histologique.

Caractéristiques	Morphologie et couleur	Compositions élémentaire et isotopique	Structure et composition moléculaire des phases minérales et organiques
Echelle macroscopique	Microscopie Optique (MO) (Analyse globale sur fragment et sur section fine)	Fluorescence X (FX), spectrométrie de masse (MS), ICP-MS	Analyse CHON, HPLC, GC, GC-MS, protéomique, analyses ADN, calorimétrie différenteielle à balayage (DSC) (Analyse globale sur fragment) Diffraction des rayons X (DRX), Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) (Analyse globale sur poudre)
Echelle microscopique	micro-Spectroscopie d'absorption X (XANES/EXAFS)	micro-PIXE/PIGE (Analyse sur des sections épaisses), micro-FX, LA-ICP-M	micro-IRTF (mode ATR) et micro-Raman (Analyse sur des sections épaisses)
	Microscopie Electronique à Balayage couplée à un système d'analyse X dispersive en Energie (MEB-EDX) (Analyse sur sections transverses épaisses)		
	Microtomographie de rayons X (Rayonnement synchrotron et source de laboratoire) (Analyse sur fragments ou objets)		Micro-SAXS/WAXS en mode imagerie (Rayonnement synchrotron et source de laboratoire) (Analyse sur sections transverses fines)
Echelle nanométrique	Microscopie Electronique à Transmission couplée à un système d'analyse X dispersive en Energie (MET-EDX) et à un système de diffraction électronique (Analyse globale sur poudre et sur sections ultrafines)		

Tableau 1

Hedges *et al.* ont proposé d'utiliser un indice, l'*Oxford Histological Index* (Ox HI), pour évaluer les la préservation des structures histologiques des ossements archéologiques en observant des coupes épaisses au microscope optique (MO). La gamme de cet indice va de 5 pour au moins 95 % d'os intact à 0 pour moins de 5 % d'os intact [2, 3].

Afin de détailler ces observations, l'outil de choix est la microscopie électronique à balayage permettant de visualiser la morphologie osseuse et ses modifications diagénétiques à micro-échelle. Le traitement par segmentation des micrographies électroniques peut permettre de définir des paramètres semiquantitatifs pour évaluer l'état de préservation des vestiges osseux (*cf.* encart « La microscopie électronique »). Ce traitement d'image permet ainsi de distinguer la proposition des parties de tissu osseux préservé, de celles atteintes par des dissolutions/déminéralisations ou par des hyperminéralisations pouvant être notamment d'origine bactérienne. Un indice de bioérosion peut ainsi être calculé grâce à l'aire représentée par ces différents faciès d'altération et produire une mesure de l'état de conservation du matériau osseux en se référant à l'état d'un os moderne du même type [4]. La Figure 2 représente les étapes de ce type de traitement d'image effectuées sur un os moderne bovin.

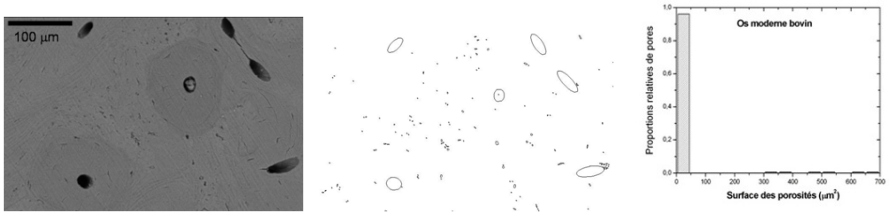


Figure 2 – Principe d'exploitation des micrographies électroniques illustré sur un échantillon d'os moderne bovin (a). Identification des porosités (b) et obtention d'histogrammes représentant la proportion relative de pores en fonction de leur surface (c).

9.3.2 Observation des fibres de collagène et des nanocristaux d'hydroxyapatite par microscopie électronique en transmission (MET)

Si ces techniques de microscopies permettent d'évaluer l'état de préservation du tissu osseux, elles ne permettent pas d'étudier directement l'état de conservation des fractions minérale et organique des matières osseuses. La seule technique de microscopie permettant d'étudier la préservation de ces deux phases est la microscopie électronique en transmission (MET) qui permet de visualiser directement les fibres de collagène minéralisé (MCF) et leur état de conservation en travaillant sur des coupes ultrafines. Des coupes transversales ou longitudinales peuvent être préparées par ultra-microtomie et observées pour étudier finement les MCF [5] (*cf.* encart « La microscopie électronique »). La Figure 3 (a) représente une micrographie réalisée sur une section longitudinale ultrafine d'un os. La structure caractéristique des MCF peut être mise en évidence par une alternance de zones plus claires et plus sombres, correspondant respectivement aux zones plus ou moins denses en minéral. Perpendiculairement à l'axe c suivant lequel les fibres sont orientées, on retrouve

la périodicité liée à l'organisation parallèle des cristaux d'hydroxyapatite (HAP) à l'intérieur des fibres.

A l'échelle nanométrique, l'état de conservation des matières osseuses archéologiques peut être caractérisé par les modifications éventuelles de la taille des cristaux, leur désorganisation au sein des fibres de collagène ainsi que la modification des MFC.

Les dimensions des cristaux sont évaluées afin d'estimer les modifications induites par des phénomènes de dissolution - recristallisation de la phase minérale. D'autres grandeurs liées à l'organisation des MFC ont également été introduites. Ces longueurs caractéristiques sont notées L_s, L_f et λ. Elles ont été définies grâce aux modèles décrits par Cui et al (2007) [6] : L_s représentant la largeur du dépôt de cristaux en surface des fibres de collagène ; L_f représentant la largeur (ou diamètre) des MFC et λ représentant la périodicité spatiale des cristaux dans les MFC. Le Tableau 2 résume les longueurs caractéristiques mesurées dans les échantillons d'os et de bois de cervidé modernes.

Tableau 2 – Longueurs caractéristiques mesurées à partir des micrographies électroniques réalisées sur les matériaux osseux modernes.

Echantillons	Epaisseur des cristaux (e en nm)	Largeur des cristaux (l en nm)	Périodicité spatiale de distribution des cristaux (λ en nm)	Largeur de la couche de cristaux déposés en surface des fibres (L_s en nm)	Largeur des MFC (L_f en nm)
Os moderne (bovin)	5 ± 1	30 ± 5	60 ± 5	70 ± 20	150 ± 20
Bois de cervidé moderne	5 ± 1	30 ± 5	55 ± 5	40 ± 20	100 ± 20

En outre, des clichés de diffraction électronique peuvent être réalisés pour caractériser plus spécifiquement les phases minérales. L'exploitation de ces clichés de diffraction peut permettre d'identifier les phases cristallines en présence et de mettre en évidence une modification de la cristallinité du matériau. Il est ainsi possible d'obtenir des informations structurales sur la phase minérale de matériaux osseux.

La Figure 3 représente la micrographie d'une section ultrafine d'os néolithique accompagnée du cliché de diffraction électronique correspondant. Ce cliché met en évidence, par l'accentuation de l'anneau (002), une orientation préférentielle des cristaux d'HAP le long des fibres de collagène. Cette orientation préférentielle est *a priori* modifiée sous l'effet de l'altération par les processus diagénétiques. Il y a également des modifications induites par la chauffe des matériaux osseux qui peut être mise en évidence par MET par l'observation de sections ultrafines comme illustré dans le cas des os néolithiques du site de Chalain 19, Jura, France [7-9].

L'une des contraintes importantes de cette méthode d'investigation tient cependant à son caractère extrêmement local, puisque les clichés couvrent des zones de seulement quelques centaines de nm de côté. C'est pourquoi il est nécessaire d'étudier différentes zones de l'échantillon afin obtenir des informations représentatives de l'état de l'état de conservation global, à partir de cette information à l'échelle nanométrique. Cependant, cette technique reste peu adaptée à l'obtention d'information

statiquement fiable à cette échelle, et comme nous le verrons par la suite, d'autres méthodes telles que l'imagerie en diffusion de rayons X aux petits et grands angles (microSAXS/WAXS) est une méthode de choix pour l'obtention de caractérstiques structurales à haute résolution sur de vastes zones de l'échantillon.

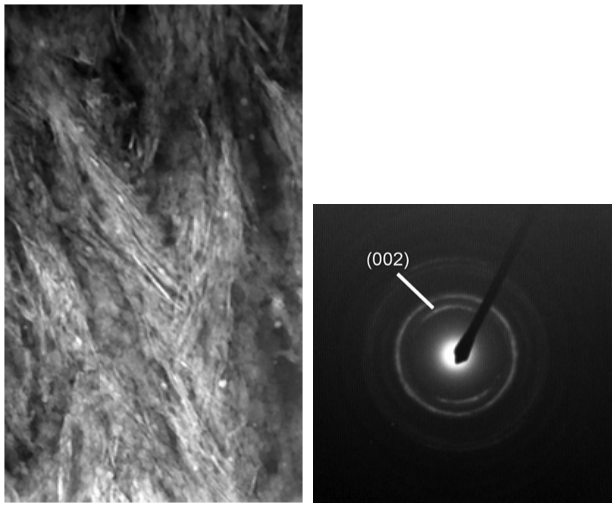


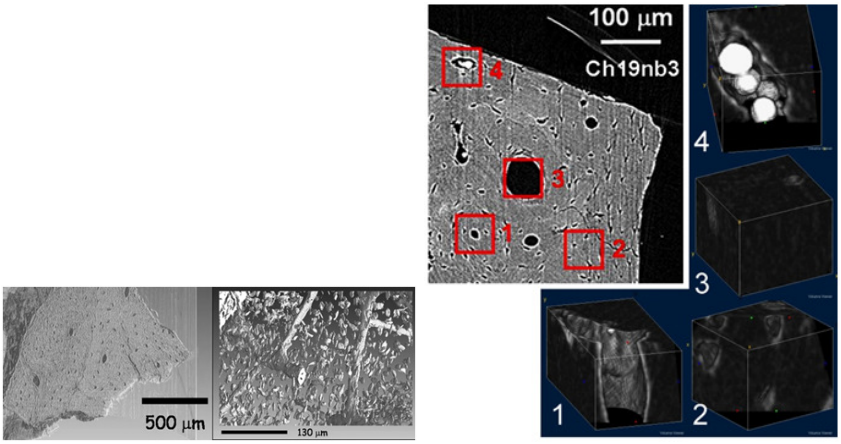
FIGURE 3 – Micrographie MET a) d'un os néolithique du site de Chalain (AB_CH19nb1) et b) cliché de diffraction électronique correspondant montrant l'orientation préférentielle des cristaux d'apatite selon le plan (002) [8].

9.3.3 Modélisation de la structure histologique en 3D par tomographie X (CT).

Toutes ces méthodes de microscopie permettent une observation des structures en deux dimensions (2D). Or, les hétérogénéités de structure des restes osseux et dentaires peuvent être présentes à la fois dans les plans longitudinaux et transverses des échantillons, nécessitant alors l'obtention d'information résolue en trois dimensions (3D). La méthode de choix pour obtenir ces informations est la tomographie X (CT). En fonction de l'appareil utilisé différentes résolutions spatiales sont possibles. Pour des informations résolues en 3D à micro-échelle la microCT au synchrotron est la plus efficace (*cf.* encart « Des perles gravettiennes de l'abri Pataud : Os, bois de renne ou ivoire de mammouth ? »). Cette technique peut être appliquée sur les échantillons de dent, d'os ou encore de bois de cervidé modernes et archéologiques [10]. La Figure 4 représente les résultats obtenus sur un fragment d'os moderne.

L'analyse des images permet entre autres des évaluations de la porosité (Tableau 3, Figure 4). Une valeur légèrement plus élevée que dans l'os moderne a été relevée dans le cas du bois de cervidé.

Le MEB, le MET et la microCT apparaissent donc comme trois techniques d'examen complémentaires pour caractériser l'état de préservation de la structure histologique des os : à 2D, le MEB et le MET permettent d'évaluer la conservation des unités



(a) (b)

FIGURE 4 – Mesures de microtomographie sur un fragment d'os moderne : a) Reconstruction du prélèvement (structures histologiques visibles) et porosités visibles et b) coupe virtuelle d'un os animal archéologique du site de Chalain 19, Jura, France et visualisation de quartes zones morphologiques caractéristiques en 3D (1-4). La zone 4 montre une inclusion à base de pyrite dans la porosité.

Tableau 3 – Pourcentages de porosité estimés dans l'os et le bois de cervidé modernes.

Echantillons	p (%)
Os moderne (bovin)	7,4 ± 0,5
Bois de cervidé moderne	8,4 ± 0,5

constitutives et le traitement d'image qui lui est associé rend possible une estimation de la distribution des pores en fonction de leur surface. En 3D, la microCT couplée au rayonnement synchrotron rend possible une reconstruction de la morphologie sur plusieurs centaines de μm^3 et avec une résolution spatiale de l'ordre du micron. Ajoutons que si des artefacts peuvent apparaître sur les micrographies MEB (effet du polissage par exemple), ces artefacts sont absents des reconstructions de microCT car les analyses sont menées de façon non destructive sur le fragment osseux brut. De plus, grâce à la microCT, la zone d'intérêt de l'échantillon peut être plus facilement sélectionnée. En MEB, elle est limitée à la surface qui a été préparée.

9.4 De l'analyse globale vers des méthodes d'imagerie chimique (structurales, moléculaires et élémentaires)

Différentes techniques d'analyses sont appliquées depuis de nombreuses années aux restes osseux et dentaire fossiles afin de caractériser les propriétés moléculaires et structurales des phases organiques et minérales de l'os. C'est notamment le cas de la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) et de la diffraction des Rayons X (XRD ou WAXS), de la spectroscopie infrarouge, ou encore de la spectroscopie

Raman [11-22]. Ces techniques ont permis de mieux identifier les altérations taphonomiques, de caractériser l'état de préservation des échantillons et de reconstruire l'histoire taphonomique des matières osseuses. Cependant, la plupart de ces techniques ont pendant longtemps été appliquées à des fractions globales de l'os ce qui a considérablement limité la prise en compte de l'hétérogénéité de la matière osseuse archéologique et fossile. Depuis quelques années, ces techniques analytiques ont fortement évoluées, ce qui permet désormais d'obtenir des informations résolues spatialement et de mieux appréhender l'hétérogénéité des matériaux.

9.4.1 Analyse par diffusion de rayons X aux petits et grands angles (SAXS/WAXS)

L'analyse de sections fines d'échantillons par SAXS et par WAXS permet de déterminer des informations structurales moyennes sur un volume déterminé par la taille du faisceau et l'épaisseur de l'échantillon. L'utilisation de sources de laboratoire, dont les tailles de faisceau sont généralement de l'ordre de quelques mm^2, permet d'obtenir des informations globales sur nos échantillons. Dans le cas de l'étude de restes osseux, une meilleure résolution spatiale est nécessaire afin de pouvoir distinguer les effets d'altération, notamment à micro-échelle. Il est alors nécessaire de recourir à des microfaisceaux de rayons X (typiquement de l'ordre d'un μm de diamètre ou mieux) très intenses tels que ceux produits par les sources synchrotron de 2^e et 3^e génération.

Les paramètres issus de l'analyse SAXS portent sur la forme, la taille et l'organisation des nanoparticules minérales [23, 24]. Ces paramètres statistiques décrivent donc la phase minérale dans le volume du faisceau. Généralement, les analyses des données se concentrent sur l'analyse de l'épaisseur des particules T et leur orientation. La Figure 5 présente une micrographie optique d'une section fine transverse d'un os moderne. Pour chaque pixel de l'image, la plus petite dimension des particules (paramètre T) peut être calculée et permet de cartographier les valeurs du paramètre T. L'histogramme illustrant la distribution de l'épaisseur moyenne des particules permet de mettre en évidence une distribution centrée sur une valeur de 3,1 nm. Afin d'estimer l'état de conservation des sections de matériaux osseux archéologiques, on peut avoir deux types d'approches : la valeur moyenne de l'épaisseur T des particules est comparée avec celle obtenue dans le matériau moderne correspondant et l'hétérogénéité de ce paramètre au sein de la section est observée. Plus la valeur de T est différente de celle de la référence moderne et plus la distribution de ce paramètre est grande plus la matière osseuse est altérée [25, 26].

9.4.2 Micro-spectrométries Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF) et Raman en mode imagerie

Plusieurs techniques spectroscopiques permettent d'obtenir des informations chimiques sur la phase minérale ou la phase organique ou sur les deux. En spectroscopie IR-TF par exemple, la position des bandes d'absorbance est liée à l'environnement des liaisons considérées dans la molécule. On peut voir sur le spectre IR-TF d'un ossement moderne les bandes d'absorptions spécifiques des principaux constituant de l'os : les bandes amides (N-H) et C-H du collagène et les liaisons PO_4^{3-} et CO_3^{2-}

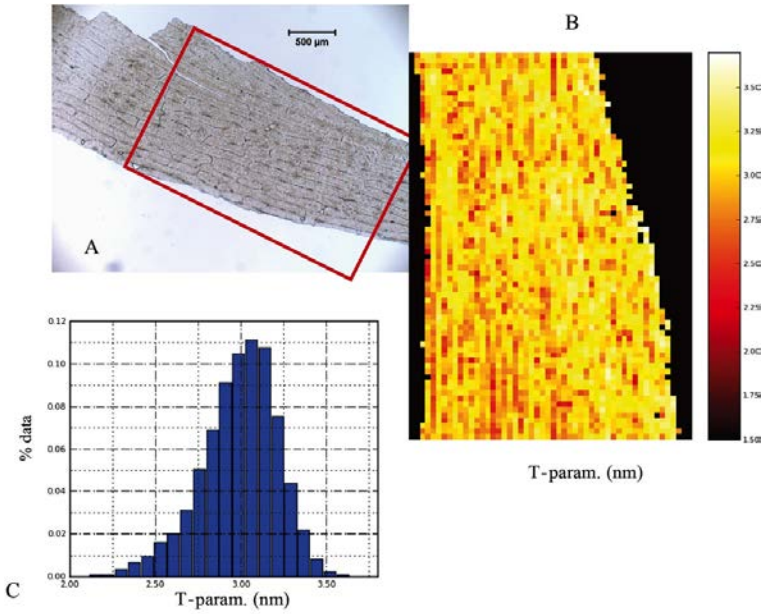


Figure 5 – Evaluation de l'épaisseur des cristaux d'HAP dans une section d'os moderne : A.) Micrographie optique de la section analysée, B.) Cartographie des valeurs mesurées du paramètre T, C). Distribution des valeurs dans la zone analysée.

de la phase minérale. La position et la largeur de ces bandes sont donc sensibles aux changements structuraux pouvant être engendrés par les processus diagénétiques.

Cependant, comme les autres méthodes spectroscopiques réalisées en mode classique, les informations obtenues sont d'ordre global. Afin de remédier au manque d'informations localisées sur la structure des phases minérale et collagénique, les micro-spectrométries sont les méthodes de choix. Elles peuvent être réalisées en laboratoire et en utilisant le rayonnement synchrotron d'une façon ponctuelle, en effectuant des profils d'analyses ou des cartographies. Les cartographies sont plus riches en informations sur les phénomènes diagénétiques car elles permettent de relier l'information chimique à la morphologie des échantillons.

La micro-spectrométrie infrarouge a été largement utilisée dans le domaine biomédical pour l'étude des phases de mise en place et de maturation du tissus osseux ainsi que l'étude des modifications induites par des différentes pathologies [8-10]. Cette technique est particulièrement adaptée au tissus osseux puisqu'elle permet d'obtenir des informations à la fois qualitatives et quantitatives (ou du moins semi-quantitative) sur les phases minérales et organiques de l'os avec une résolution spatiale pouvant atteindre moins de 10 µm en utilisant des sources de lumière synchrotron. Plusieurs études ont adapté les méthodologies employées dans le domaine biomédical pour les appliquer au registre archéologique et fossile [27-29].

Différents paramètres peuvent être calculés à partir de l'absorption de certaines bandes spécifiques du spectre IR-TF. Les principaux indices utilisés sont présentés dans le tableau 4.

Cette technique fournit la possibilité de travailler habituellement en transmission sur des poudres ou des coupes fines (Figure 6). En microscopie en transmission, ce mode de préparation nécessite de procéder à la réalisation par microtomie de coupes très fines, typiquement entre 2 à 5 μm d'épaisseur. Cette procédure est complexe, notamment pour les échantillons altérés qui doivent généralement être imprégnés par une résine préalablement à la coupe. Une telle préparation est longue et permet au mieux d'obtenir des coupes d'environ 1x1 mm². Par ailleurs, la présence de résine dans l'échantillon peut rendre plus complexe le traitement des spectres obtenus. Bien que la taille de ces coupes permette d'apprécier les variations de composition au niveau des structures histologiques, elle limite la prise en compte de l'hétérogénéité à l'échelle globale de l'échantillon, par exemple entre les parties internes et externes de la corticale. Pour l'étude de surface plus importante, il est alors possible de travailler en réflexion directement sur l'échantillon ou un objet façonné. C'est notamment le cas en mode ATR (réflexion totale atténuée) pour lequel l'analyse est réalisée à l'interface de contact entre un cristal d'indice de réfraction élevé (diamant ou germanium) et la surface de l'échantillon. Cette technique minimise les étapes de préparation et peut même permettre de travailler directement sur l'échantillon ou sur un objet façonné (à condition d'avoir une surface plane, Figure 7) [27, 30].

Tableau 4 – Principaux indices déterminés en IR-TF utilisés pour évaluer l'état de conservation des matières osseuses.

Paramètre	Mode de calcul	Evolution au cours de la diagenèse	Application à la micro-spectrométrie FTIR sur matériel fossile
Teneur en Collagène	Amide I (1660 cm^{-1}) / PO_4^{3-} (1100 cm^{-1})	Diminution de la teneur en collagène	Chadefaux *et al.*, 2009. Reiche *et al.*, 2010
Maturité du Collagène	Amide I (1690 cm^{-1}) / Amide I (1660 cm^{-1})	Augmente avec l'altération du collagène	Chadefaux *et al.*, 2009
Intégrité du Collagène	CH_2 (1338 cm^{-1}) / Amide II (1550 cm^{-1})	Diminution avec l'altération du collagène	Chadefaux *et al.*, 2009
Cristallinité	PO_4^{3-} (1060 cm^{-1})/ PO_4^{3-} (1075 cm^{-1})	Augmentation lors de l'altération de la phase minérale (recristallisation)	Reiche *et al.*, 2010 ; Lebon *et al.* 2011 ; Lebon *et al.*, sous presse
Teneur en Carbonate	CO_3^{2-} (1415 cm^{-1}) / PO_4^{3-} (1100 cm^{-1})	Diminue au cours de la recristallisation de la phase minérale ; Peut augmenter en cas d'apport de carbonates exogène (calcite notamment)	Chadefaux *et al.*, 2009 ; Reiche *et al.*, 2010 ; Lebon *et al.* 2011 ; Lebon *et al.*, sous presse

Une autre méthode pouvant être appliquée afin d'évaluer les modifications diagénétiques ou taphonomiques est la microspectrométrie Raman [31-33]. Elle utilise un faisceau de l'ordre du micron et a montré sa performance notamment en travaillant

sur des coupes épaisses d'échantillons qui sont difficilement préparé par ailleurs tels que les échantillons osseux archéologiques qui ont subis un chauffage [34, 35]. Elle présente l'avantage de permettre d'obtenir une résolution spatiale inférieure à 5 μm, cependant, l'analyse d'échantillons bien préservés, contenant une part importante de matière organique est souvent limité par des phénomènes de fluorescence. Elle est donc applicable principalement sur les échantillons fortement altérés, ou aux ossements chauffés comme sur l'exemple présenté en Figure 8.

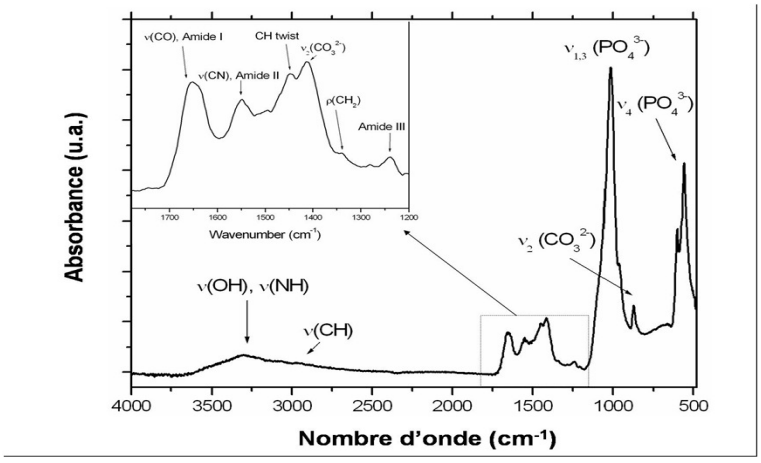


Figure 6 – Spectre infrarouge réalisé en mode ATR sur une section d'os moderne bovin. Attribution des principales bandes caractéristiques liées à la structure osseuse.

9.4.3 Analyse élémentaire et isotopique en mode imagerie

Les spectroscopies élémentaires qui permettent une analyse résolue spatialement sont l'analyse par rayons X dispersive en énergie (EDX) ou en longueur d'onde (WDX) couplée au MEB, la micro-fluorescence X (MFX) [36] de laboratoire ou au synchrotron [37], les méthodes par micro - faisceaux d'ions (IBA) [38], la spectrométrie de masse à plasma couplé par induction par échantillonnage par ablation laser (LA-ICP-MS [39, 40]). L'avantage de ces techniques est que relativement peu de préparations sont nécessaires et il est possible de travailler directement sur les objets ou leurs sections épaisses. L'information obtenue sur la composition chimique et isotopique ainsi que sa variation au sein de l'échantillon permet de mettre en évidence la perte ou l'enrichissement d'éléments chimiques et isotopiques lors de la diagénèse.

Ici deux méthodes et leur apport pour des études diagénétiques sont plus particulièrement présentée : l'émission de photons X induite par protons (PIXE : *Particle Induced -Rays Emission*) couplée à la spectrométrie de rétrodiffusion Rutherford (RBS : *Rutherford Backscattering Spectrometry*) et élastique (EBS : *Elastic Backscattering Spectrometry*) à l'Accélérateur Grand Louvre pour l'Analyse Elémentaire (AGLAE).

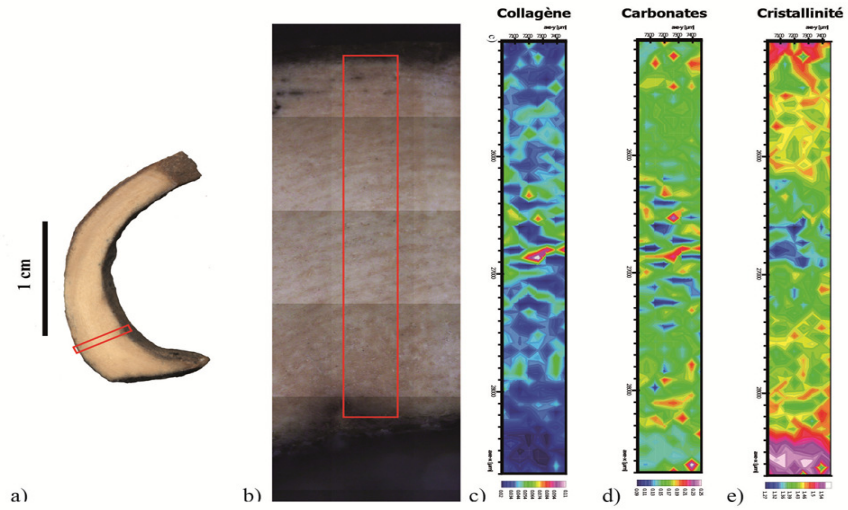


FIGURE 7 – Section transverse (a et b) d'un ossement fossile du site de Bize-Tournal (Aude – 15 000 BP.) et cartographie IRTF-ATR : c) de la teneur en collagène, d) de la teneur en carbonates, et e) des valeurs de cristallinité [30].

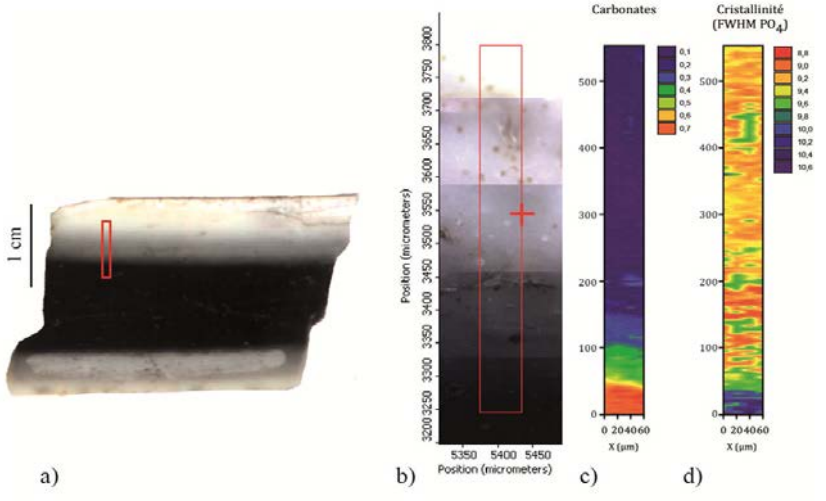


FIGURE 8 – a) Section polie d'un échantillon partiellement calciné étudié par spectrométrie Raman. Vue optique de la zone d'analyse (b) et distribution des teneurs relatives en carbonates (c) et des valeurs de cristallinité (d) pour l'échantillon ST-Ta-3 analysé par micro-spectrométrie Raman (532 nm). Le gradient de composition induit par la chauffe est clairement identifiable par l'étude de ces deux composés.

La technique micro-PIXE/PIGE repose sur l'interaction entre un faisceau de protons et l'échantillon considéré puis en l'analyse des rayonnements X et gamma émis par cet échantillon. Il s'agit d'une analyse de surface qui ne nécessite aucune préparation d'échantillon et qui n'endommage généralement pas le matériau. Le dispositif expérimental développé au C2RMF utilise l'accélérateur de particule AGLAE (Accélérateur Grand Louvre d'Analyse Élémentaire). Ce dispositif permet d'identifier et de quantifier les éléments chimiques compris entre Na (raie K) et U (raie L) avec une limite de détection d'une dizaine de ppm environ (soit 1000 fois plus basse que celle obtenue par analyse MEB-EDX). Le diamètre du faisceau est d'environ 50 µm.

La méthode PIXE fonctionne sur le même principe que la méthode de FX à l'exception que la source provoquant l'émission des photons X issus de l'interaction atomique entre les ions incidents et les objets est un faisceau d'ions, ici de protons.

La méthode PIXE présente de nombreux avantages par rapport à la méthode de FX concernant les limites de détection du fait d'un fond continu bas grâce à la faible intensité du rayonnement de freinage des électrons (à basse énergie) et des protons (à haute énergie). Un grand nombre d'élément ($Z > 11$) sont alors détectés, comme par exemple les éléments légers Mg, Al et Si qui sont particulièrement intéressants pour l'étude des matières osseuses archéologiques et fossiles. Pour un faisceau de protons de 3 MeV, la sensibilité pour Mg, Al et Si est de l'ordre de 5 ppm [41]. Un faisceau de protons de 3 MeV convient donc bien à l'analyse des éléments légers et mais également à celle des éléments lourds. De plus, grâce aux grandes sections efficaces, une très faible dose d'irradiation est nécessaire et les mesures sont rapides, l'endommagement de l'objet est alors minimisé.

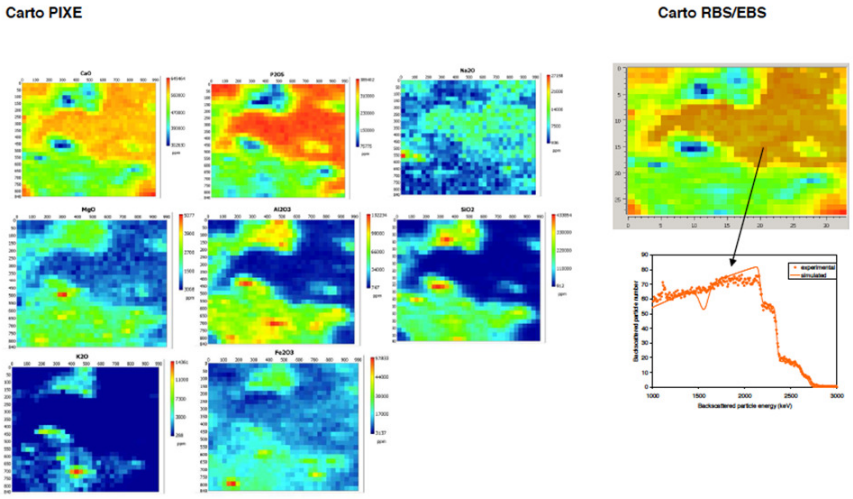


FIGURE 9 – Cartographies élémentaires obtenues en PIXE et RBS-EBS sur un os fossile (issues de l'étude de Beck *et al.* [43]).

Les récents développements instrumentaux réalisés notamment sur l'accélérateur AGLAE [42] permettent d'accroitre la sensibilité de détection et de réduire considérablement le temps d'analyse. De tels progrès permettent désormais de réaliser des profils d'analyses, voire même des cartographies chimiques de haute résolution d'échantillons modernes, archéologiques et fossiles (Figure 9) [43].

La méthode RBS est plus particulièrement adaptée pour l'analyse d'échantillons sous forme de couches de compositions différentes. De plus, l'analyse des éléments très légers tels que le C et le O, éléments non détectés par PIXE, est possible par EBS. Ainsi, les méthodes RBS-EBS donnent des informations complémentaires à celles du PIXE. Les méthodes RBS-EBS ont permis de déterminer les quantités de C issus du collagène conservé de la matière osseuse ou d'altérations de type carbonatations [26].

Le traitement des données pour le RBS-EBS permet d'obtenir des cartographies d'éléments légers en complément de cartographies d'éléments plus lourds constituants les matières osseuses comme représentées dans la Figure 9. Il est également possible de procéder à des quantifications des données afin d'obtenir des répartitions chimiques des différents éléments majeurs, mineurs et traces présents dans les matières osseuses archéologiques et fossiles.

Tableau 5 – Bilan de la démarche analytique à suivre pour la caractérisation de l'état de conservation des matériaux osseux à différentes échelles

<table>
<tr><td colspan="4">Matériaux osseux archéologiques (objet ou fragment brut retrouvé sur le site de fouilles)
Observation directe au microscope optique (Type de matériau osseux ? Traces d'altérations ? d'utilisation ?)
Composition chimique établie par analyse micro-PIXE/PIGE
La stratégie analytique qui suit va dépendre de la possibilité de prélever ou non</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Information recherchée</td><td rowspan="2">Cas no.1 : Pas de prélèvement possible</td><td colspan="2">Cas no.2 : Prélèvement possible</td></tr>
<tr><td>petit fragment</td><td>section</td></tr>
<tr><td>Composition chimique</td><td>MEB-EDX (objets de petites dimensions)</td><td colspan="2">MEB-EDX</td></tr>
<tr><td>Morphologie aux échelles macroscopique ou microscopique</td><td>MEB (objets de petites dimensions)</td><td colspan="2">MEB</td></tr>
<tr><td>Structure</td><td>Radiographie, Micro-CT</td><td colspan="2">Micro-CT</td></tr>
<tr><td>Phase minérale</td><td>Micro-DRX, Micro-ATR-IRTF, Micro-Raman (si surface plane en mode imagerie)</td><td>DRX, IRTF MET-SAED</td><td>Micro-ATR-IRTF, Micro-Raman, Micro-SAXS/WAXS en mode imagerie</td></tr>
<tr><td>Phase organique</td><td>Micro-ATR-IRTF (si surface plane en mode imagerie)</td><td>Analyse CHON, DSC, méthodes chromatographiques</td><td>Micro-ATR-IRTF Synchrotron-IRTF en mode imagerie</td></tr>
<tr><td>Agencement des phases minérale et organique</td><td></td><td></td><td>MET, micro-SAXS</td></tr>
</table>

Caractéristiques	Morphologie et couleur du matériau	Distribution des éléments chimiques (majeurs, mineurs et traces)	Structure et composition de la phase minérale	Structure et composition de la phase organique
Echelle macroscopique	Couleur, fissures, évaluation de la conservation de la structure histologique			
Echelle microscopique	évaluation de la conservation de la structure histologique (2D/3D) et estimation de la porosité (p), histogrammes représentant la proportion relative de pores en fonction de leur surface	Evaluation de la composition élémentaire, Forme des profils de concentration, répartition élémentaire en imagerie chimique		Température de dénaturation du collagène, évaluation de l'état de conservation de la structure secondaire du collagène
Echelle nanométrique		Evaluation de la composition élémentaire	e, Ls, Lf, λ , conservation des directions d'orientation des cristaux, ρ (fraction de particules orientées), T (épaisseur moyenne des particules)	

Tableau 6

9.5 Conclusion et perspectives : Démarche analytique possible pour décrire précisément l'état de préservation des matières osseuses archéologiques

La mise en relation des résultats obtenus par différentes techniques complémentaires permet une caractérisation de l'état de préservation des matières osseuses à différents niveaux de leur structure hiérarchisée et de sélectionner les zones les mieux conservées, d'identifier les mécanismes d'altération mis en œuvre et d'obtenir des informations sur le milieu dans lequel les objets ont été conservé.

Le tableau 5 dresse le bilan de la démarche analytique proposé pour bien caractériser l'état de conservation des matériaux osseux à différentes échelles. Le tableau 6 récapitule les indices définis pour chaque technique afin d'évaluer l'état de conservation du matériau osseux.

Bibliographie

[1] N. Hoke, J. Burger, C. Weber, N. Benecke, G. Grupe, and M. Harbeck, Estimating the chance of success of archaeometric analyses of bone : UV-induced bone fluorescence compared to histological screening. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. 310 (1-2), 23-31. 2011.

[2] R.E.M. Hedges and A.R. Millard, Bones and Groundwater : Towards the Modelling of Diagenetic Processes. Journal of Archaeological Science. 22, 155-164. 1995.

[3] R.E.M. Hedges, A.R. Millard, and A.W.G. Pike, Measurements and Relationships of Diagenetic Alteration of Bone from Three Archaeological Sites. Journal of Archaeological Science. 22, 201-209. 1995.

[4] G. Turner-Walker and U. Syversen, Quantifying histological changes in archaeological bones using BSE-SEM image analysis. Archaeometry. 44 (3), 461-468. 2002.

[5] M.A. Rubin, I. Jasiuk, J. Taylor, J. Rubin, T. Ganey, and R.P. Apkarian, TEM analysis of the nanostructure of normal and osteoporotic human trabecular bone. Bone. 33, 270-282. 2003.

[6] F.-Z. Cui, Y. Li, and J. Ge, Self-assembly of mineralized collagen composites. Material Science and Engineering. R57, 1-27. 2007.

[7] C. Chadefaux and I. Reiche, Archaeological bone from macro- to nanoscale. Heat-induced modifications at low temperatures. Journal of NanoResearch. 8, 157-172. 2009.

[8] I. Reiche, C. Chadefaux, K. Müller, and A. Gourrier, Towards a Better Understanding of Alteration Phenomena of Archaeological Bone by a Closer Look at the Organic/Mineral Association at Micro- and Nanoscale. Preliminary Results on Neolithic Samples from Chalain Lake Site 19, Jura, France. ArchéoSciences. 35, 143-158. 2011.

[9] I. Reiche, Hétérogénéité de la composition chimique et de la structure des ossements archéologiques provenant du site néolithique de Chalain 19 (Jura, France) induites par la chauffe et la diagenèse, In : Taphononomie des résidus organiques brûlés et des structures de combustion en milieu archéologique, I. Théry-Parisot, L. Chabal & S. Costamagno (eds). Actes de la table ronde, Valbonne, 27-29 mai 2008. P@lethnologie. 2, 133-148. 2009.

[10] I. Reiche, K. Müller, A. Staude, J. Goebbels, and H. Riesemeier, Synchrotron radiation and laboratory micro X-ray computed tomography – useful tools for the material's identification of prehistoric objects made of ivory, bone or antler. Journal of Analytical Atomic Spectroscopy. 26, 1802-1812. 2011.

[11] S. Weiner and O. Bar-Yosef, States of Preservation of Bones from Prehistoric Sites in the Near East : A Survey. Journal of Archaeological Science. 17, 187-196. 1990.

[12] J.C. Hiller, T.J.U. Thomson, M.P. Evison, A.T. Chamberlain, and T.J. Wess, Bone mineral change during experimental heating : an X-ray scattering investigation. Biomaterials. 24, 5091-5097. 2003.

[13] J.C. Hiller and T.J. Wess, The use of small-angle X-ray scattering to study archaeological and experimentally altered bone. Journal of Archaeological Science. 33, 560-572. 2006.

[14] T.J. Wess, M. Drakoopoulos, A. Snigirev, J. Wouters, O. Paris, P. Fratzl, M. Collins, J. Hiller, and K. Nielsen, The use of small angle X-ray diffraction studies for the analysis of structural features in archaeological samples. Archaeometry. 43 (1), 117-129. 2001.

[15] M. Lebon, I. Reiche, J.-J. Bahain, C. Chadefaux, A.-M. Moigne, F. Fröhlich, F. Sémah, H.P. Schwarcz, and C. Falguères, New parameters for the characterization of diagenetic alterations and heat-induced changes of fossil bone mineral using Fourier transform infrared spectrometry. Journal of Archaeological Science. 37, 2265-2276. 2010.

[16] M. Lebon, I. Reiche, F. Fröhlich, J.-J. Bahain, and C. Falguères, Characterization of archaeological burnt bones : contribution of a new analytical protocol based on derivative FTIR spectroscopy and curve fitting of the $\nu 1\nu 3$ PO4 domain. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 392 (7-8), 1479-1488. 2008.

[17] E.P. Paschalis, E. Shane, G. Lyritis, G. Skarantavos, R. Mendelsohn, and A.L. Boskey, Bone fragility and Collagen Cross-Links. Journal of Bone and Mineral Research. 19 (12), 2000-2004. 2004.

[18] A. Person, H. Bocherens, J.-F. Saliège, F. Paris, V. Zeitoun, and M. Gérard, Early Diagenetic Evolution of Bone Phosphate : An X-ray Diffractometry Analysis. Journal of Archaeological Science. 22, 211-221. 1995.

[19] G. Piga, A. Malgosa, T. Thompson, and E. S, A new calibration of the XRD technique for the study of archaeological burned human remains. Journal of Archaeological Science. 35, 2171-2178. 2008.

[20] H.G.M. Edwards and D.W. Farwell, Ivory and simulated ivory artefacts : Fourier transform Raman diagnostic study. Spectrochimica Acta. A (51), 2073-2081. 1995.

[21] H.G.M. Edwards, D.W. Farwell, J.M. Holder, and E.E. Lawson, Fourier-transform Raman spectra of ivory III : identification of mammalian specimens. Spectrochimica Acta Part A. 53, 2403-2409. 1997.

[22] H.G.M. Edwards, D.W. Farwell, J.M. Holder, and E.E. Lawson, Fourier-transform Raman spectroscopy of ivory :II. Spectroscopic analysis and assignments. Journal of Molecular Structure. 435, 49-58. 1997.

[23] P. Fratzl, Hierarchical structure and mechanical adaptation of biological materials, in Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials : from Biomineralisation Fundamentals to Biomimetic Materials and Processing Routes, R.L.R.S. Weiner, Editor 2004, Kluwer Academic Publishers. p. 15-34.

[24] P. Fratzl, H.F. Jakob, S. Rinnerthaler, P. Roschger, and K. Klaushofer, Position-Resolved small X-ray scattering of complex biological materials. Journal of Applied Crystallography. 30, 765-769. 1997.

[25] A. Gourrier, O. Bunk, K. Müller, and I. Reiche, Artificially heated bone at low temperatures : a quantitative scanning small-angle X-ray scattering imaging study of the mineral particle size. ArchéoSciences. 3, 191-199. 2011.

[26] M. Albéric, A. Gourrier, K. Müller, I. Zizak, W. Wagermaier, P. Fratzl, and I. Reiche, Early diagenesis of elephant tusks in marine environment. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. DOI : 10.1016/j.palaeo.2014.09.006, 2014.

[27] C. Chadefaux, A.-S. Le Hô, L. Bellot-Gurlet, and I. Reiche, Micro-ATR-FTIR studies combined with curve fitting of the amide I and II bands of type I collagen in archaeological bone materials. e-PS. 6, 129-137. 2009.

[28] M. Lebon, K. Müller, J.-J. Bahain, F. Fröhlich, C. Falguères, L. Bertrand, C. Sandt, and I. Reiche, Imaging fossil bone alterations at the microscale by SR-FTIR microspectroscopy. J. Anal. At. Spectrom. 26(5), 922 - 929. 2011.

[29] I. Reiche, M. Lebon, C. Chadefaux, K. Müller, A.-S. Le Hô, M. Gensch, and U. Schade, Microscale imaging of the preservation state of 5,000-year-old archaeological bones by synchrotron infrared microspectroscopy. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 397, 2491-2499. 2010.

[30] M. Lebon, A. Zazzo, and I. Reiche, Screening in situ bone and teeth preservation by ATR-FTIR mapping. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. DOI : 10.1016/j.palaeo.2014.08.001, 2014.

[31] D.B. Thomas, R.E. Fordyce, R.D. Frew, and K.C. Gordon, A rapid, non-destructive method of detecting diagenetic alteration in fossil bone using Raman spectroscopy. Journal of Raman Spectroscopy. 38, 1533 – 1537. 2007.

[32] D.B. Thomas, C.M. McGoverin, R.E. Fordyce, R.D. Frew, and K.C. Gordon, Raman spectroscopy of fossil bioapatite - A proxy for diagenetic alteration of the oxygen isotope composition. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. 310(1–2), 62-70. 2011.

[33] E. Pucéat, B. Reynard, and C. Lécuyer, Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites ? Chemical Geology. 205, 83-97. 2004.

[34] I. Reiche, M. Lebon, L. Bellot-Gurlet, A. Gourrier, and A. Zazzo. Potentiel informatif des ossements chauffés en contexte archéologique : étude à micro-échelle des aspects cristallographiques, élémentaires et isotopiques (OsIRIs). in PNRCC. 2013. Paris : Ministère de la Culture et de la Communication.

[35] M. Lebon, K. Müller, L. Bellot-Gurlet, C. Paris, and I. Reiche, Application des micro-spectrométries infrarouge et Raman à l'étude des processus diagénétiques altérant les ossements paléolithiques. ArchéoSciences. 35, 179-190. 2011.

[36] M. Olivares, N. Etxebarria, G. Arana, K. Castro, X. Murelaga, and A. Berreteaga, Multielement μ-ED-XRF analysis of vertebrate fossil bones. X-Ray Spectrometry. 37 (4), 293-297. 2008.

[37] T. Swanston, T. Varney, I. Coultard, R. Feng, B. Bewer, R. Murphy, and D. Cooper, Element localization in archaeological bone using synchrotron X-ray fluorescence : Identification of biogenic uptake. Journal of Archaeological Science. 39 (7), 2409-2413. 2012.

[38] I. Reiche, L. Favre-Quattropani, T. Calligaro, S. J, H. Bocherens, L. Charlet, and M. Menu, Trace Element Composition of Archaeological Bones and Postmortem Alteration in the Burial Environment. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B. 150, 656-662. 1999.

[39] M. Aubert, I.S. Williams, K. Boljkovac, I. Moffat, M.-H. Moncel, E. Dufour, and R. Grün, In situ oxygen isotope micro-analysis of faunal material and human teeth using a SHRIMP II : a new tool for palaeo-ecology and archaeology. Journal of Archaeological Science. 39 (10), 3184-3194. 2012.

[40] M. Duval, M. Aubert, J. Hellstrom, and R. Grün, High resolution LA-ICP-MS mapping of U and Th isotopes in an early Pleistocene equid tooth from Fuente Nueva-3 (Orce, Andalusia, Spain). Quaternary Geochronology. 6 (5), 458-467. 2011.

[41] T.A. Cahill, Proton microprobes and particle-induced x-ray analytical systems. Annual Review of Nuclear and Particle Science. 30 (1), 211-252. 1980.

[42] L. Pichon, L. Beck, P. Walter, B. Moignard, and T. Guillou, A new mapping acquisition and processing system for simultaneous PIXE-RBS analysis with external beam. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B. 268 2028–2033. 2010.

[43] L. Beck, J.P. Cuif, L. Pichon, S. Vaubaillon, A. Dambricourt Malassé, and R.L. Abel, Checking collagen preservation in archaeological bone by non-destructive studies (Micro-CT and IBA). Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B. 273, 203-207. 2012.

Encart 5.- Effet de la paléopollution sur l'état de préservation des os archéologiques

Katharina Müller[1], Céline Chadefaux[2], Nicolas Thomas[3], Ina Reiche[4]
1- Sorbonne Universités, Université Paris VI, LAMS UMR 8220 CNRS, Paris, France
2- jusqu'au 30 août 2009 : UMR 171, Laboratoire du Centre de recherche et de restauration des musées de France (C2RMF), Paris, France
3- INRAP, Paris, France
4- Sorbonne Universités, Université Paris VI, LAMS UMR 8220 CNRS, Paris, France
et Rathgen-Forschungslabor, Staatliche Museen zu Berlin - Preußischer Kulturbesitz, Berlin, Allemagne

Effet de la paléopollution sur l'état de préservation des os archéologiques : activité microbienne vs. présence de métaux lourds des os animaux du site métallurgique médiéval de l'Hôtel de Mongelas, Paris

L'attaque microbienne est un des processus d'altération majeur dans la première phase de diagenèse des os archéologiques [1]. Certaines conditions sont plus propices aux attaques microbiennes des os que d'autres. Généralement, il est admis que la présence de certains éléments métalliques présents dans le milieu d'enfouissement, tel que le cuivre, peut avoir un effet inhibiteur sur l'activité microbienne dans les os archéologiques. Cette étude de cas avait pour but de mettre en évidence de tels effets par l'investigation d'os animaux archéologiques découverts dans différentes zones d'activité métallurgique d'un site correspondant à un atelier de bronzier en activité entre 1325 et 1350.

Ce grand atelier métallurgique a été fouillé par les archéologues de l'INRAP à l'occasion de travaux de réaménagement de l'hôtel de Mongelas à Paris [2]. Sur ce site, au centre de la ville actuelle, mais en marge de la ville médiévale, ont été retrouvés de nombreux objets en alliages à base de cuivre, mais également des ossements. Les vestiges osseux étudiés (huit ossements animaux compacts de différentes espèces) proviennent de deux zones séparées par un bâtiment et présentent des états de préservation très variables. Les deux zones correspondent à différentes activités métallurgiques distinctes : la première était destinée à la déformation plastique des objets métalliques et dans la seconde se trouvait la fonderie. Provenant de l'une ou l'autre zone, la plupart des échantillons présentent une forte coloration verte (Figure 1).

Les ossements ont été sélectionnés afin de caractériser leur état de conservation en le reliant au milieu d'enfouissement du site. En effet, nous pouvons postuler que toute activité métallurgique prononcée conduit à une contamination des niveaux d'occupation avec notamment une incorporation d'éléments métalliques et une pollution des sols, en particulier des sédiments, mais également des vestiges osseux. Ceci a été observé sur le site puisque les os présentent une teinte plus ou moins verte et sont donc apparemment fortement imprégnés par des sels de cuivre issus de l'activité de l'atelier.

L'approche analytique choisie combine des méthodes complémentaires à différentes échelles : les observations morphologiques (MEB), les investigations structurales (FT-IR, DRX et MET) et les analyses chimiques (MEB/EDX et micro-PIXE/PIGE) [3, 4].



Figure 1 – Os présentant une forte coloration verte (© Gaëtan Jouanin).

Nous présentons ici plus particulièrement les résultats d'analyse MEB/EDX et micro-PIXE réalisées à l'accélérateur de particules AGLAE, installé au C2RMF à Paris.

Des enrichissements significatifs, essentiellement en cuivre, mais aussi en zinc et en plomb, ont été observés proche de la surface de la plupart des os du site par mesure de profils de diffusion sur les coupes transverses. Les ossements majoritairement verts proviennent des unités stratigraphiques (US) 2010, 2072 et 1091 qui sont contemporaines de l'activité métallurgique dans les deux zones. L'accumulation de Cu et de Zn dans ces os est reliée à la composition des objets métalliques et des déchets retrouvés qui sont principalement des laitons. Les mêmes métaux ont été retrouvés en fortes teneurs dans tous les sédiments contemporains de l'activité [5].

A contrario, les échantillons bruns retrouvés dans l'US 1066, datant de la 2e moitié du XVe s., donc postérieur à l'activité métallurgique, montrent très peu ou pas de contamination par des métaux lourds.

En tout, deux tiers des os de Mongelas avec des teneurs élevées en métaux lourds ne montrent pas d'altération bactérienne (US 1091 et 2072). Les os contenant des métaux lourds de l'ordre de concentrations in-vivo montrent des signes d'attaque microbienne (zones hyperminéralisées et microcanaux). Ainsi, une certaine influence de la présence des métaux lourds sur l'altération microbienne peut être postulée. Cependant, ce postulat est défié par le fait que deux os de l'US 2010 ont été altérés d'une façon significative par les bactéries malgré une forte présence de métaux lourds (Cu, Zn, and Pb) (Figure 2 et 3). Il en suit que d'autres processus et la séquence des processus sont à considérer lorsqu'on étudie la relation entre attaque microbienne et présence de métaux lourds dans le milieu d'enfouissement, notamment dans le cas présent, la présence de latrines du XIXe siècle, situées au-dessus de l'US 2010

ne serait peut-être pas étrangère à cette attaque microbienne et ce, malgré une forte contamination métallique.

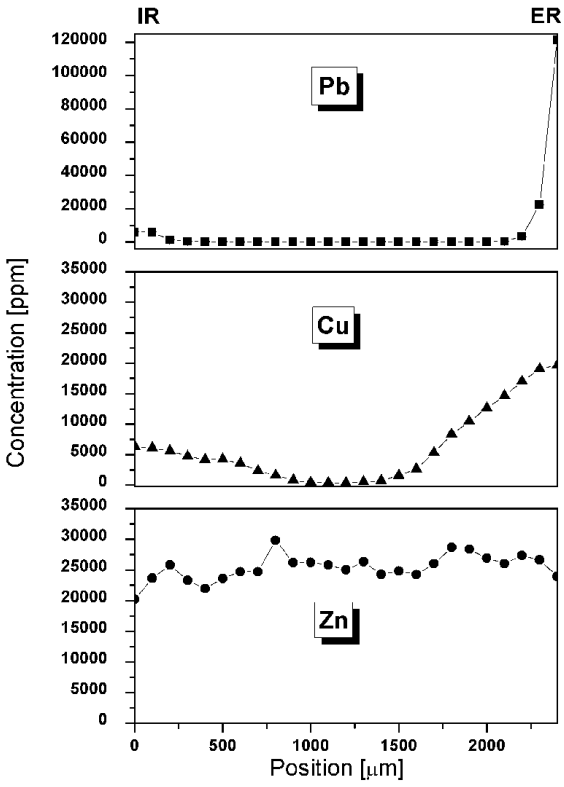


Figure 2 – Profils de Zn, Cu et Pb obtenus en micro-PIXE sur une coupe transverse d'un os vert issu de la zone 2 (AB_Cf2010).

Plusieurs hypothèses quant à la séquence d'interaction des os avec les micro-organismes et les métaux lourds dissous dans les sols en fonction de leur abondance peuvent être émises. Il s'agit évidemment que de modèles théoriques simplifiés des processus réels :

a. Le scénario le plus général est que les deux processus se passent simultanément. En fonction de leur importance ils se restreignent ou se soutiennent.

b. Un deuxième scénario correspond à un cas limite où les micro-organismes attaquent l'os immédiatement après avoir été enfouis causant l'augmentation de la porosité. Une porosité accrue est favorable à la pénétration de l'eau du sol en facilitant le transport des métaux lourds dans l'os. L'activité microbienne peut aussi favoriser la recristallisation de la phase minérale qui présente une surface spécifique moindre que la phase endogène. Ceci limite la capacité à adsorber les métaux lourds.

Ces deux phénomènes influenceraient l'enrichissement en métaux lourds en sens inverse. Est toujours en débat si l'attaque microbienne est le processus qui joue en premier ou s'il n'est pas indispensable que l'os soit déjà altéré pour qu'elle puisse agir.

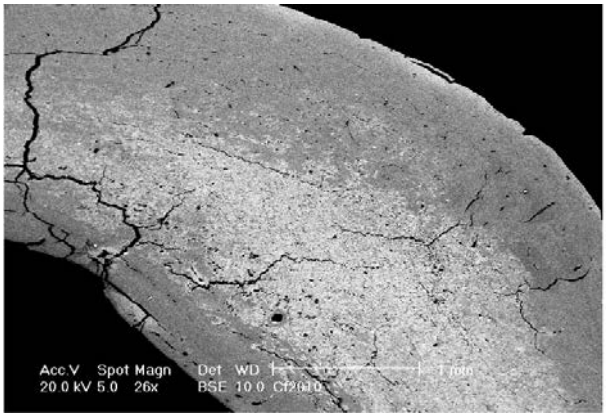


Figure 3 – Micrographie MEB en mode BSE de l'os AB_Cf2010 montrant à la fois les traces d'une attaque microbienne au centre et en enrichissement en métaux lourds au bord.

c. Un troisième scénario est celui d'une altération de la composition chimique débutant directement après l'enfouissement. Ainsi, les métaux se fixent aux phases présentes dans l'os. Les constituants osseux se dégradent continuellement, entre autres par l'activité microbienne.

La caractérisation de l'état de conservation des échantillons osseux médiévaux provenant de deux milieux d'enfouissements différents a montré qu'un environnement présentant un pH légèrement basique et riche en éléments lourds était favorable à la préservation des vestiges osseux archéologiques car l'activité des microorganismes y semblait diminuée.

Par contre, un milieu plus acide et pauvre en éléments lourds ne limite pas l'activité des microorganismes et n'est donc a priori pas favorable à la conservation des vestiges osseux.

Bibliographie

[1] M. M. E. Jans, C. M. Nielsen-Marsh, C. I. Smith, M. J. Collins, H. Kars, Characterisation of microbial attack on archaeological bone. Journal of Archaeological Science. 31, 87-95, 2004.

[2] N. Thomas, D. Bourgarit, Une industrie médiévale du bronze. La Recherche. 403, 56-58, 2006.

[3] K. Müller C. Chadefaux, N. Thomas, I. Reiche, Microbial attack of archaeological bones versus high concentrations of heavy metals in the burial environment. A case study of animal bones from a mediaeval copper workshop in Paris. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. 310(1-2), 39-51, 2011.

[4] C. Chadefaux, Etablissement d'une nouvelle stratégie analytique multiéchelle de détermination de l'état de conservation des os et bois de cervidés archéologiques, thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, 2009.

[5] N. Thomas, Les ateliers urbains de travail du cuivre et de ses alliages au bas Moyen Âge : Archéologie et histoire d'un site parisien du XIV^{e} siècle dans la Villeneuve du Temple (1325-1350), thèse de doctorat de l'Université de Paris 1 Panthéon-Sorbonne, 2009.