



**SPECTRATOM 10-13 mai 2022, Pau**



## Détection et quantification du fluor par méthodes croisées LIBS et PIXE-PIGE : une étude de cas en archéologie

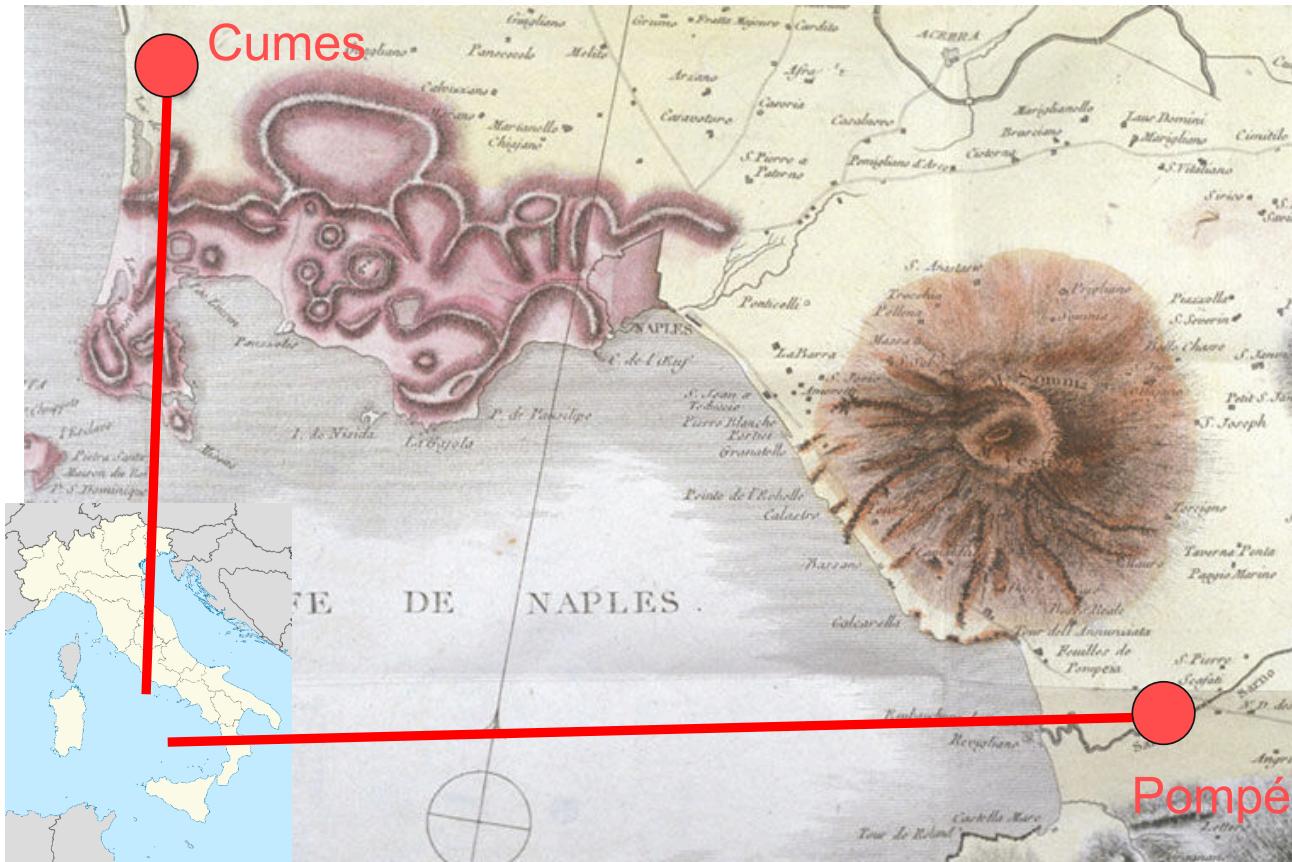
Yannick Lefrais <sup>1</sup>, Eliza Orellana-Gonzalez <sup>2, 1, 3</sup>, Stéphan Dubernet <sup>1</sup>, Henri Duday <sup>2</sup>, Dominique Castex <sup>2</sup>, Rémy Chapoulie <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Bordeaux Montaigne, CNRS, UMR 6034 Archéosciences Bordeaux, France

<sup>2</sup> Université de Bordeaux, CNRS, MC, UMR 5199 PACEA, France

<sup>3</sup> Ecole française de Rome, Italie

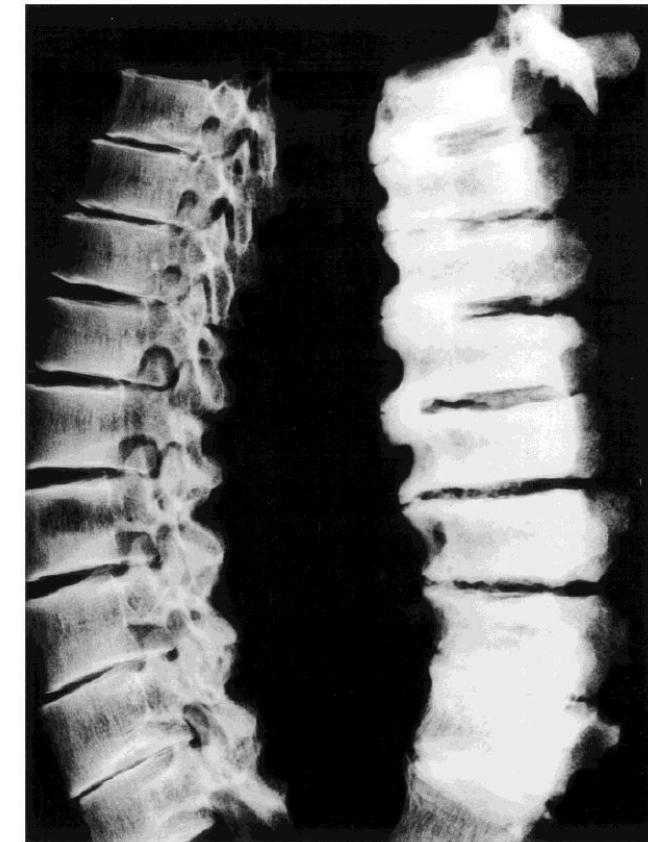
# Contexte historique



Carte des Champs Phlégréens et du Vésuve  
(d'après Breislak, 1801)



Ensemble funéraire 34009  
(© Archives CJB, CNRS-EFR)



Radiographie de colonnes vertébrales pathologique (droite)  
vs normale (gauche).  
(D'après Littleton, 1999)

# Identification des éléments par LIBS



## Caractéristiques techniques :

Laser Nd:YAG

Énergie 30 mJ

Taille du spot 500 µm

## Spectromètre :

Plage spectrale de 200 nm à 1013 nm

Résolution spectrale de 0,2 nm

Pré-pulsations pour le nettoyage : 10

Nombre de tirs par point : 50

Nombre de points d'analyse par échantillon : 8

Même protocole pour les échantillons bruts, les pastilles et les coupes épaisses

# Identification des éléments par LIBS



## Caractéristiques techniques :

Laser Nd:YAG

Énergie 30 mJ

Taille du spot 500 µm

## Spectromètre :

Plage spectrale de 200 nm à 1013 nm

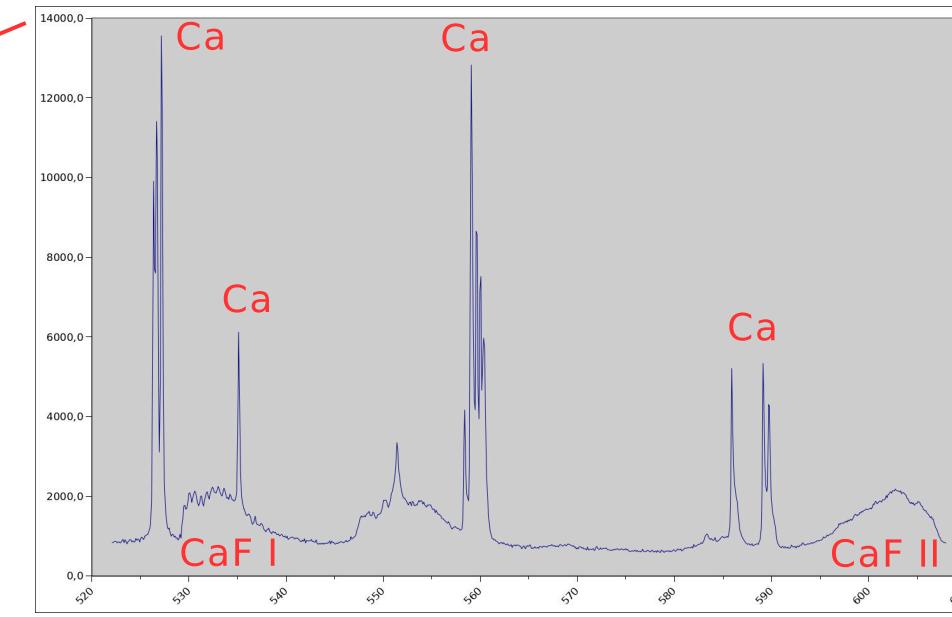
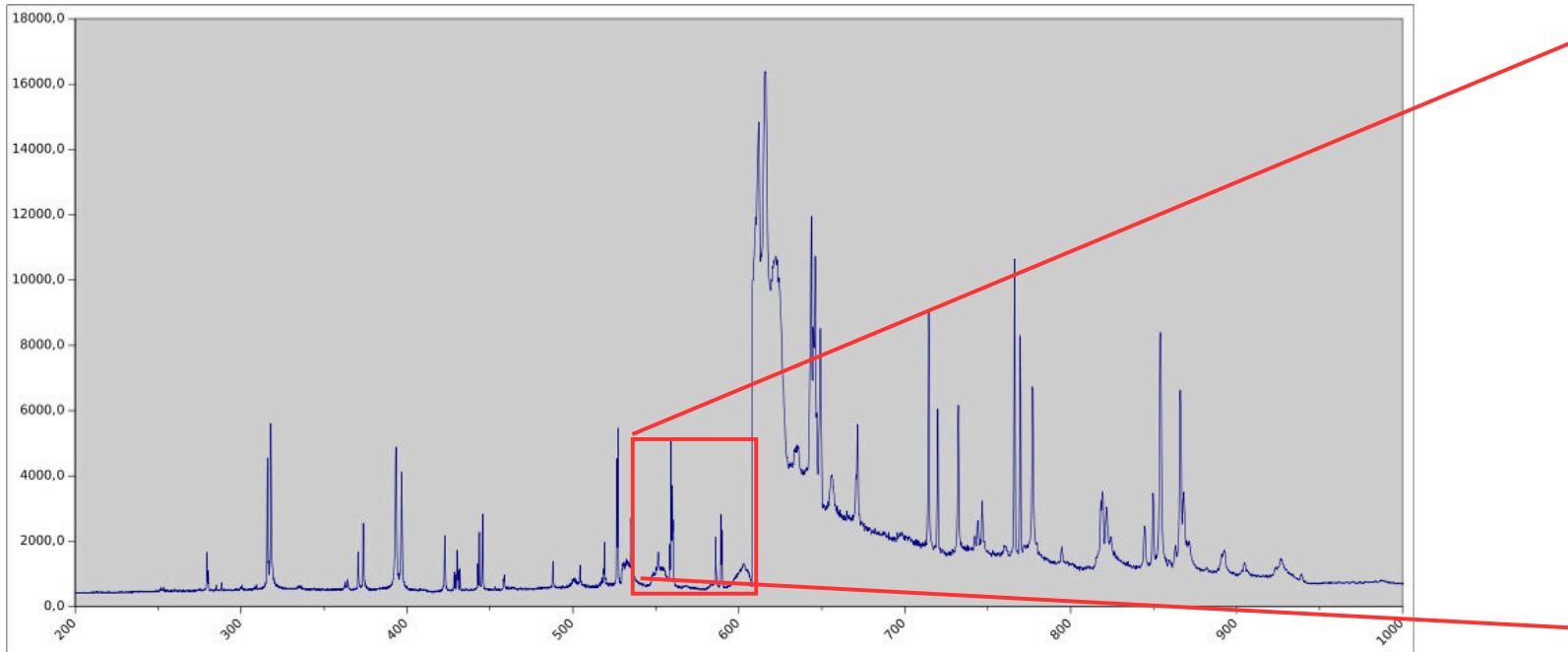
Résolution spectrale de 0,2 nm

Pré-pulsations pour le nettoyage : 10

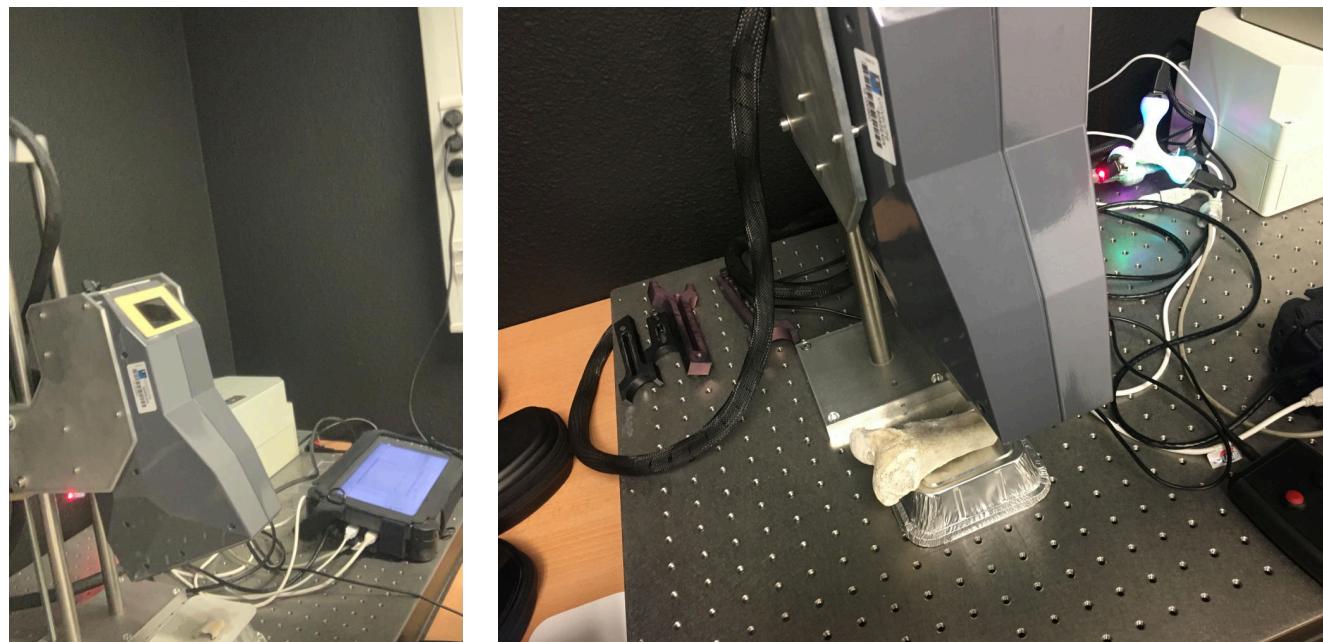
Nombre de tirs par point : 50

Nombre de points d'analyse par échantillon : 8

Même protocole pour les échantillons bruts, les pastilles et les coupes épaisses



# Identification des éléments par LIBS



## Caractéristiques techniques :

Laser Nd:YAG

Énergie 30 mJ

Taille du spot 500 µm

## Spectromètre :

Plage spectrale de 200 nm à 1013 nm

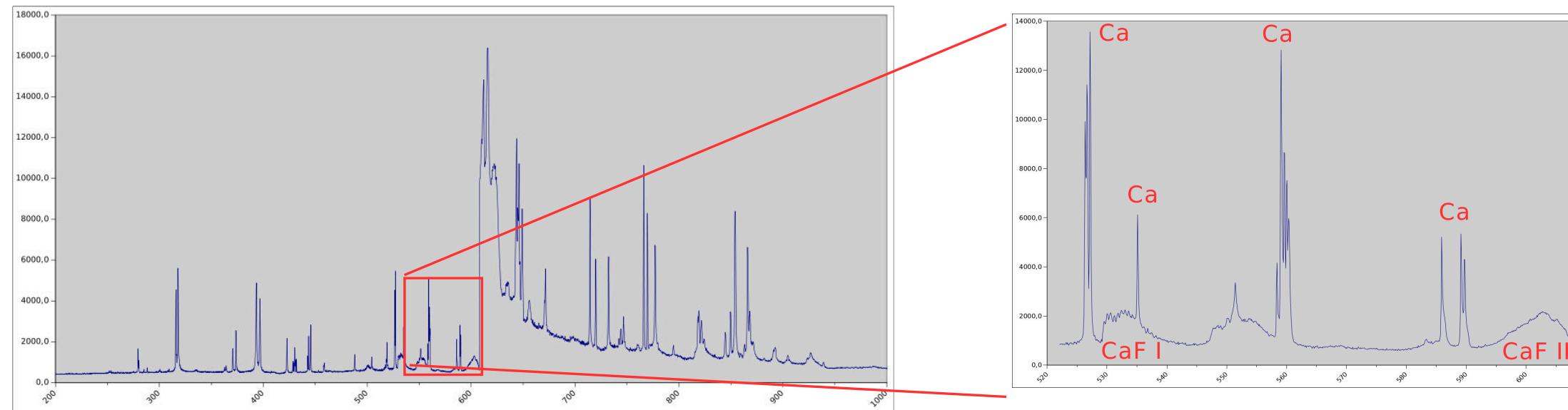
Résolution spectrale de 0,2 nm

Pré-pulsations pour le nettoyage : 10

Nombre de tirs par point : 50

Nombre de points d'analyse par échantillon : 8

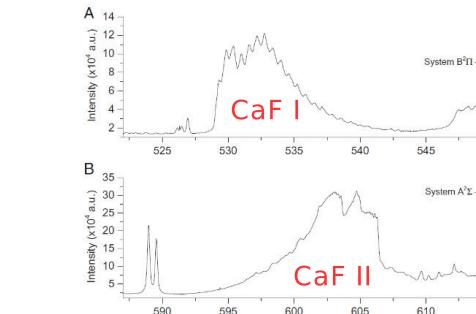
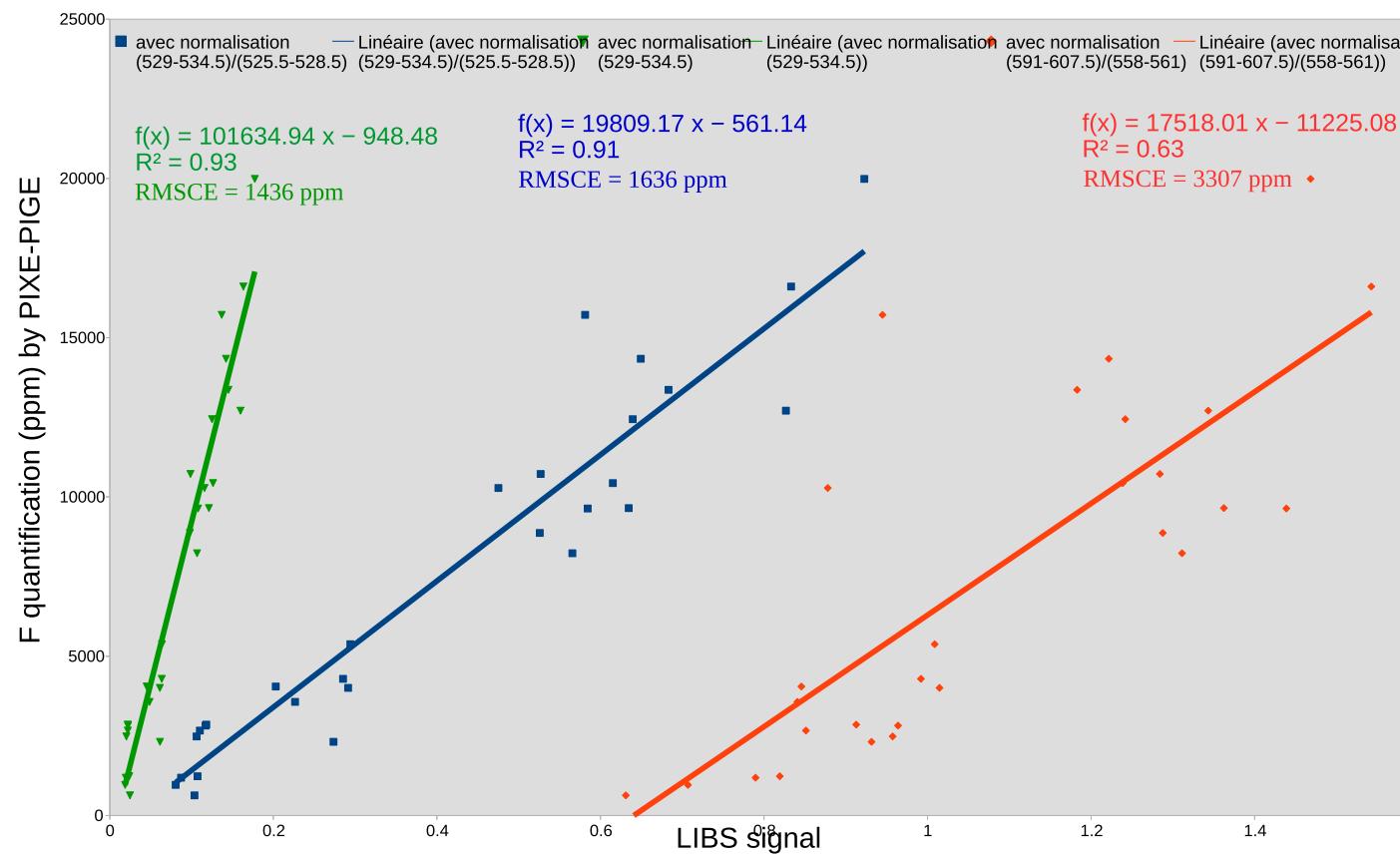
Même protocole pour les échantillons bruts, les pastilles et les coupes épaisses



**Composition d'un os humain frais (adulte) :**  
 65 % d'Hydroxyapatite ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) + autres minéraux mineurs  
 25 % d'eau  
 10 % de protéines dont 90 % collagène (éléments C, H, O et N)

**Éléments détectés dans le spectre LIBS d'un échantillon d'os archéologique : Ca, Mg, Na, CaF**  
 Ligne principale de F I à 685.6 nm non détectée par notre appareil.  
 => **Utilisation des bandes moléculaires de CaF.**

# Influence de la standardisation ? Quelle bande CaF ?



C. Alvarez et al. /  
Spectrochimica Acta Part B  
100 (2014) 123-128

	Sans standardisation	Avec standardisation
[529-534,5]	$R^2 = 0,30$ RMSEC = 4546 ppm	$R^2 = 0,93$ RMSEC = 1436 ppm
[529-534,5] / [525,5-528,5]	$R^2 = 0,85$ RMSEC = 4974 ppm	$R^2 = 0,91$ RMSEC = 1636 ppm
[591-607,5] / [558-561]		$R^2 = 0,63$ RMSEC = 3307 ppm

RMSEC : racine-carrée de l'erreur d'etalonnage

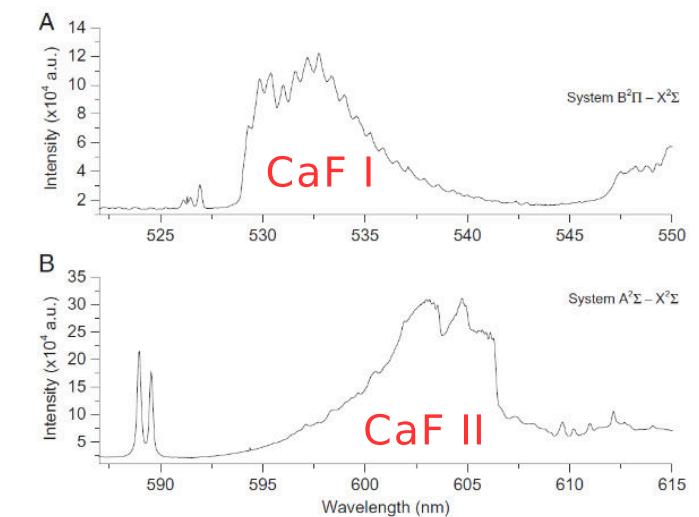
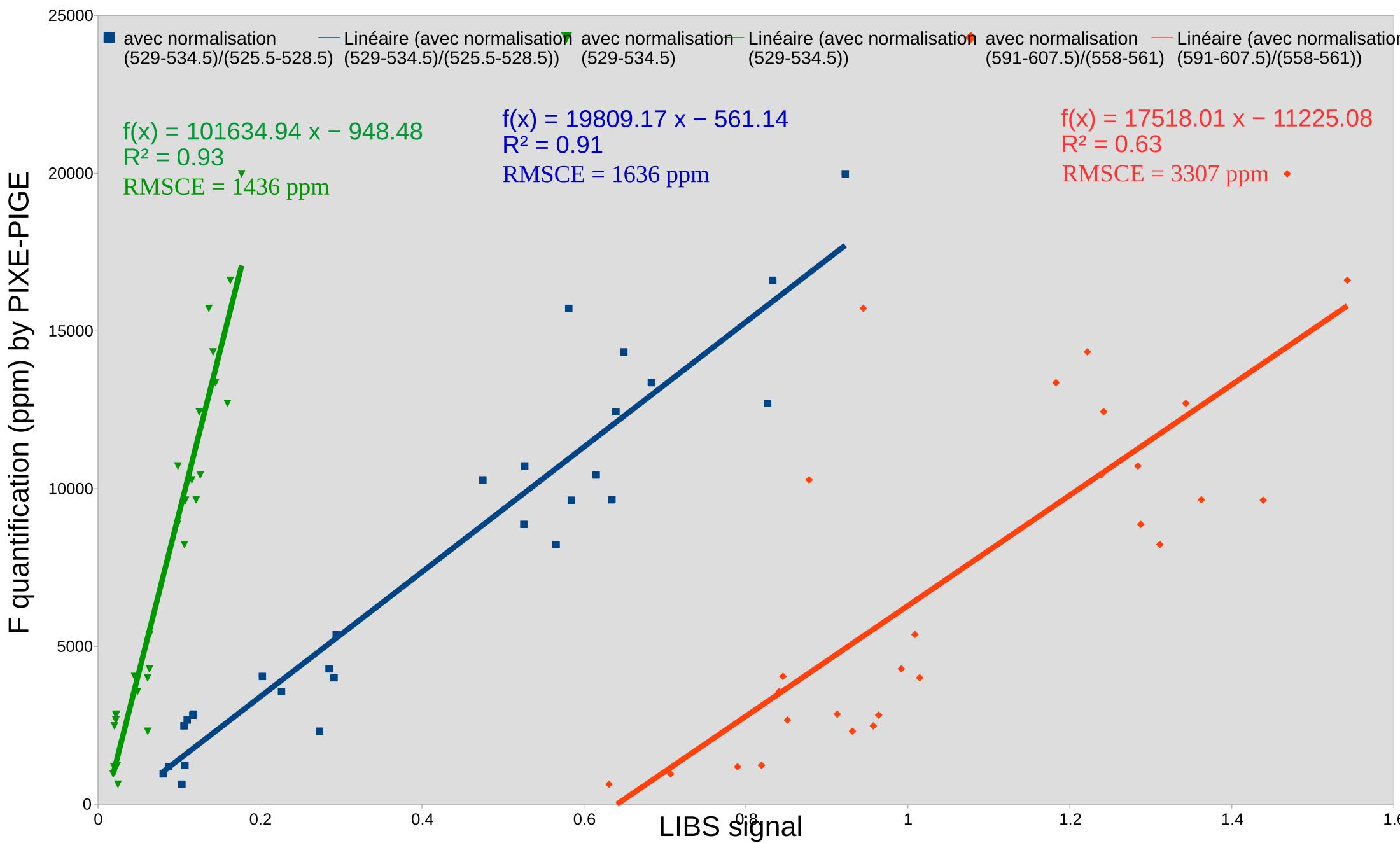
Études dans la gamme spectrale [525-562] nm :  
Mesures de la bande CaF I avec standardisation

=> Standardisation (départ de 0, surface totale = 1)  
=> Mesure simple de la bande CaF I ou du rapport CaF I / Ca.

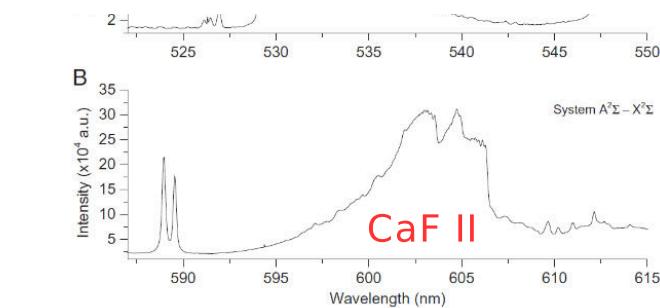
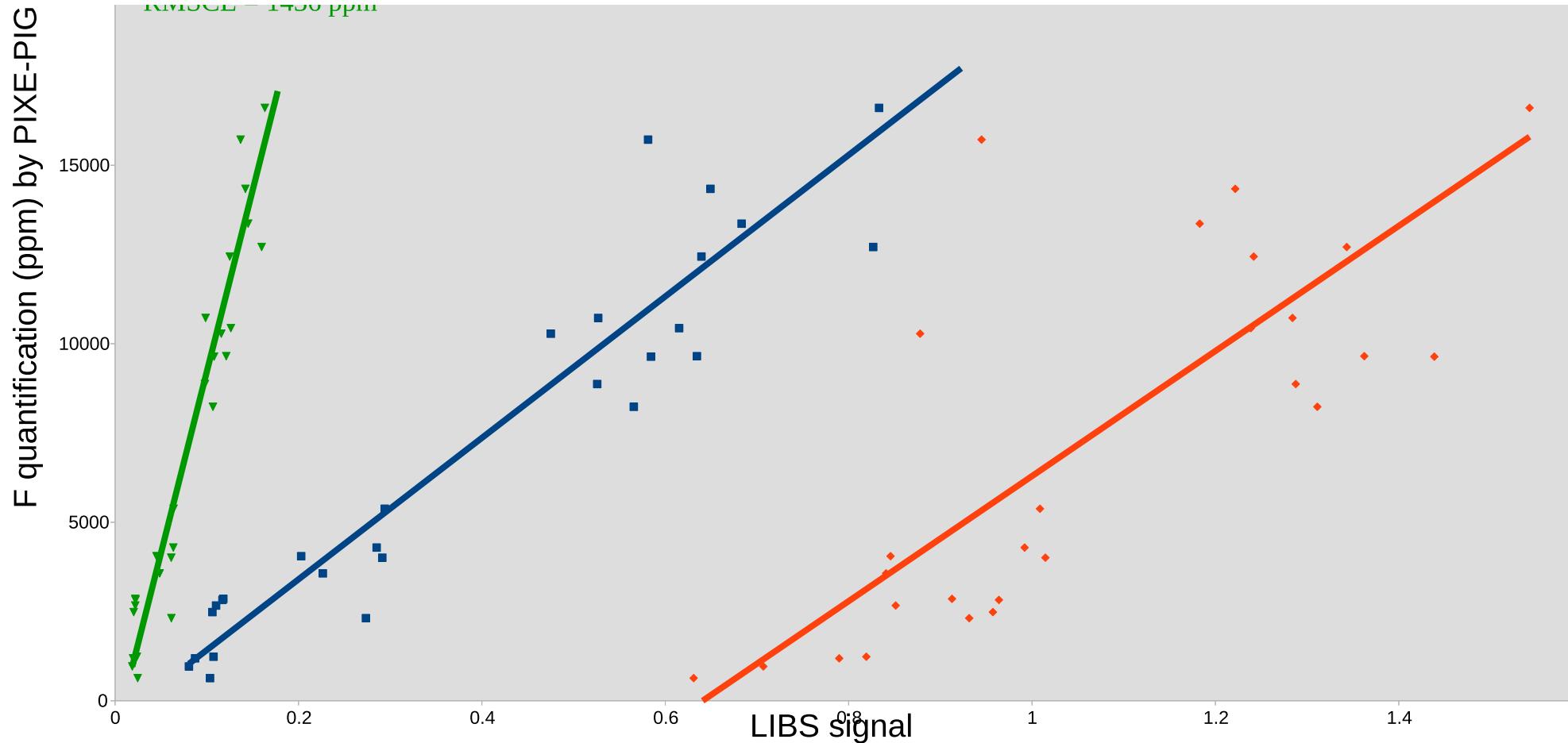
Études dans la gamme spectrale [558-608] nm :  
Mesures de la bande CaF II avec standardisation  
=> Mauvais résultats avec la bande CaF II, même avec standardisation

=> Utilisation de la bande CaF I

# Influence de la standardisation ? Quelle bande CaF ?



C. Alvarez et al. /  
Spectrochimica Acta Part B  
100 (2014) 123-128



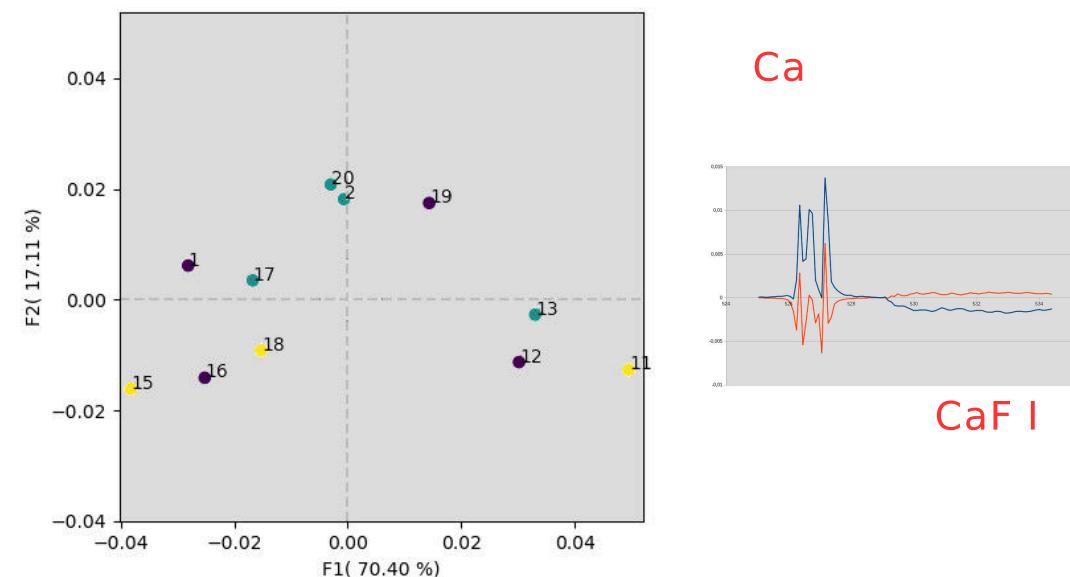
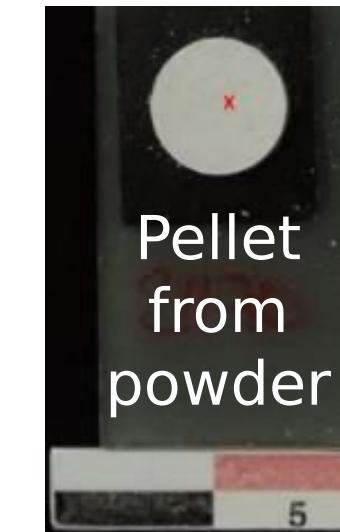
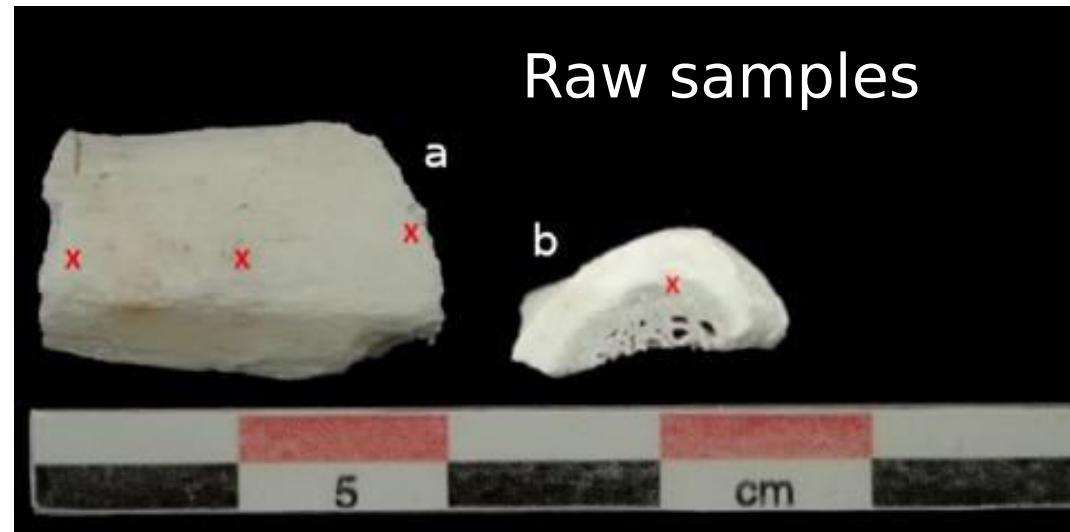
C. Alvarez et al. /  
Spectrochimica Acta Part B  
100 (2014) 123-128

	Sans standardisation	Avec standardisation
[529-534,5]	$R^2 = 0,30$ RMSEC = 4546 ppm	$R^2 = 0,93$ RMSEC = 1436 ppm
[529-534,5] / [525,5-528,5]	$R^2 = 0,85$ RMSEC = 4974 ppm	$R^2 = 0,91$ RMSEC = 1636 ppm
[591-607,5] / [558-561]		$R^2 = 0,63$ RMSEC = 3307 ppm

Études dans la gamme spectrale [525-562] nm :  
Mesures de la bande CaF I avec standardisation  
**=> Standardisation (départ de 0, surface totale = 1)**  
**=> Mesure simple de la bande CaF I ou du rapport CaF I/Ca.**

Études dans la gamme spectrale [558-608] nm :  
Mesures de la bande CaF II avec standardisation  
**=> Mauvais résultats avec la bande CaF II, même avec standardisation**  
**=> Utilisation de la bande CaF I**

# Influence de la préparation des échantillons

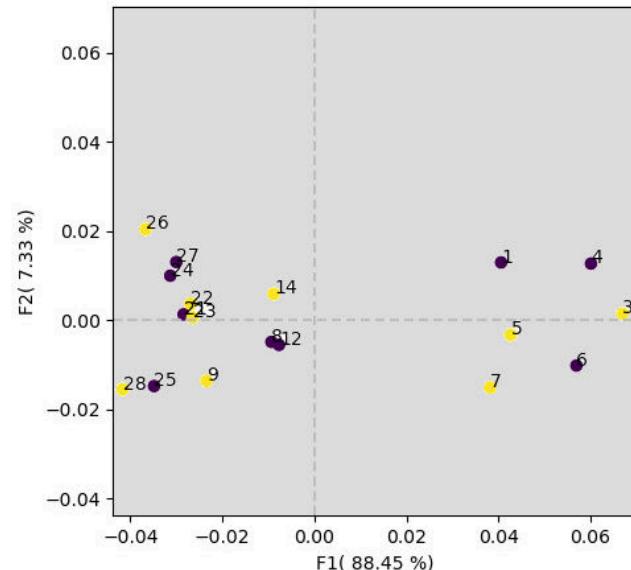


Echantillons **bruts en violet**, **sections épaisses en bleu** (enrobés de résine, coupés et polis), **broyés et pastillés en jaune**. Echantillon 1 (1,2), échantillon 2 (11,12,13), échantillon 3 (15,16,17), échantillon 4 (18,19,20).

Après normalisation : Pas d'influence significative du mode de préparation.

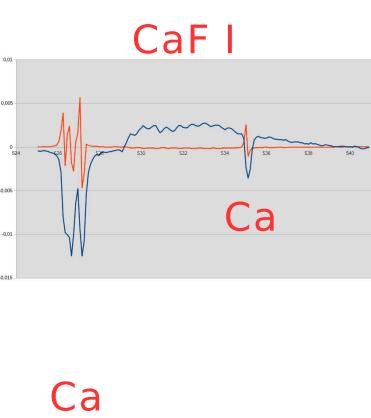
=> Nous pouvons utiliser les échantillons archéologiques bruts

# Influence du type d'os



ACP appliquée sur les spectres normalisés.  
Facteurs 1 (88,45%). Facteur 2 (7,33%).

=> Nous pouvons utiliser les fémurs et/ou les côtes des échantillons archéologiques bruts



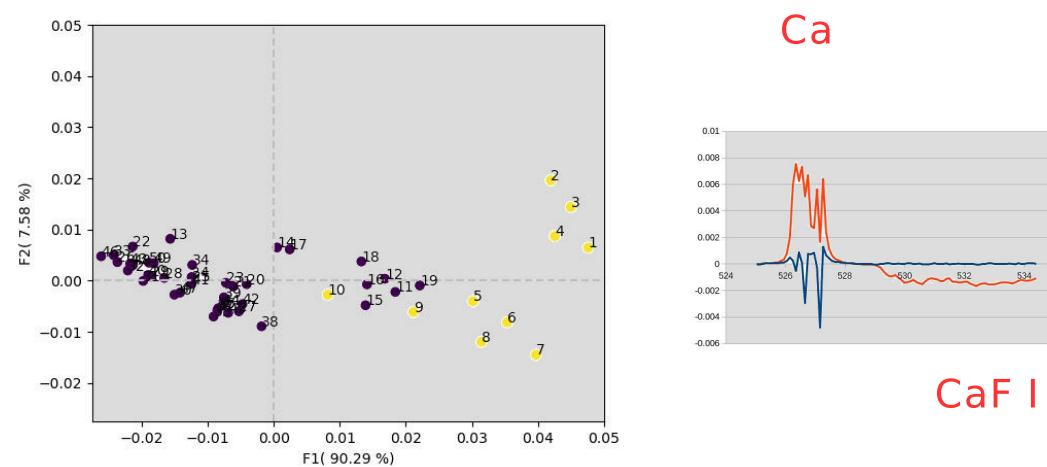
**Fémurs en violet. Côtes en jaune.**

Echantillon 1 (1,3), échantillon 2 (4,5), échantillon 3 (6,7), échantillon 4 (8,9), échantillon 5 (12,14), échantillon 6 (21,21), échantillon 7 (23,24), échantillon 8 (25,28), échantillon 9 (27,28).

	Fémurs + côtes	Fémurs
[529-534,5] / [525,5-528,5]	R <sup>2</sup> = 0,91 RMSEC = 1636 ppm	R <sup>2</sup> = 0,93 RMSEC = 1614 ppm

Après normalisation : Pas d'influence significative du type d'os (paires de points proches en ACP)

# Influence de l'état de surface et de la pollution



Pour chaque échantillon :  
**8 zones de 50 tirs.**

Chaque **10 premiers tirs (points jaunes sur l'ACP)** ont été systématiquement supprimés du calcul du spectre moyen.



ACP appliquée sur les spectres normalisés.  
 Facteurs 1 (90,29%). Facteur 2 (7,58%).

=> Suppression systématique des 10 premiers tirs pour s'affranchir de la pollution et/ou de l'état de surface

# Quantification du fluor et conclusions méthodologiques

Construction du modèle linéaire de calibration du fluor à l'aide de **concentration mesurées par PIXE-PIGE**.

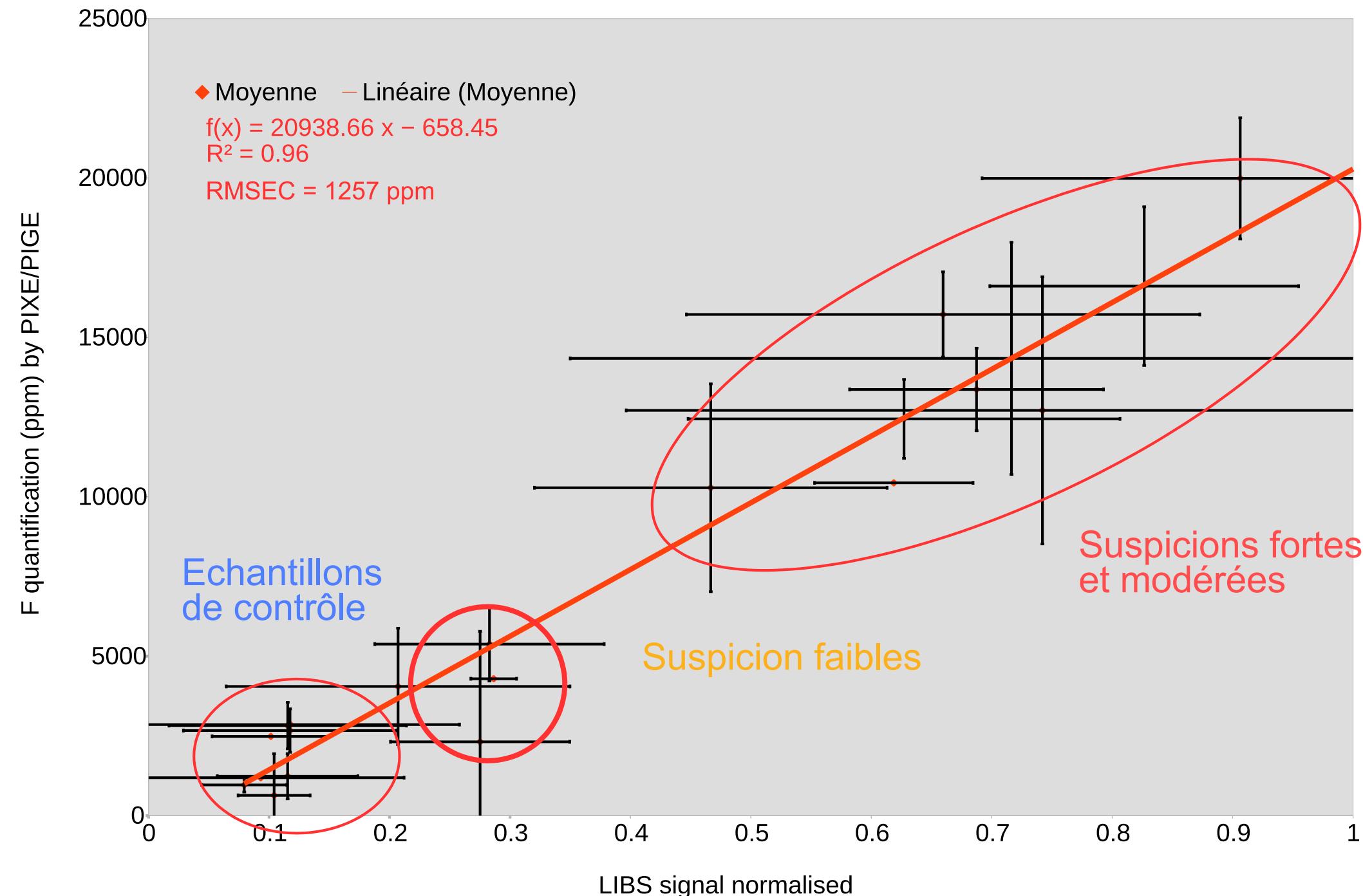
**Jeu de données d'étalonnage** : 21 échantillons

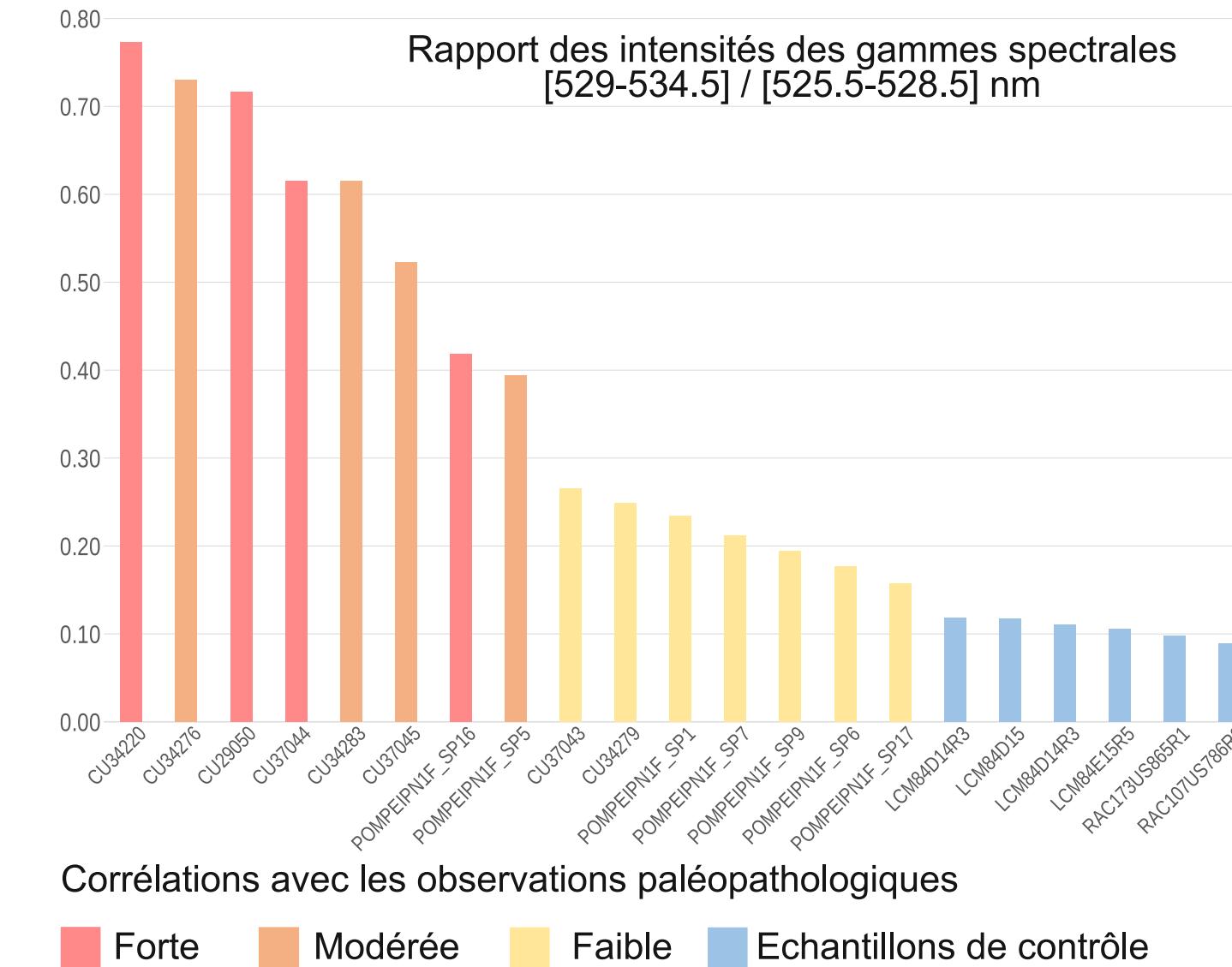
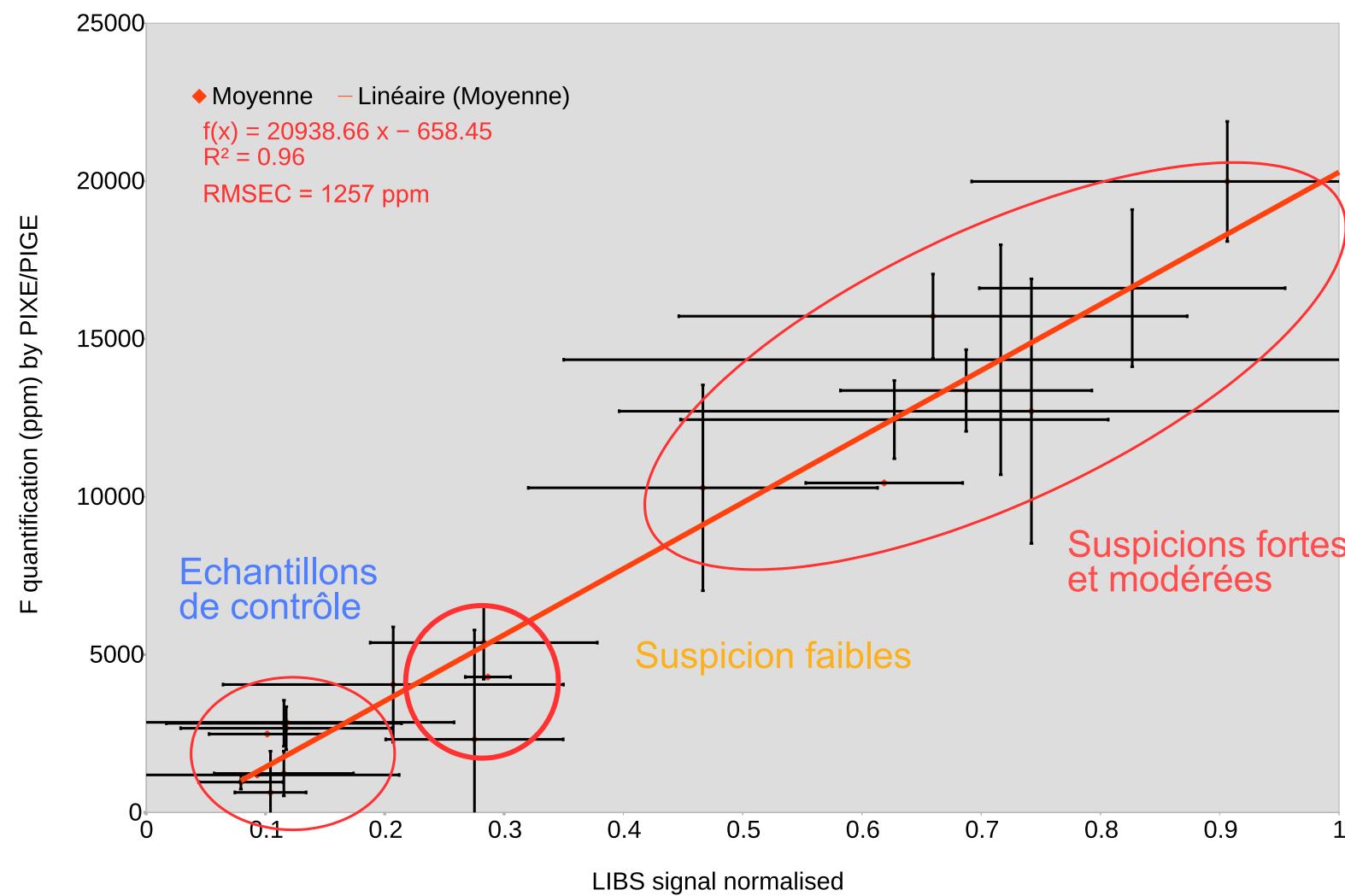
**Jeu de données de validation** (en cours) : 35 échantillons

Utilisation de mesures normalisées du rapport CaF I/Ca.

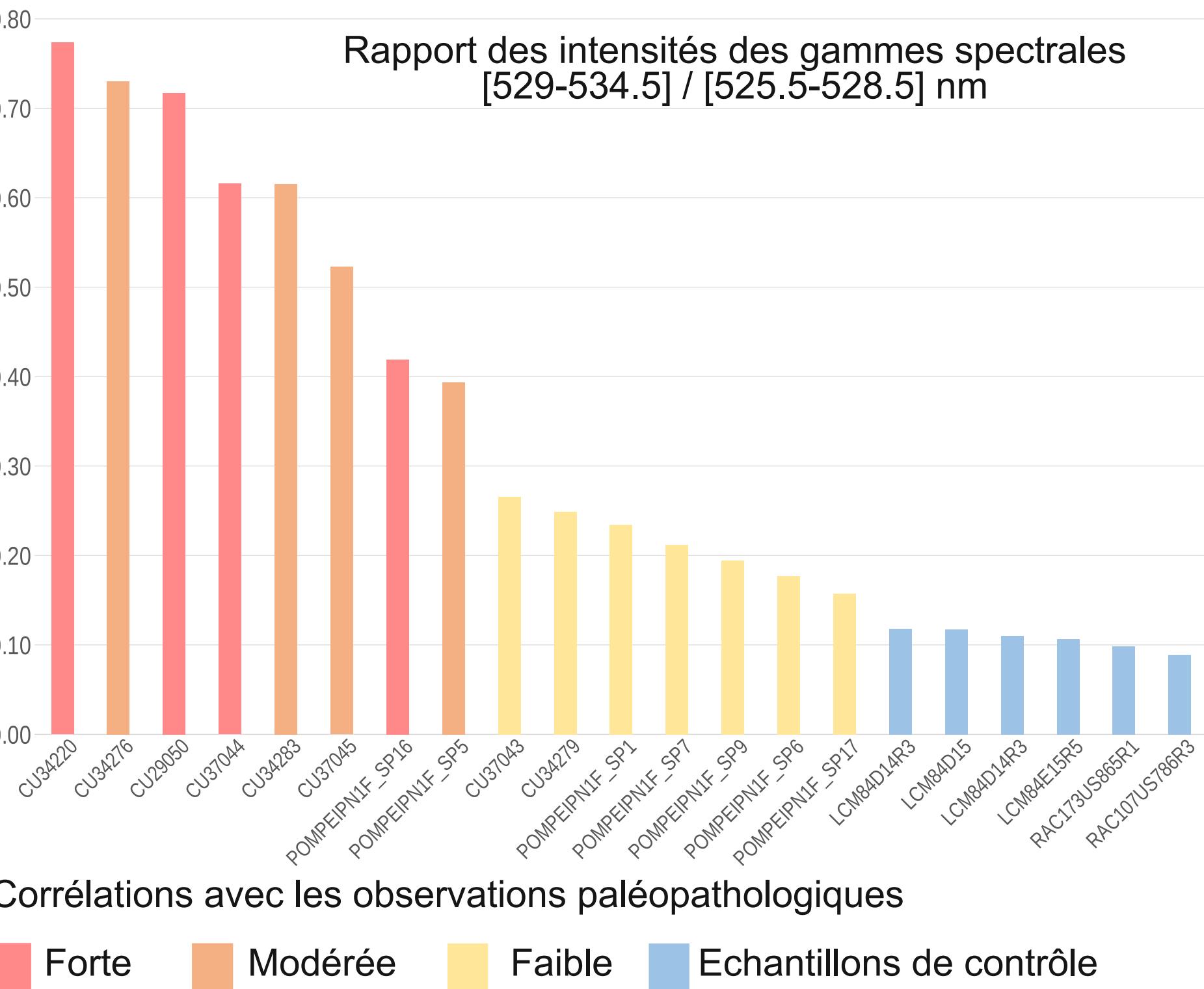
Ecarts-types importants (4 quantifications par échantillon) en raison de l'hétérogénéité des échantillons.

Fluorose lorsque >3500 ppm pour les os non brûlés (Petrone et al. 2013, Wasler et al, 2020).





# Premiers résultats de l'application archéologique



**La LIBS permet de quantifier le fluor et de distinguer sans aucun doute les individus **parmi les trois groupes** suivants :**

- ✓ Suspicion de fluorose **modérée** ou **forte**
- ✓ Suspicion de fluorose **faible**
- ✓ Ensemble de **contrôle** (pas de pathologie de fluorose)

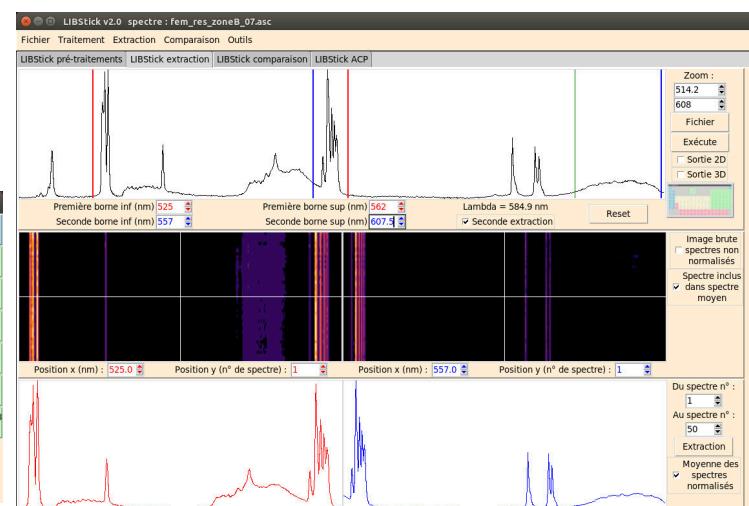
=> Résultat déjà très satisfaisant à **confirmer à l'aide des échantillons de contrôle** (en cours)

✓=> La distinction entre les classes **modérée** et **forte** nécessite de **travailler sur** :

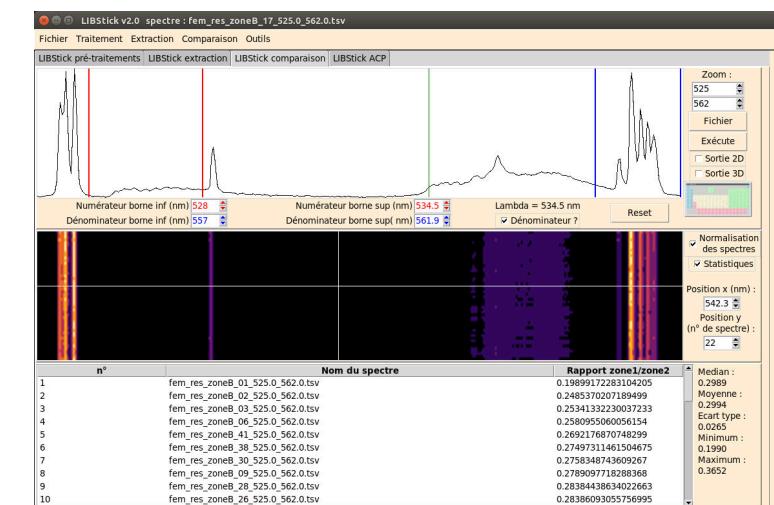
- ✓ La réduction des écart-types pour les deux techniques LIBS et PIXE-PIGE (Corpus plus important)
- ✓ Prélèvement à la surface de l'échantillon (hétérogénéité).

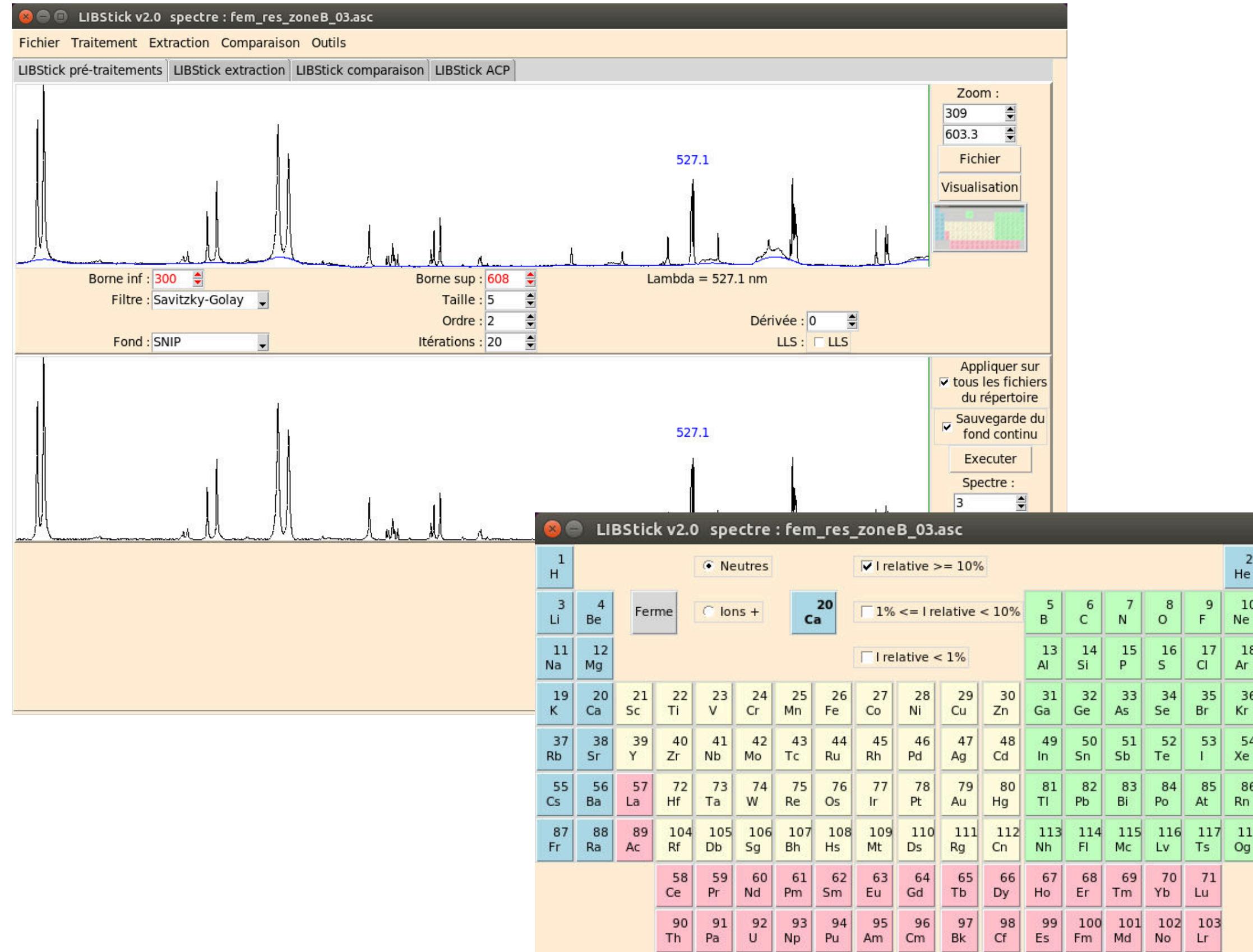
=> Vers d'autres applications archéologiques ?

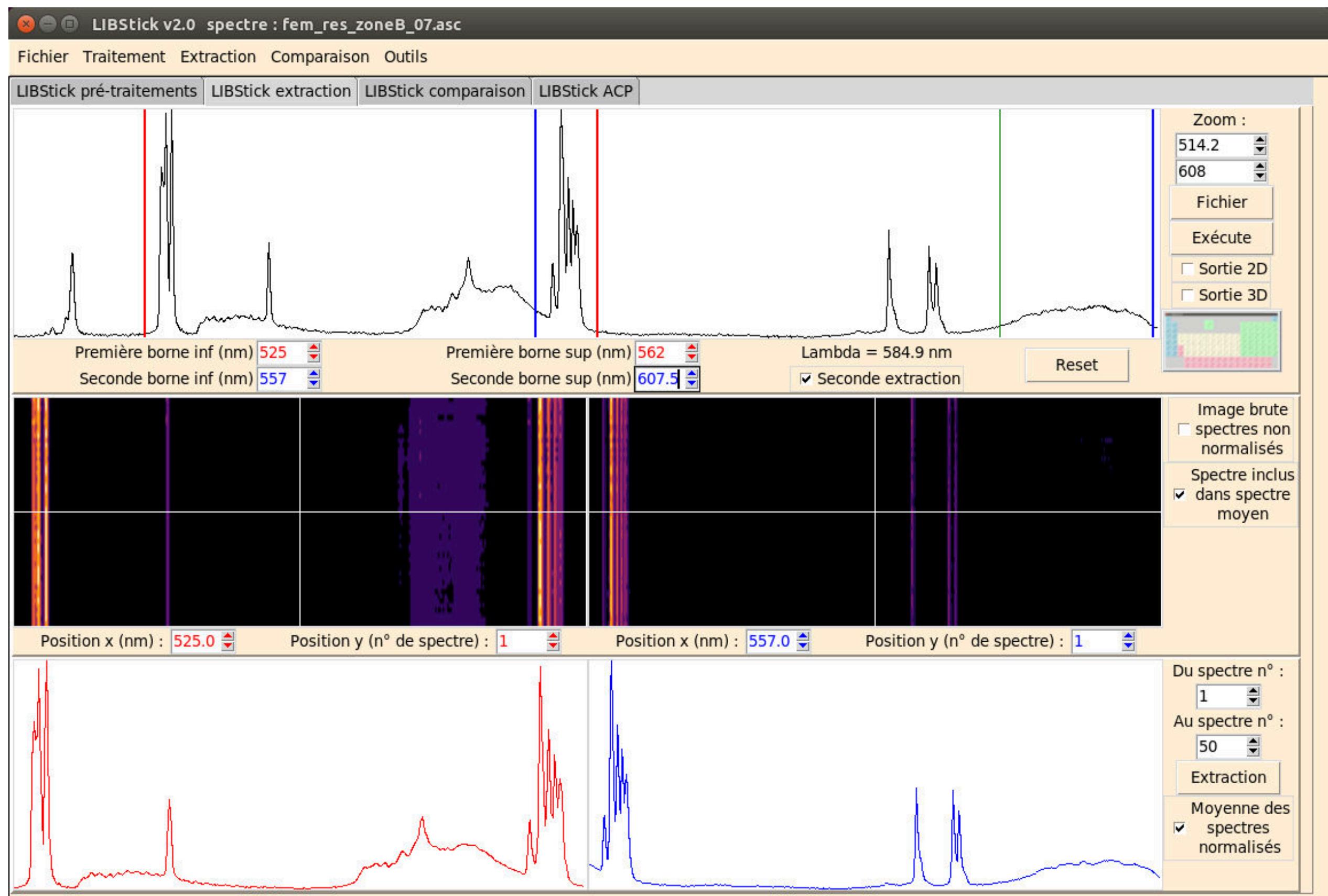
# LIBStick : logiciel maison pour le traitement des données LIBS

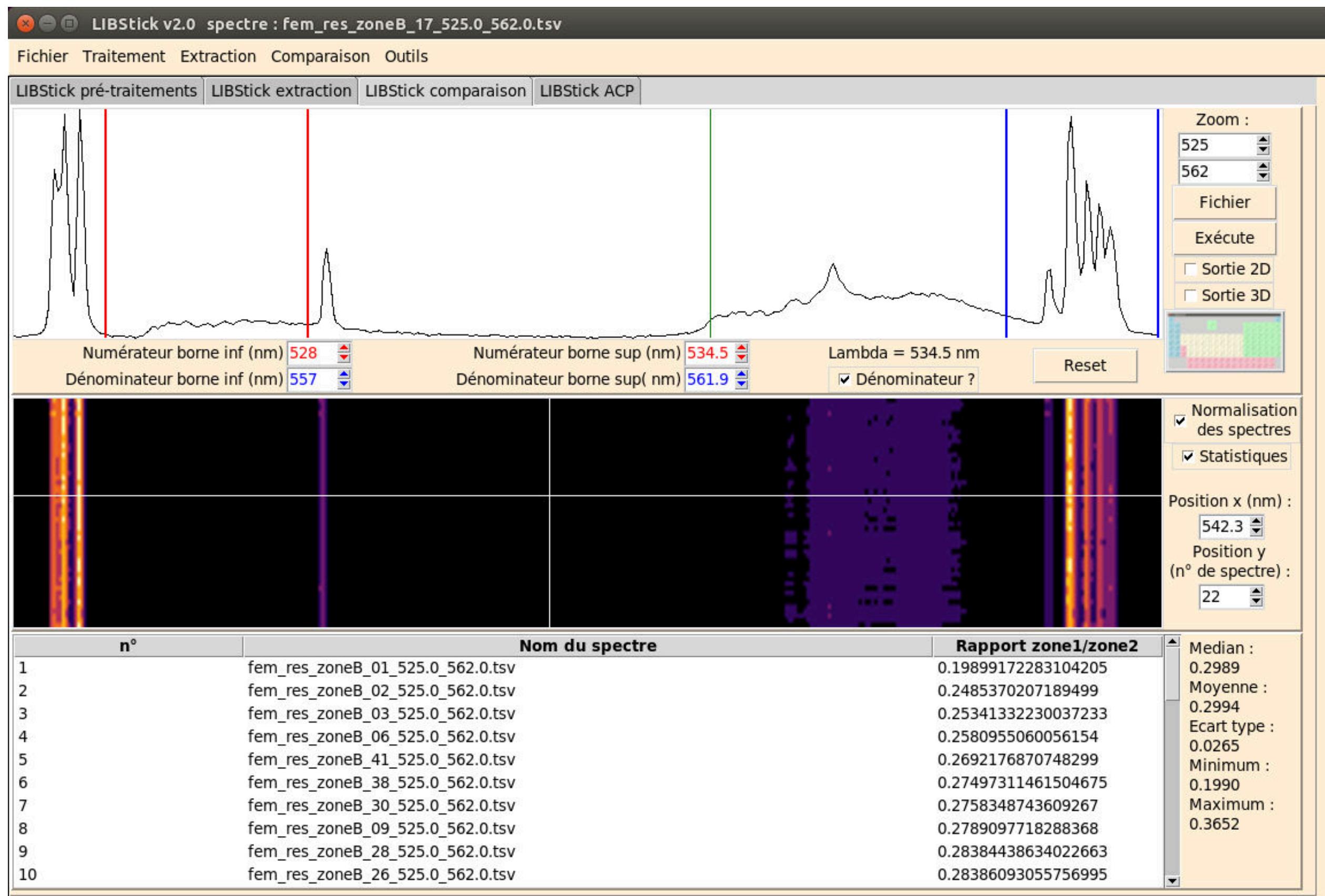


- Python
- Source ouverte (<https://github.com/crp2a/LIBStick>)
- Traitement par lots
- Traitements (lissage, fond continu, normalisation...)
- Extraction contrôlée des spectres moyens
- Mesures (simple ou ratio) du signal LIBS et classification
- Etudes statistiques par PCA
- Classification périodique (données NIST)









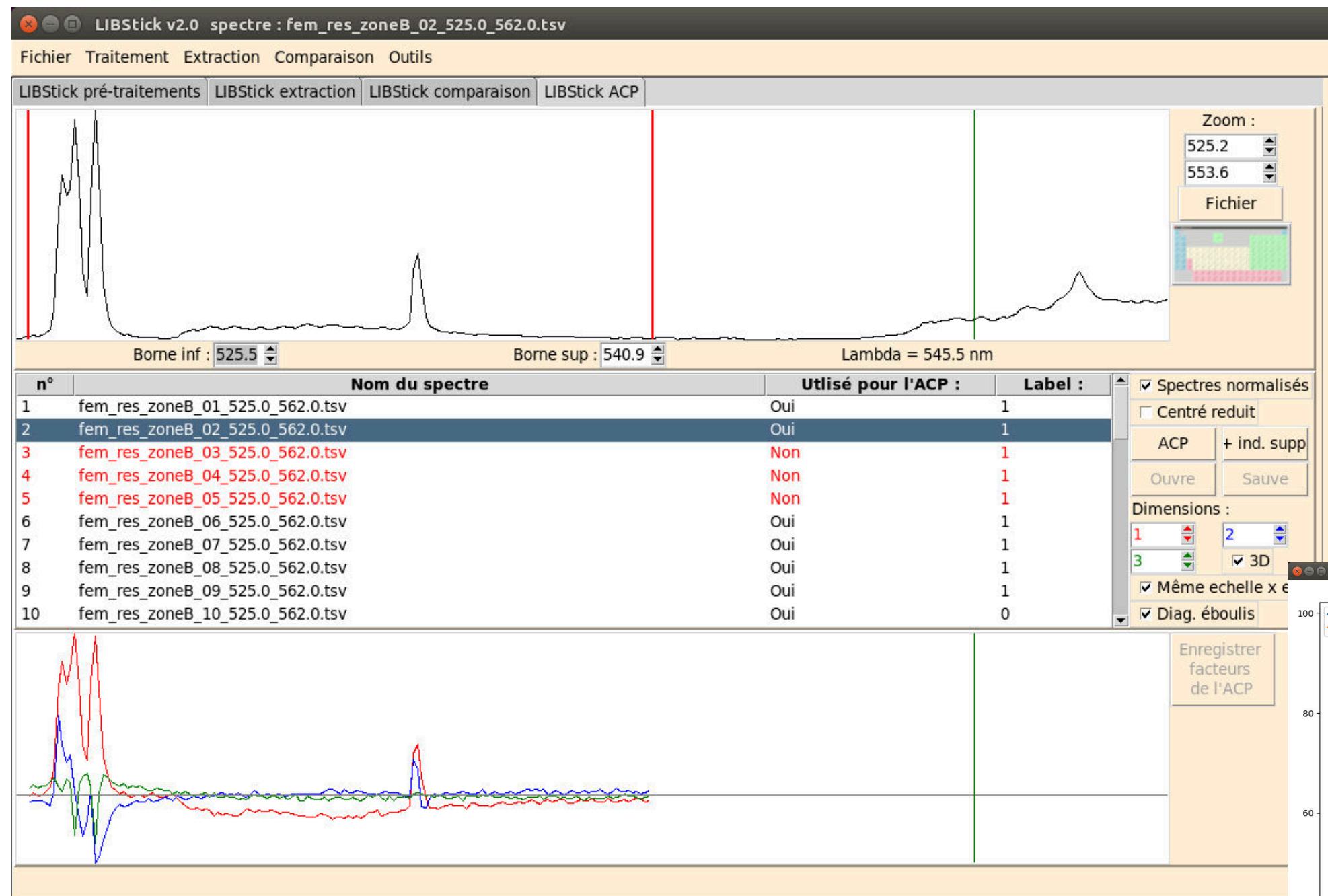


Figure 8

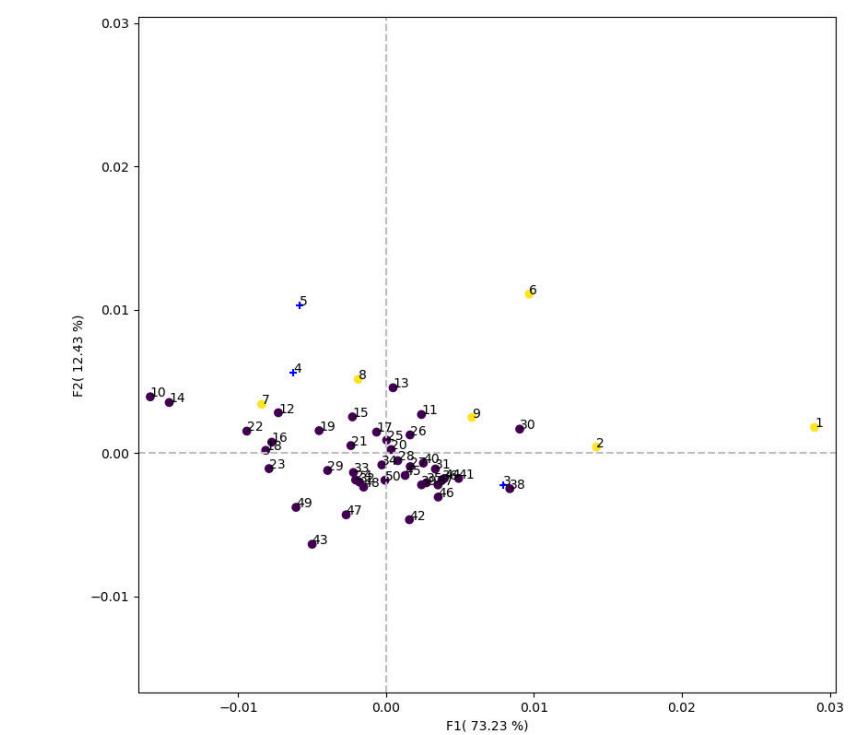
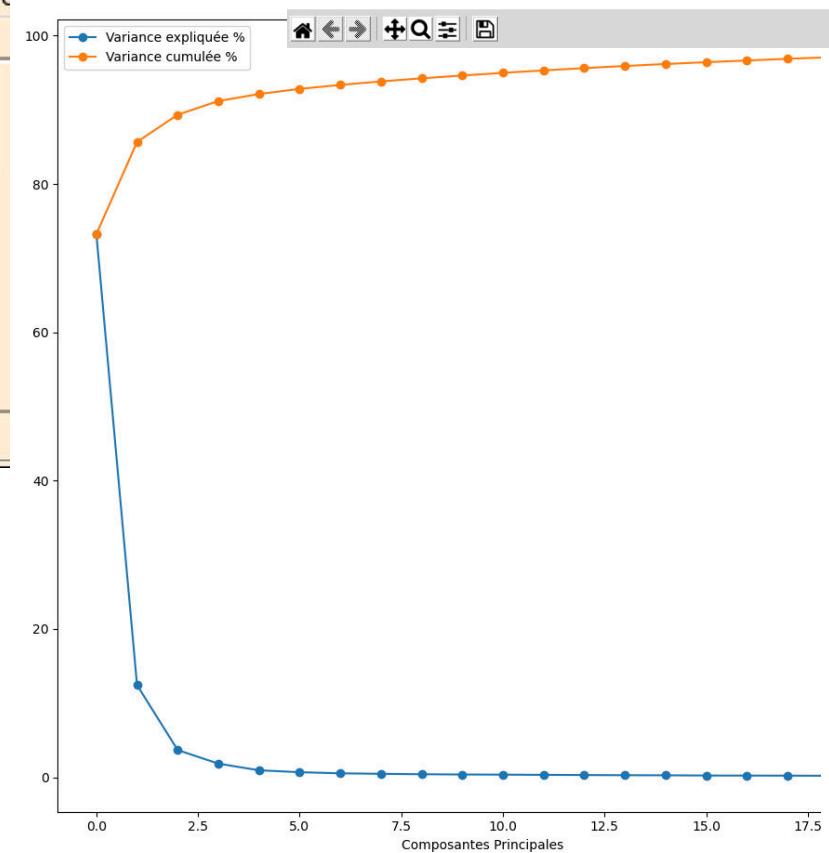


Figure 7





- Python
- Source ouverte (<https://github.com/crp2a/LIBStick>)
- Traitement par lots
- Traitements (lissage, fond continu, normalisation...)
- Extraction contrôlée des spectres moyens
- Mesures (simple ou ratio) du signal LIBS et classification
- Etudes statistiques par PCA
- Classification périodique (données NIST)

- Orellana-González et al, Diagnosis of fluorosis in Roman Cumae population (Italy, 2nd century BC - 1st century AD) using a multidisciplinary archaeometric and paleopathological approach applied to cremated human remains. Poster Colloque annuel de la Société d'Anthropologie de Paris 1846e réunion scientifique, Jan 2021, Paris, France. (hal-03532518)
- Orellana-González et al, La fluorosi a Cuma tra l'età Repubblicana e l'età Augustea (II secolo a.C. - I secolo d.C.). Poster Toccare Terra: approdi e conoscenze. Primo Convegno di archeologie flegree, Dec 2021, Baia, Italy. (hal-03531935)
- Walser, et al. « Hidden Dangers? Investigating the Impact of Volcanic Eruptions and Skeletal Fluorosis in Medieval Iceland ». Archaeological and Anthropological Sciences 12, no 3 (mars 2020): 77. <https://doi.org/10.1007/s12520-020-01026-0>.
- Petrone et al, « Ancient and Recent Evidence of Endemic Fluorosis in the Naples Area ». Journal of Geochemical Exploration 131 (août 2013): 14-27. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.11.012>.

**SPECTRATOM 10-13 mai 2022, Pau**

**ARCHÉOSCIENCES BORDEAUX** Université BORDEAUX MONTAIGNE Université de BORDEAUX pacea CNRS ÉCOLE FRANÇAISE DE ROME

## Détection et quantification du fluor par méthodes croisées LIBS et PIXE-PIGE : une étude de cas en archéologie

Yannick Lefrais<sup>1</sup>, Eliza Orellana-Gonzalez<sup>2,1,3</sup>, Stéphan Dubernet<sup>1</sup>, Henri Duday<sup>2</sup>, Dominique Castex<sup>2</sup>, Rémy Chapoulie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Bordeaux Montaigne, CNRS, UMR 6034 Archéosciences Bordeaux, France  
<sup>2</sup> Université de Bordeaux, CNRS, MC, UMR 5199 PACEA, France  
<sup>3</sup> Ecole française de Rome, Italie

**Indentification des éléments par LIBS**

Caractéristiques techniques : Laser Nd:YAG (1064 nm), Taille du spot 500 µm Spectromètre : Plage spectrale de 200 nm à 1013 nm Résolution spectrale de 0,2 nm Nombre d'impulsions par tirage : 10 Nombre de points d'analyse par échantillon : 8 Même protocole pour les échantillons bruts, les peaux et les coupes épaisses

Composition d'un os humain frais (adulte) : 65 % d'hydroxyapatite ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) + autres minéraux mineurs 25 % d'eau 10 % de protéines dont 90 % collagène (éléments C,H,O et N)

Éléments détectés dans le spectre LIBS d'un échantillon d'os archéologique : Ca, Mg, Na, CaF Ligne principale de F I à 695,6 nm non détectée par notre appareil => Utilisation des bandes moléculaires de CaF.

**Contexte historique**

Carte des Champs Phlégréens et du Vésuve (d'après Brönial, 1801) Ensemble funéraire 34/09 (© Archives CJB, CNRS-EFR)

Panoramique de crânes humains (coupes épaisses) (D'après Litton, 1989)

**Influence de la préparation des échantillons**

Raw samples, Pellet from powder, Resin-embedded thick section

Échantillons sous forme de sections épaisses en bleu (enrobés de résine, coupés à polissage et ponçage en jaune) : Échantillon 1 (1,2), échantillon 2 (11,12,13), échantillon 3 (15,16,17), échantillon 4 (18,19,20).

Après normalisation : Pas d'influence significative du mode de préparation,

=> Nous pouvons utiliser les échantillons archéologiques bruts

**Influence du type d'os**

Fémurs en violet, Côtes en jaune, Fémurs + côtes

Fémur 1 (529-534.5) :  $R^2 = 0.93$ , RMSEC = 1638 ppm, Fémur 2 (525.5-528.5) :  $R^2 = 0.93$ , RMSEC = 1614 ppm

Après normalisation : Pas d'influence significative du type d'os (paires de points proches en ACP)

=> Nous pouvons utiliser les fémurs et/ou les côtes des échantillons archéologiques bruts

**Influence de l'état de surface et de la pollution**

Pour chaque échantillon : 8 zones de 50 tirs, Chaque 10 premiers tirs (points jaunes sur l'ACP) ont été systématiquement supprimés du calcul du spectre moyen,

ACP appliquée sur les spectres normalisés, Facteur 1 (90,29%), Facteur 2 (7,58%).

=> Suppression systématique des 10 premiers tirs pour s'affranchir de la pollution et/ou de l'état de surface

**Quantification du fluor et conclusions méthodologiques**

Construction du modèle linéaire de calibration du fluor à l'aide de concentrations mesurées par PIXE-PIGE

Jeu de données d'étalonnage : 21 échantillons, Jeu de données de validation (en cours) : 35 échantillons

Utilisation de mesures normalisées du rapport CaF I/Ca. Ecart-types importants (4 quantifications par échantillon) en raison de l'hétérogénéité des échantillons.

Fluorose lourde >3500 ppm pour les os non brûlés (Petrone et al., 2013, Waster et al., 2020).

Moyenne = Linéaire (Moyenne)  $R^2 = 0.98$ , RMSEC = 804 ppm,  $R^2 = 0.98$ , RMSEC = 1257 ppm

**Premiers résultats de l'application archéologique**

Rapport des intensités des gammes spectrales [529-534.5] / [525.5-528.5] nm

Correlations avec les observations paléopathologiques : Forte, Modérée, Faible, Echantillons de contrôle

La LIBS permet de quantifier le fluor et de distinguer sans aucun doute les trois groupes suivants : Suspicion de fluorose modérée ou forte (orange), Suspicion faible (jaune), Ensemble de contrôle (pas de pathologie de fluorose).

Résultat déjà très satisfaisant à confirmer à l'aide des échantillons de contrôle (en cours)

=> La distinction entre les classes modérée et forte nécessite de travailler sur : La réduction des écart-types pour les deux techniques LIBS et PIXE-PIGE (Corriger plus précisément les échantillons), Prélèvement à la surface de l'échantillon (hétérogénéité).

=> Vers d'autres applications archéologiques ?

**LIBStick : logiciel maison pour le traitement des données LIBS**

Python, Source ouverte (<https://github.com/vrp2/LIBStick>)

- Traitement par lots
- Traitements (issage, fond continu, normalisation...)
- Calcul des rapports des spectres moyens
- Mesures (simple ou ratio) du signal LIBS et classification
- Etudes statistiques par PCA
- Classification périodique (bonnes NIST)