

ANALYSE ET SPECIATION DU TRITIUM ORGANIQUEMENT LIE (TOL) : APPLICATIONS A UN BIOINDICATEUR (*MYRIOPHYLLUM SPICATUM*)

**Anne-Laure NIVASSE^{1,2,5}, Nicolas BAGLAN^{3,6}, Marcel MOKILI⁴, Gurvan
ROUSSEAU⁴, Gilles MONTAVON¹, Olivier PERON¹**

¹ SUBATECH, Groupe Radiochimie
4, Rue Alfred Kastler – 44300 – Nantes
anne-laure.nivasse@unice.fr
gilles.montavon@subatech.in2p3.fr
olivier.peron@subatech.in2p3.fr

² INSTITUT DE CHIMIE DE NICE
28, avenue Valrose – 06108 – Nice

³ AUTORITE de SÛRETE NUCLEAIRE
15, rue Louis Lejeune – 92120 – Montrouge
nicolas.baglan@asn.fr

⁴ SUBATECH, Groupe SMART
4, Rue Alfred Kastler – 44300 – Nantes
mokili@subatech.in2p3.fr

⁵ COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES
CEA DAM DIF
Chemin du Ru – 91680 – Bruyères-le-Châtel
Former affiliation

⁶ COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES
CEA DIF DRF JACOB
Chemin du Ru – 91680 – Bruyères-le-Châtel
Former affiliation

Le tritium, isotope radioactif de l'élément hydrogène, est l'un des principaux radionucléides rejetés par les installations nucléaires en fonctionnement normal et le seul pour lequel les prévisions de rejet dans les années futures sont en hausse (projet ITER pour le développement des réacteurs à fusion nucléaire notamment).

Une fois rejeté dans l'environnement, le tritium intègre le cycle de l'hydrogène et se retrouve majoritairement sous forme d'eau tritiée. Par la suite, il s'incorpore rapidement dans les organismes vivants dans lesquels il intègre la matière organique sous forme de tritium organiquement lié (TOL). L'existence de deux formes de TOL est communément admise : une fraction dite « échangeable » (TOL-E) en équilibre permanent avec l'environnement proche et une fraction dite « non-échangeable » (TOL-NE) qui persiste dans la molécule organique porteuse jusqu'à sa dégradation. Cependant, il n'existe pas à ce jour de consensus pour décrire la répartition exacte de ces deux formes dans une molécule organique et plusieurs déclinaisons se retrouvent dans la littérature en fonction de l'application considérée [1].

Bien que la faible radiotoxicité de ce radionucléide engendre un impact sanitaire et environnemental des rejets tritiés limité, un intérêt sociétal important est porté au tritium depuis la fin des années 2000. De nombreuses interrogations sur son comportement dans l'environnement et l'existence éventuelle d'un phénomène de bioaccumulation ont ainsi émergé à la suite de la parution des rapports AGIR [2] et RIFE [3].

En réponse, l'Autorité de Sûreté Nucléaire (ASN) a publié en 2010 le Livre Blanc du Tritium, un document de synthèse des connaissances et points de vue techniques relatifs au radionucléide [4]. Ce document présentait des axes de recherches prioritaires à développer, notamment sur les questions des différentes formes du tritium, son comportement, sa potentielle bioaccumulation et son impact dans l'environnement et à l'Homme. A la suite de plusieurs projets menés ces dernières années, l'hypothèse de la bioaccumulation a été écartée mais de nombreuses études ont fait état de déséquilibres, parfois importants, entre les formes libres (eau tritiée HTO) et liées à la matière organique (tritium organiquement lié TOL) [5]. Le défaut d'harmonisation actuel et passé sur la nature exacte des différentes formes de TOL est alors considéré à l'origine de la controverse sur la potentielle bioaccumulation du tritium mais également responsable des difficultés d'interprétation des résultats inter-laboratoires.

En 2017, l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN) a publié un rapport d'actualisation des connaissances sur le tritium dans lequel l'intérêt de mieux déterminer les formes du tritium organiquement lié est confirmé [6]. Une meilleure compréhension de la spéciation du TOL permettrait alors d'améliorer les interprétations de la distribution du tritium dans l'environnement et d'apporter des réponses univoques aux questionnements soulevés sur sa rémanence et ses potentiels facteurs de concentration. Pour approfondir les connaissances sur le comportement du tritium dans l'environnement, il est alors considéré comme fondamental d'engager des investigations axées sur la répartition des formes TOL-E et TOL-NE dans les matrices environnementales.

Selon un point de vue assez répandu, la nature des formes échangeable et non-échangeable du TOL dans une molécule organique pourrait s'établir en fonction du type de liaison chimique dans lequel le tritium est impliqué. Pourtant, cette description a été plusieurs fois remise en question depuis la mise en évidence de limitations majeures des capacités d'échange de cette fraction supposée échangeable du TOL au sein de matrices environnementales [7]. Les conformations moléculaires adoptées par les macromolécules porteuses de TOL seraient alors responsables de phénomènes de liaisons et d'entraves de positions hydrogènes dans leur structure, réduisant significativement les capacités d'échange des atomes impliqués.

Pour prendre en considération ces phénomènes, plusieurs études ont suggéré d'inclure les propriétés structurales des molécules organiques porteuses pour décrire la répartition des formes échangeable et non-échangeable du TOL [1;7]. Cependant, le lien exact entre les types de structures moléculaires impliqués et la significativité de leur impact sur les capacités d'échange globales des atomes d'hydrogène d'une matrice environnementale restent à établir. En ce sens, il apparaît toujours un besoin d'informations supplémentaires pour une compréhension plus globale de la nature et de la répartition des formes échangeable et non-échangeable du TOL dans l'ensemble des biomolécules et matrices de la biomasse terrestre.

Par ailleurs, une méthode validée fait à ce jour défaut pour l'analyse des fractions TOL-E et TOL-NE dans une matrice environnementale. L'intrusivité des procédures actuelles est supposée responsable d'un potentiel biais analytique, qui ne permet pas de bénéficier d'une certitude quant à la nature des fractions analysées.

Dans ce contexte, et à la suite de plusieurs études récentes [8;9], une thèse (2018-2021) a été développée autour du sujet de la « Spéciation du tritium organiquement lié dans les matrices environnementales » [10], en collaboration avec le laboratoire Subatech Nantes et le CEA DAM de Bruyères-le-Châtel. Pour répondre à l'ensemble des questionnements précédemment soulevés, ces travaux consistaient à :

- (i) établir et comprendre l'implication de structures moléculaires spécifiques en lien avec le comportement et la spéciation du tritium organiquement lié dans les matrices environnementales et,
- (ii) statuer sur la fiabilité et la pertinence des méthodes d'échange isotopique actuelles pour l'analyse de la forme non-échangeable du TOL dans les échantillons environnementaux.

Parmi les matrices environnementales étudiées, le *Myriophyllum Spicatum*, un macrophyte aquatique invasif des cours d'eau européens, est également considéré comme un bioindicateur utilisé comme organisme modèle dans le domaine de l'écotoxicologie aquatique. L'intérêt d'étudier ici ce bioindicateur réside dans son comportement représentatif des autres matrices de son écosystème vis-à-vis du tritium, mais également dans sa composition en diverses fractions celluloseuses (lignine, hémicellulose et cellulose), dont les conformations moléculaires varient en fonction du type de matrice. Une campagne de prélèvement a été réalisée en Octobre 2018 dans la Loire en aval du CNPE de Dampierre. A la date de prélèvement, les myriophylles prélevés présentaient des activités en TOL de $49,4 \pm 0,9 \text{ Bq.L}^{-1}$ d'eau de combustion. Cette matrice et ses constituants majoritaires ont ainsi été étudiés dans le cadre de l'amélioration de la compréhension du comportement du TOL dans l'environnement. Une étude comparative entre deux méthodes de séparation et d'analyse des différentes formes de TOL a permis de quantifier les biais de la méthode actuelle et de statuer sur sa fiabilité dans le cadre de la surveillance environnementale, mais également pour l'appréhension de la distribution du TOL dans les matrices environnementales [11]. Enfin, l'étude de spéciation du TOL a montré les résultats suivants : $\alpha_{\text{iso}} = H_{\text{échangeable}}/H_{\text{totaux}} = 26,4 \pm 0,5 \%$ et $16,1 \pm 0,6 \%$ respectivement pour le myriophylle et la paroi celluloseuse et $\alpha_{\text{modèle}} = H_{\text{échangeable théorique}}/H_{\text{totaux}} = 31,5 \pm 29,0 \%$ et $29,0 \%$ respectivement pour le myriophylle et sa paroi celluloseuse. En ce sens, la détermination des capacités d'échange des atomes d'hydrogène a révélé la présence d'une forme de tritium dite « enfouie » dans le myriophylle et a permis de mettre en lumière l'intérêt d'explorer l'influence de certaines biomolécules, dont la cellulose et les protéines, sur la spéciation du TOL [12].

- [1] Kim, S. B., Baglan, N. et Davis, P. A. (2013). Current understanding of organically bound tritium (OBT) in the environment. *Journal of Environmental Radioactivity*, Vol. 126(1), 83-91.
- [2] AGIR. (2007). Review of Risks from Tritium. In: (AGIR) RotiAGoIR, editor. Health Protection Agency, Radiation, Chemical and Environmental Hazards (United Kingdom).
- [3] RIFE. (2005). Radioactivity in food and the environment. Report. 11. Scottish Environment Protection Agency (SEPA) - United kingdom.
- [4] ASN. (2010). Le livre blanc du tritium, groupes de réflexion menés de mai 2008 à avril 2010 sous l'égide de l'ASN. publié par l'ASN.
- [5] Baglan, N., Alanic, G., Le Meignen, R. et Pointurier, F. (2011). A follow up of the decrease of non exchangeable, organically bound tritium levels in the surroundings of a nuclear research center. *Journal of Environmental Radioactivity*, Vol. 102(7), 695-702.
- [6] IRSN. (2017). Rapport Actualisation des connaissances Tritium Environnement. Editor : Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN).
- [7] Baumgartner, F. et Donhaerl, W. (2004). Non-exchangeable organically bound tritium (OBT): its real nature. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Vol. 379(2), 204-209.
- [8] Bacchetta, A. (2013). Analyse et spéciation du tritium dans des matrices environnementales. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie.
- [9] Péron, O., Fourné, E., Pastor, L., Gégout, C., Reeves, B., Lethi, H. H., ... et Montavon, G. (2018). Towards speciation of organically bound tritium and deuterium: Quantification of non-exchangeable forms in carbohydrate molecules. *Chemosphere*, Vol. 196(1), 120-128.
- [10] Nivesse, A-L. (2020). Spéciation du tritium organiquement lié dans les matrices environnementales. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Mines-Télécom Atlantique Bretagne Pays de la Loire.
- [11] Nivesse, A-L., Baglan, N., Montavon, G., Granger, G. et Péron, O. (2021). Cellulose, proteins, starch and simple carbohydrates molecules control the hydrogen exchange capacity of bioindicators and foodstuffs. *Chemosphere*.
- [12] Nivesse, A-L., Baglan, N., Montavon, G., Granger, G. et Péron, O. (2021). Non-intrusive and reliable speciation of organically bound tritium in environmental matrices. *Talanta*.