

Tritium Organiquement Lié (TOL) et molécules organiques tritiées (MOT), deux entités différentes indispensables à la compréhension du devenir du tritium dans l'environnement et chez l'Homme.

Nicolas BAGLAN

CEA/DAM/DIF
F 91297 Arpajon Cedex
nicolas.baglan@cea.fr

Le tritium (^3H ou T), isotope radioactif de l'hydrogène, est un émetteur α pur, d'énergie maximum 18,6 keV, de période de demi-vie 12,3 ans dont l'inventaire permanent naturel est de 3,5 kg à l'échelle planétaire. Il se comporte principalement dans l'environnement selon le cycle de l'eau (HTO ou eau tritiée) et peut, lors de la photosynthèse, intégrer le métabolisme des molécules organiques dans les organismes vivants et former la fraction tritium organiquement lié (TOL). Le TOL est communément séparé sous deux formes : le tritium lié aux atomes de carbone, qui est supposé non-échangeable (TOL-NE) et le tritium lié à un hétéroatome électronégatif (oxygène, azote et soufre) qui lui se veut échangeable (TOL-E). Cependant cette différenciation entre TOL-E et TOL-NE ne fait pas consensus et notamment, l'IAEA (International Atomic Energy Agency) propose dans son programme EMRAS une autre déclinaison. Cette dernière inclut sous le terme TOL-NE, à la fois le tritium lié aux atomes de carbone (Carbon Bound Tritium – CBT) et le tritium « enfoui » (Buried Tritium – BT) [Baumgartner et al 2004], i.e. le tritium se trouvant en position échangeable dans des biomolécules mais inaccessible lors d'échanges isotopiques en raison de la géométrie des molécules considérées. La nature structurale du tritium déclinée sous le terme TOL-NE fait donc débat dans la communauté, et ce non consensus peut rendre délicates les interprétations des résultats analytiques.

Ainsi, au début des années 2010, plusieurs définitions des fractions de tritium organiquement lié coexistent, le plus souvent adaptées à l'emploi des données qui en résulte. Pour l'analyste, la discrimination des fractions échangeables (TOL-E) et non échangeables (TOL-NE) du tritium organiquement lié est inhérente au caractère labile des liaisons dans lesquelles les isotopes d'hydrogène sont impliqués. Sur cette base, une étape d'échange labile a été mise au point pour séparer les deux fractions. Pour l'environnementaliste, prenant en compte la conformation des macromolécules mises en jeu, une composante liée à une gêne stérique et donc une capacité d'échange inhibée et/ou réduite, est prise en compte. Pour le dosimétriste, un pool échangeable composé à la fois du tritium présent dans l'eau constitutive de l'échantillon et du TOL-E est parfois considéré [DeVol and Powell 2004]. A cela, il faut ajouter que toute contamination à partir d'une molécule organique tritiée (acide aminé, protéine...) est souvent présentée comme une contamination avec du TOL.

De ce fait, l'intégration du tritium au sein des organismes vivants entraîne différents questionnements concernant son impact sur l'homme car les processus de transfert du tritium dans les réseaux trophiques dépendent de sa forme initiale, qui doit donc être clairement définie. Un intérêt sociétal récent est porté au tritium, suite notamment à la parution de rapports faisant état de concentrations élevées en tritium, sous forme organique, dans des organismes marins [RIFE 2011 – AGIR 2007]. A la suite de ces rapports, l'Autorité de Sureté Nucléaire (ASN) a publié un livre-synthèse des connaissances et points de vue techniques relatifs au tritium [ASN, 2010], dans lequel des thèmes de recherche prioritaires concernant le tritium et ses différentes formes ont été définis : Quelles sont les formes de tritium présentes dans l'environnement ? Quel est le comportement du tritium dans l'environnement ? Y-a-t-il une accumulation de tritium dans les produits de la

chaîne alimentaire ? Y-a-t-il une potentielle bioaccumulation du tritium dans les organismes vivants ? Quel est l'impact du tritium sur l'environnement et in-fine l'homme ? Faut-il reconsidérer la radio toxicité du tritium ? Tous ces facteurs sont dépendants de la forme initiale du tritium dans les rejets (HT, HTO, molécules organiques tritiées, particules) et démontrent, si besoin était, toute l'importance de la connaissance de la spéciation du tritium. En effet, d'un point de vue analytique, la procédure expérimentale à suivre pour quantifier le tritium diffère en fonction de la forme (gazeuse, liquide, organique) considérée. De plus, les concentrations de tritium à mesurer dans l'environnement étant très faibles, la maîtrise de la détection à de très faibles concentrations est devenue un prérequis indispensable.

Néanmoins, l'étude du comportement des diverses formes de tritium dans l'environnement est un projet à long terme dont le premier écueil est de fédérer la communauté du « tritium » autour de définitions consensuelles représentatives du comportement du tritium dans l'environnement et non d'une vision liée à une application définie (analyse, dosimétrie, ...). En effet, l'ensemble de ces visions se limite souvent au comportement de l'élément hydrogène (échange isotopique, accessibilité) sans s'intéresser au comportement des molécules organiques dans lesquelles l'hydrogène est présent. Alors, dans un souci de clarification, un ensemble de définitions a été proposé afin de limiter l'appellation TOL (ou OBT) au tritium organique présent dans les organismes vivants issus de processus naturels [Kim S. B. et al 2013]

Afin d'apporter des réponses à ces interrogations, des études plus focalisées sur l'analyse et/ou la spéciation du tritium dans l'environnement ont été entreprises au cours des cinq dernières années. Ces dernières portent sur la définition des diverses fractions de TOL, les procédures analytiques employées dans le cadre de la surveillance environnementale et de la spéciation du tritium dans l'environnement. Leur objectif est d'améliorer notre compréhension du devenir du tritium dans l'environnement avec une information jusqu'à l'échelle des « molécules porteuses » et in-fine une meilleure vision des mécanismes mis en jeu.

Au niveau analytique, cela se traduit par la publication de la méthode 384 de la CETAMA (DEN/DRCP/CETAMA/NT/2013/03) portant sur l'analyse du tritium dans les matrices environnementales en 2013 et la parution de la norme XP M60-824 (Mesurage du tritium de l'eau libre (TED) et du tritium organiquement lié dans les matrices environnementales) en 2016. En plus de ces actions génériques, l'intégration de plus en plus fréquente de l'analyse élémentaire (CHNS-O), afin de mesurer les teneurs en hydrogène des échantillons analysés a permis réduire fortement l'incertitude sur les teneurs en tritium des diverses fractions. En plus du pourcentage d'hydrogène, l'utilisation de l'analyseur CHNS-O a permis la mesure des teneurs en carbone, azote et oxygène dans les mêmes échantillons, fournissant ainsi une aide à l'optimisation des procédures analytiques et également une première information sur les molécules porteuses d'atomes de tritium dans des échantillons environnementaux. En effet, des eaux d'échanges riches en oxygène et hydrogène indiquent la présence de molécules de type sucre ; alors que des eaux d'échanges riches en azote et hydrogène indiquent la présence de molécules de type acides aminés.

Des études menées en 2011, sur l'optimisation de la procédure d'échange isotopique ont montré que les seules propriétés physico-chimiques de l'hydrogène n'étaient peut-être pas suffisantes pour expliquer son devenir lors de l'échange labile et a fortiori dans des échantillons de l'environnement [Baglan. et al 2011]. Ce constat a été le point de départ d'un travail de recherche, dont l'objectif était de déterminer les principales molécules organiques du monde du vivant (protéines, acides aminés, lipides..) pouvant influencer sur la distribution du tritium dans l'environnement [Bachetta A. 2014]. Les résultats obtenus au cours de ce travail de recherche ont confirmé que les définitions des fractions échangeables du tritium, focalisées sur les propriétés physico-chimiques de l'hydrogène, n'étaient pas suffisantes pour expliquer son comportement dans l'environnement et que le rôle des molécules porteuses (molécules organiques du vivant) était important.

En effet, en plus des échanges isotopiques hydrogène-tritium supposés gouverner la distribution du tritium entre la phase aqueuse et le solide, la coloration des eaux d'échange labile est l'indicateur d'une probable solubilisation de molécules et donc d'un autre vecteur des atomes de tritium.

Par ailleurs, sur cette même période, une étude de toxicologie a été initiée dans le cadre du projet Tox-Nuc. Celle-ci, a pour but d'étudier les éventuels effets du tritium, en termes de localisation, mortalité des cellules, retard de croissance... en fonction de la forme ingérée. L'effet pour une levure (*saccharomyces cerevisiae*) d'une exposition à différentes molécules organiques tritiées et donc des cibles différentes a été étudié [S. Cheddin et al, 2014] avec :

- la leucine tritiée qui devrait marquer principalement les protéines,
- l'uracile tritiée qui devrait marquer principalement l'ARN et à un degré moindre l'ADN,
- la méthionine tritiée qui devrait marquer les protéines mais aussi des ARN, des lipides et de petites molécules,
- l'eau tritiée prise comme référence.

La stratégie d'étude choisie était d'observer les éventuels effets de ces molécules tritiées pour des activités cohérentes avec celles observées dans des rejets d'installation pour le niveau haut [ASN 2010] et les limites fournies par des organisations internationales comme l'OMS (www.who.int/fr/) pour le niveau bas (tableau 1).

Tableau 1 : Gamme de concentration en activité des molécules organiques tritiées utilisées au cours de cette étude.

Les études ont débuté par des expositions de la levure avec des solutions dont les concentrations en activité étaient comprises 7×10^6 et 7×10^9 Bq.L⁻¹. Les conclusions principales sont :

- le tritium est bien retrouvé dans les fractions attendues en fonction de la molécule organique tritiée utilisée,
- pour aucune de ces concentrations en activités une mortalité cellulaire significative n'a été observée,
- un ralentissement de la croissance des cellules n'est observable qu'à partir d'une dilution au 1/50ème soit une concentration en activité de 7×10^8 Bq.L⁻¹.

Ces résultats confirment le rôle important des molécules organiques tritiées dans la distribution du tritium dans les organismes et montrent que la compréhension du devenir du tritium dans l'environnement et in-fine chez l'homme nécessite encore de nombreux efforts à la fois au niveau :

- (i) sémantique afin de bien discriminer tritium organiquement lié (TOL) et molécules organiques tritiées (MOT) et ainsi avoir une définition claire et sans ambiguïté des fractions de tritium dans les effluents, les échantillons environnementaux,
- (ii) analytique pour continuer d'optimiser les procédures analytiques dédiées à la détermination des fractions TED et TOL mais également par l'utilisation d'outils séparatifs performants de discriminer les familles de molécules organiques tritiées et si possible les MOT proprement dites,
- (iii) A un niveau plus fondamental, la poursuite des études entreprises pour la discrimination des fractions échangeables et non échangeables de tritium organiquement lié afin d'avancer à la fois sur la discrimination expérimentale des fractions organiquement liés échangeables et non échangeables du tritium et sur la validation expérimentale de la spéciation théorique de ces deux formes.

Références :

AGIR 2007 : Advisory Group on Ionising Radiation, November 2007. Review of risks from tritium documents of the health Protection agency: radiation, chemical and environmental hazards. REC 4. Available from: <http://www.hpa.org.uk/publications>.

ASN 2010 : Livre Blanc du Tritium Juin 2010

Bachetta A. : Analyse et spéciation du tritium dans des matrices environnementales, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI 2014, <NNT : 2014PA066026>.

Baglan, N., Alanic, G., Contribution of elemental analysis and UV-Vis spectrophotometry to the understanding of E-OBT elimination stage. Fusion Sci. Technol. 60 (2011) 948-951.

Baumgartner F., Donhaerl W., Non exchangeable organically bound tritium (OBT) its real nature. Anal. Bioanal. Chem. 379-2 (2004) 204-209.

CETAMA (2013), Méthode 384 : Analyse du tritium dans les matrices environnementales. Commission d'ETAbblissement des Méthodes d'Analyse - DEN/DRCP/CETAMA/NT/2013/03.

Cheddin et al, Effets cellulaires et moléculaires de l'exposition au tritium chez Saccharomyces Cerevisiae, CETAMA GT31 Sept. 2014.

DeVol T. A. and Powell B. A., Theoretical organically bound tritium dose estimates. Health Physics 86-2 (2004) 183-186.

Kim S. B., Baglan N. et Davis P. A., Current understanding of organically bound tritium (OBT) in the environment, J. of Environmental Radioactivity 126 (2013) 83-91.

Livre blanc du tritium, Collectifs, ASN 2010.

RIFE 2011 : Radioactivity in Food and the Environment N°11 2006. Environment Agency (UK) report ISSN 1365-6414.

XP M 60-824 (2016); Énergie nucléaire — Mesure de la radioactivité dans l'environnement — Méthode d'essai pour l'analyse du tritium de l'eau libre et du tritium organiquement lié dans les matrices environnementales.