

Journées Techniques SFRP « Faune, Flore, Denrées et Radioactivité »

17 et 18/11/2021

ECHANTILLONNAGE, CONSERVATION, TRAITEMENT ET TECHNIQUES DE MESURE :

BONNES PRATIQUES DE SELECTION DES METHODES
EN FONCTION DES OBJECTIFS ASSOCIES AUX ANALYSES



Nicolas BAGLAN (ASN)
Fabrice LEPRIEUR (CEA)



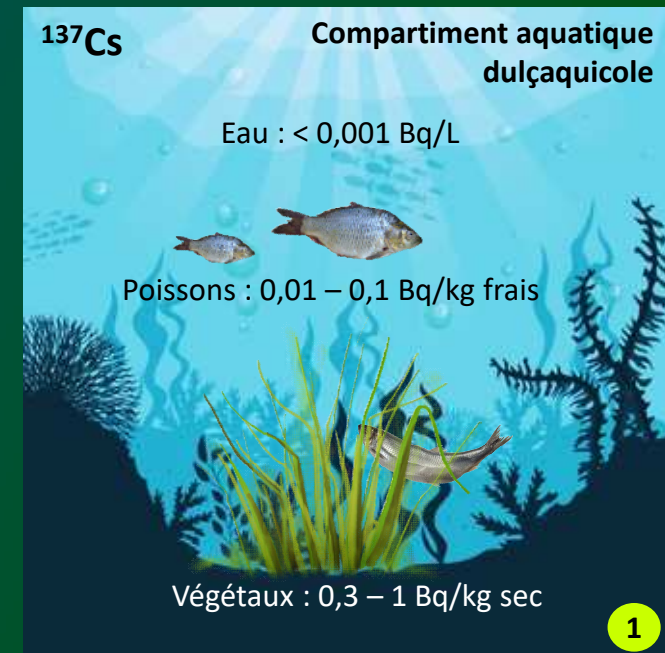
Introduction

Dans l'environnement, la présence de composés exogènes peut entraîner des perturbations au sein des êtres vivants (microorganismes, flore et faune) et des compartiments abiotiques fondamentaux des milieux (eau, sol et atmosphère).

- Comment mieux détecter les substances exogènes dans l'environnement ?
- Comment évaluer leur comportement dans les écosystèmes, leur biodisponibilité et leur transfert vers les chaînes trophiques ?
- Comment évaluer un impact global sur les différents écosystèmes ?

Les experts ont besoin d'outils capables d'apprécier de manière globale et intégrée l'impact de ses composés afin d'améliorer les connaissances sur leurs transferts et leur comportement dans tous les compartiments de l'environnement.

Une grande partie des réponses à ces questions est issue de l'analyse de **bioindicateurs pertinents** pour mettre en évidence la présence de radionucléides naturels et artificiels difficilement décelables dans le milieu ambiant via des analyses directes de l'air ou de l'eau.



Introduction

Le prélèvement de bioindicateurs pour la recherche des radionucléides dans l'environnement fait aujourd'hui partie intégrante des programmes de surveillance et de contrôle afin de :

- contribuer à la connaissance de l'état radiologique et radioécologique de l'environnement et de son évolution ;
- contribuer à l'évaluation des expositions radiologiques dans un objectif de protection sanitaire des populations et de l'environnement ;
- respecter les prescriptions applicables aux installations exerçant une activité nucléaire ;
- le cas échéant, détecter une élévation anormale de la radioactivité de l'environnement.

Sessions 2 et 3

MESURER

TERRAIN / LABO

- Prélèvement d'échantillons
- Mesures (Bq)

MODELISER

LABORATOIRE

- Reconstitution d'écosystèmes simplifiés
- Compréhension des mécanismes de transfert

Session 4 : étude et modélisation des transferts

PREVOIR

OUTILS DE CALCUL

- Evaluation de l'impact radioécologique (Bq) et dosimétrique (Sv)

Session 5 : dose à l'homme
Session 6 : dose à la faune et à la flore

Sommaire

➔ Définition et dimensionnement d'un programme d'échantillonnage

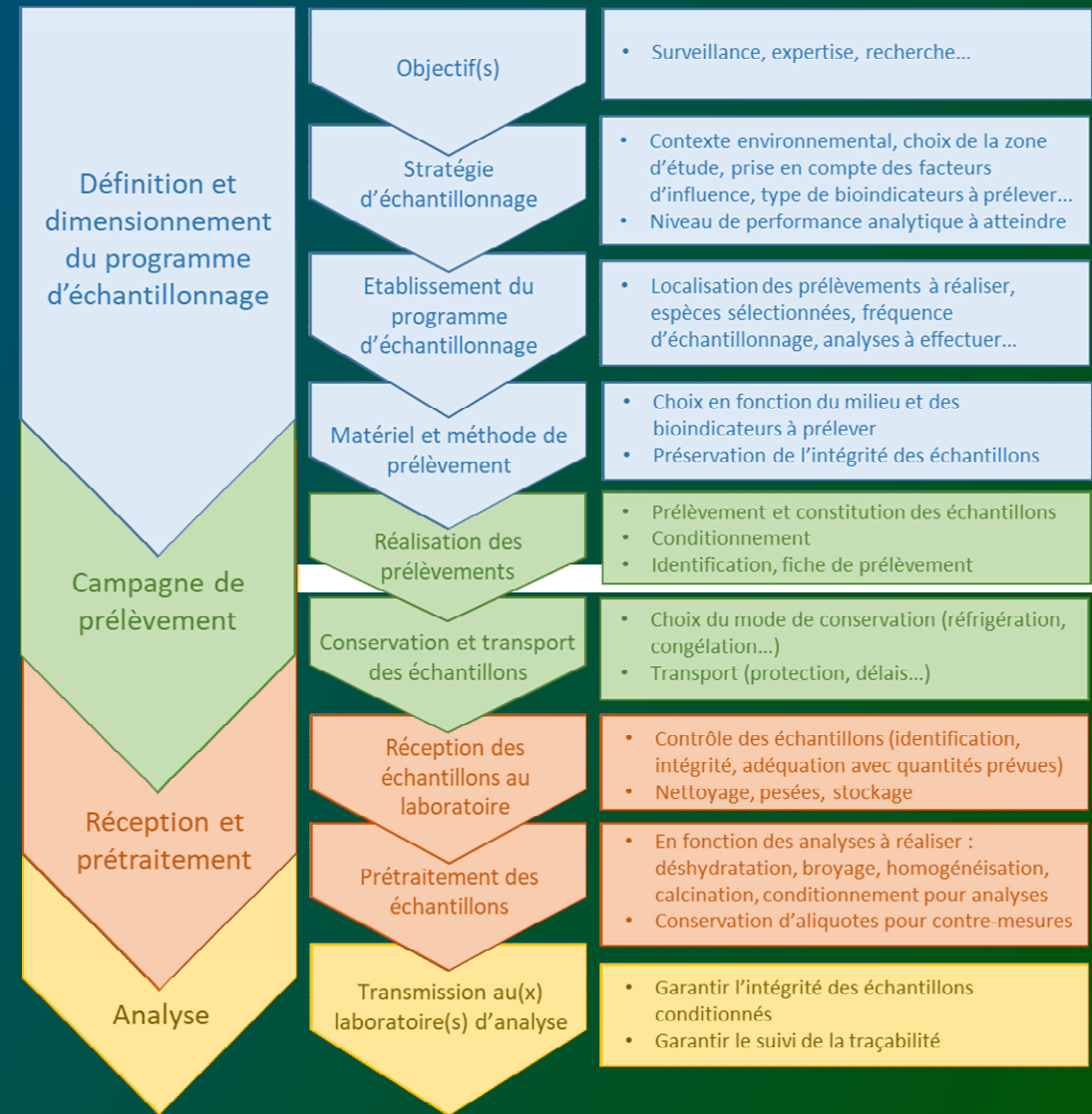
➔ Campagne de prélèvement

➔ Réception et prétraitement



Fil conducteur : cas des échantillons destinés aux analyses ^3H (TED, TOL)

➔ Etat de l'art normatif pour les bioindicateurs



Stratégie d'échantillonnage

Définition et dimensionnement du programme d'échantillonnage

Objectif(s)

Stratégie d'échantillonnage

Etablissement du programme d'échantillonnage

Matériel et méthode de prélèvement

Éléments de sortie :

Ces données permettent de construire le **programme d'échantillonnage**

La synthèse des connaissances disponibles (état radioécologique, états de référence, études antérieures)

La nature et le type de radionucléides

Les exigences réglementaires applicables relatives à la préservation des milieux et des espèces

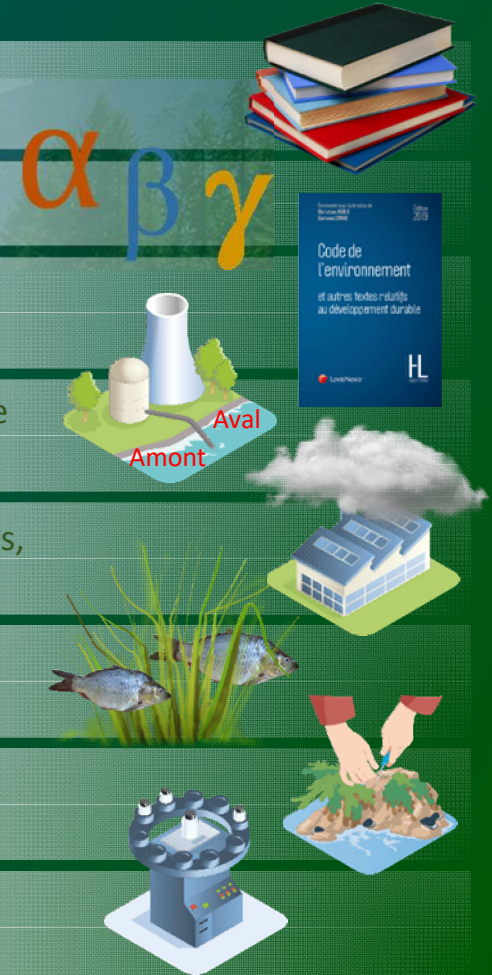
Le choix de la zone d'étude positionnée par rapport à une éventuelle source d'émission de radionucléides

Les facteurs d'influence (conditions environnantes - météorologiques, anthropiques,...)

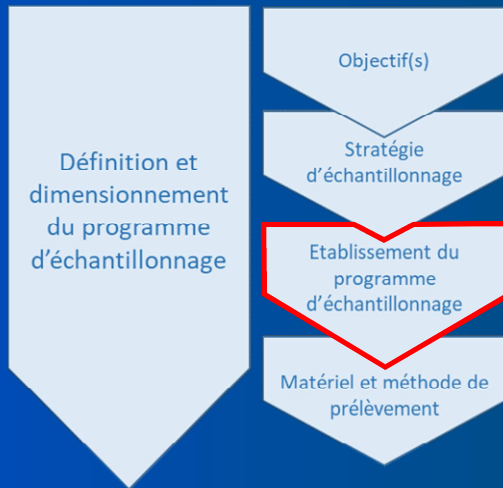
Le type de bioindicateurs dont le choix est conditionné par leurs caractéristiques et leur disponibilité

La fréquence d'échantillonnage et le mode d'échantillonnage (prélèvements élémentaires, échantillons composites)

Les performances analytiques à atteindre par le laboratoire de mesure, définies en fonction des objectifs fixés



Sélection des bioindicateurs

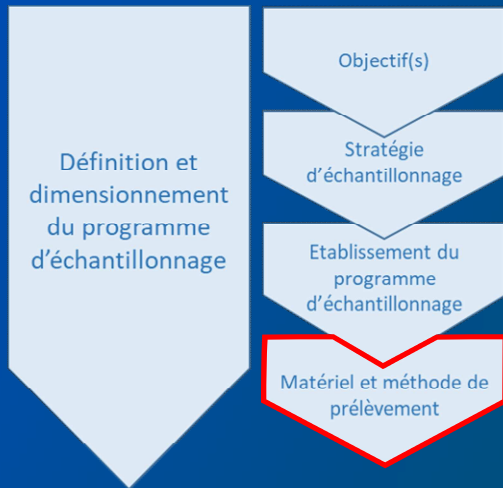


Les bioindicateurs, qu'ils soient d'origine animale ou végétale, sont sélectionnés en fonction :

- ➔ Du respect des prescriptions administratives locales, régionales ou nationales en matière de protection des espèces végétales et animales
- ➔ De leur présence et de leur disponibilité en quantité suffisante au cours du temps et dans un espace géographique déterminé (échelle régionale...)
- ➔ De la capacité de réponse à la présence de radionucléides naturels et artificiels :
 - Forte aptitude à révéler la présence de radionucléides à l'état de traces (produits de fission et d'activation dans les bryophytes)
 - Spécificité de réponse à un ou plusieurs radionucléides (strontium 90 dans les os et les arêtes, césium 137 dans les muscles)
 - Intégration rapide des variations des niveaux d'activité des radionucléides dans le milieu (indicateur sentinelle : TED dans les végétaux aquatiques)
 - Représentativité des niveaux d'activité moyenne des radionucléides présents (indicateur chronique : TOL et ^{14}C dans les feuilles d'arbre)
- ➔ De leur représentativité dans un réseau trophique (herbivore, carnivore, filtreur...)
- ➔ Des critères de faisabilité comme :
 - la collecte sur le terrain (conditions d'accès au prélèvement), le transport et la conservation des échantillons, la facilité de préparation des échantillons...



Prélèvement et équipements



Trois critères principaux sont à prendre en compte pour le prélèvement et les équipements utilisés :

➡ La propreté du matériel utilisé pour le prélèvement :

- le port de gants est recommandé
- les équipements de prélèvement seront systématiquement nettoyés entre chaque utilisation

➡ La préservation de l'intégrité de l'échantillon :

Le matériel doit préserver l'échantillon :

- des pertes par adsorption sur les parois
- de l'évaporation ou des échanges avec le milieu
(en particulier dans le cas d'une analyse de TED ou de TOL)
- de la contamination par des éléments extérieurs à l'échantillon d'origine



➡ La fonctionnalité des récipients utilisés pour le conditionnement :

- dimension, volume, forme (facilité de remplissage)
- résistance thermique (froid et chaleur) et/ou mécanique
- ergonomie et facilité de fermeture / ouverture, étanchéité
- aptitude à être nettoyé en cas de réutilisation



Prélèvement : masse optimale

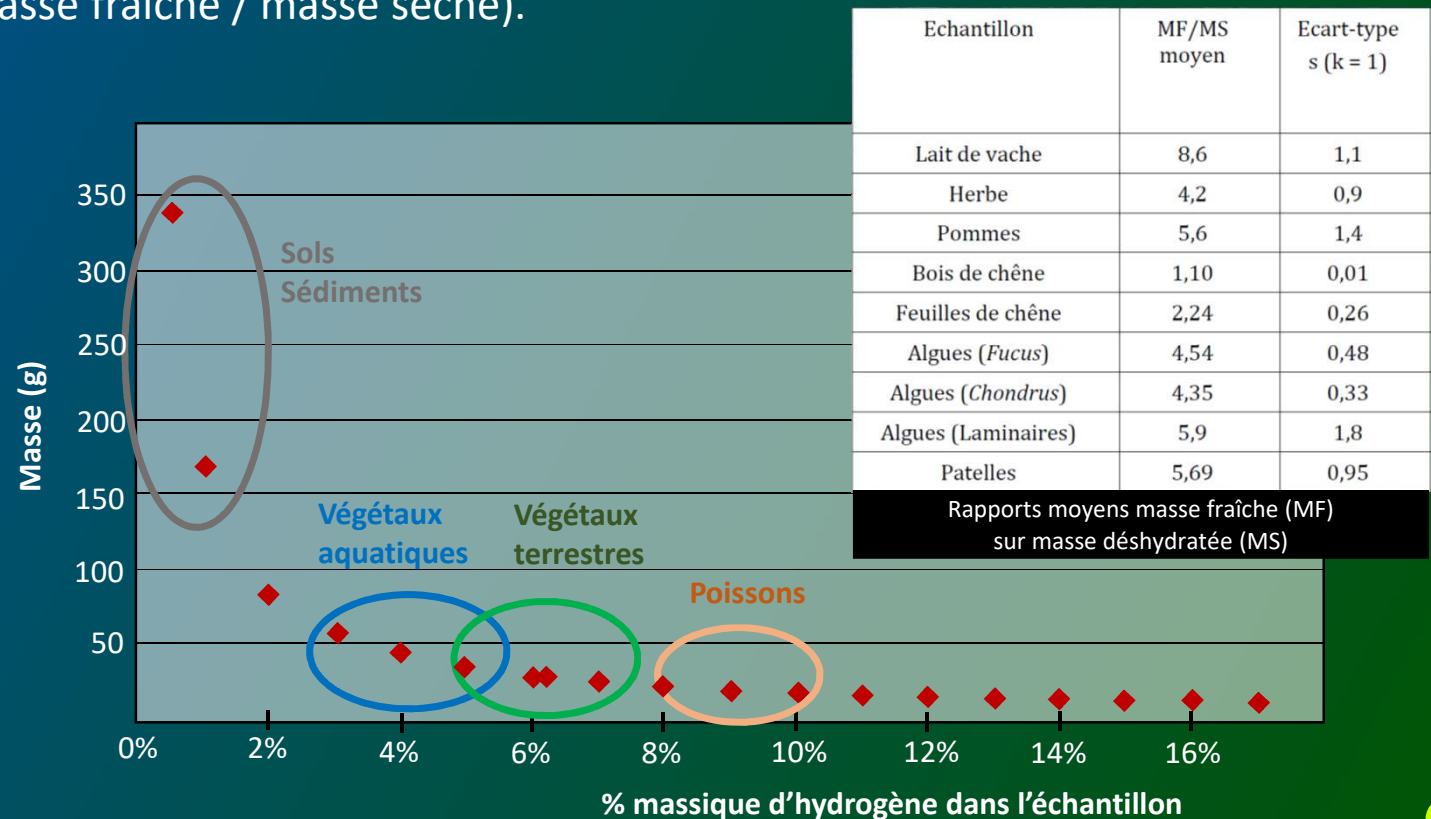


Tritium organiquement lié (TOL) :

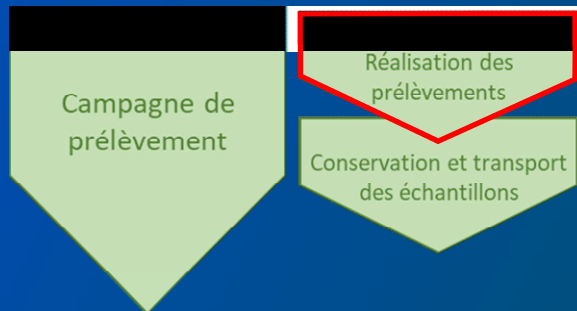
Masse d'échantillon déshydraté (en g) nécessaire pour récupérer 15 g d'eau (en fonction du % massique d'hydrogène dans chaque type d'échantillon)



La masse optimale à prélever nécessaire aux analyses est déterminée au préalable en fonction des performances à atteindre, des types d'analyses à réaliser et du traitement associé (perte de masse lors du traitement, rapport masse fraîche / masse sèche).



Constitution des échantillons



L'échantillonnage est une étape essentielle qui conditionne la validité et la représentativité de toutes les analyses ultérieures sur l'échantillon.

Constitution d'un ou de plusieurs échantillons :

- **Phase de tri** : les échantillons sont triés et/ou nettoyés pour les débarrasser d'éventuels éléments organiques ou minéraux, étrangers à l'indicateur biologique sélectionné.
 - **Cas du ^3H dans les végétaux aquatiques** : opération de lavage (si nécessaire) à effectuer avec l'eau du milieu de prélèvement afin d'exclure tout contact ultérieur avec une solution susceptible d'échanger de l'hydrogène avec l'échantillon.
- **Fractionnement** : un fractionnement de l'échantillon peut être entrepris selon la stratégie d'échantillonnage adoptée, sur le terrain ou au laboratoire :
 - mollusques, crustacés : séparation de la chair et de la coquille
 - végétaux : séparation de la partie foliaire et de la partie racinaire
 - poissons : séparation des muscles, des viscères et du squelette

Identification des échantillons



Chaque échantillon prélevé doit être identifié et étiqueté de façon durable et sans ambiguïté.

En pratique, l'utilisation de formulaires, d'étiquettes pré-remplies ou de matériel informatique de terrain facilite l'enregistrement des informations associées à chaque échantillon pour satisfaire à l'objectif de traçabilité.

La fiche de prélèvement permet de restituer des informations pouvant être utilisées lors de l'interprétation des résultats :

- référence unique de l'échantillon (retranscrit sur le contenant lui-même)
- nom du lieu de prélèvement, avec coordonnées géographiques et toute autre indication permettant l'identification précise du lieu (nom de l'exploitation agricole, commune, etc.)
- date et heure du prélèvement
- identification de la personne ayant effectué le prélèvement (nom, visa,...)

Exemple de fiche d'identification d'un prélèvement dans le milieu terrestre

REFERENCE DE L'ECHANTILLON			
PRELEVEUR			
Nom – Prénom		Organisme	
Téléphone / Courriel		Adresse	
DATE DE PRELEVEMENT			
Date de début (JJ/MM/AA)		Heure de début (H : min)	
Date de fin (JJ/MM/AA)		Heure de fin (H : min)	
LIEU DE PRELEVEMENT			
Libellé du site ou de l'installation		Département / Pays	
Géoréférencement			
Commune		Latitude	Longitude
CARACTERISTIQUES DU PRELEVEMENT ET OBSERVATIONS IN SITU			
Nature de l'échantillon, fraction		Espèce	
Poids, volume ou nombre d'échantillons		Mode de prélèvement	
Stade végétatif		Conditionnement	
Observations météo		Mode de conservation	
OBSERVATIONS			
LABORATOIRE DESTINATAIRE DE L'ECHANTILLON			



Conservation des échantillons - Transport



Tous les indicateurs biologiques sont susceptibles de se dégrader plus ou moins rapidement par suite des réactions physiques, chimiques ou biologiques qui peuvent avoir lieu entre l'instant du prélèvement et l'analyse.

Ce point est particulièrement à prendre en compte pour la détermination de l'activité des isotopes radioactifs (^3H , ^{14}C) des éléments majeurs constitutifs de la matière vivante.



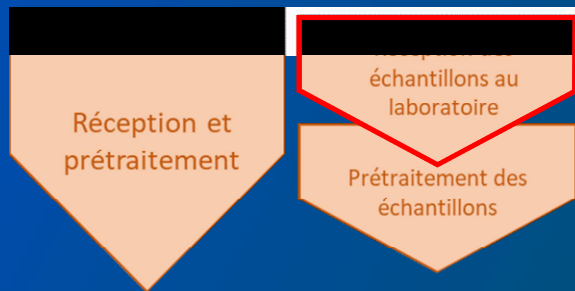
Tout contact entre l'échantillon et l'atmosphère (échanges avec la vapeur d'eau de l'air depuis l'échantillonnage jusqu'à l'arrivée au laboratoire). L'échantillon peut être conditionné sur site en sachet étanche. La mise sous vide favorise également l'isolement de l'échantillon vis-à-vis de la contamination par la vapeur d'eau.

Le choix de la méthode de conservation d'échantillons (réfrigération, congélation, surgélation) doit être en adéquation avec les exigences du laboratoire relatives à la technique analytique.

L'intégrité de l'échantillon prélevé doit être assurée pendant le transport. Le respect d'un temps le plus court possible entre le prélèvement et le lieu de stockage (laboratoire,...) est à privilégier pour assurer l'intégrité de l'échantillon pendant son transport.



Réception des échantillons au laboratoire



À l'arrivée au laboratoire, il est recommandé de contrôler les caractéristiques des échantillons au regard des critères d'acceptation du laboratoire :

- intégrité des échantillons (conditionnement, état de conservation,...)
- identification de l'échantillon et fiche de prélèvement
- adéquation entre la quantité prélevée et la quantité nécessaire pour les analyses à réaliser

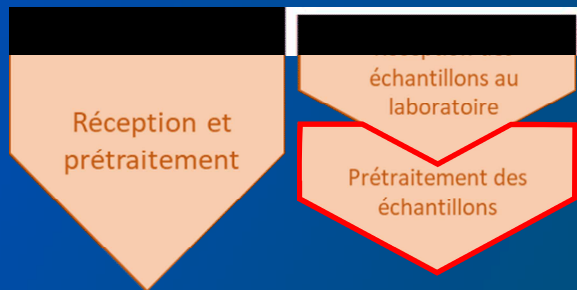
La traçabilité des opérations menées doit permettre de remonter à l'identification complète d'un échantillon et des opérations s'y rapportant.



Tritium de l'eau de déshydratation (TED) : mettre l'échantillon frais dans une géométrie adaptée à l'étape de déshydratation et de le congeler

Tritium organiquement lié (TOL) : déshydrater et conserver dans un contenant étanche les échantillons frais , ou les congeler dans une géométrie adaptées à l'étape de déshydratation.

Prétraitement des échantillons

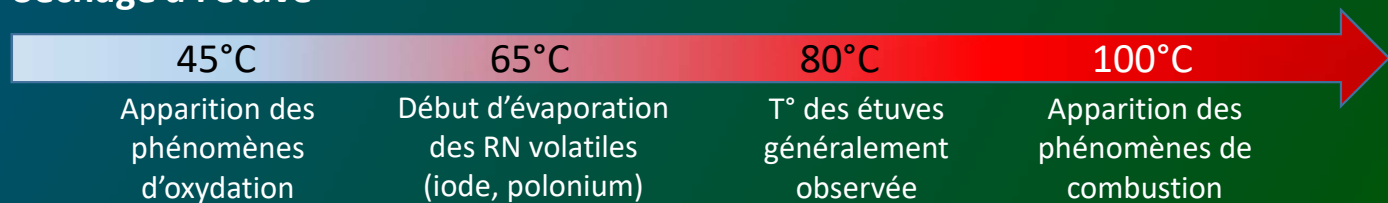


Prétraitement = ensemble des opérations de traitement physique pouvant être effectuées sur les échantillons avant un traitement chimique potentiel et la mesure de radioactivité.

Selon les méthodes analytiques qui sont utilisées, les échantillons peuvent faire l'objet d'essais sous forme fraîche, déshydratée ou de cendres. Les opérations de déshydratation, de broyage et de calcination sont définies en fonction des analyses à réaliser.

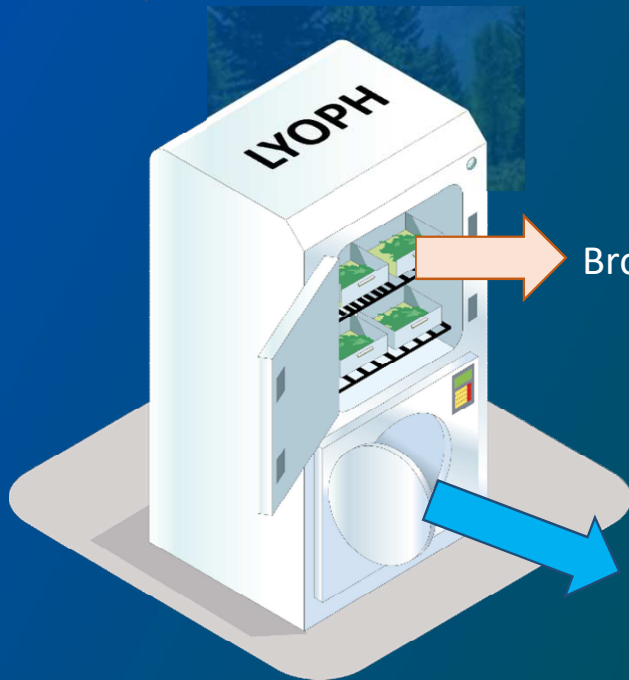
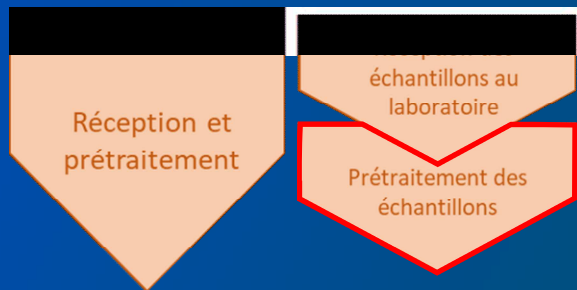
Déshydratation

1 - Séchage à l'étuve



Les échantillons à mesurer sous une forme sèche (sauf cas particulier du ^3H et du ^{14}C) sont placés dans une étuve dont la température est fixée en fonction des radionucléides recherchés (et des matrices à sécher).

Prétraitement des échantillons



Déshydratation

2 - Lyophilisation



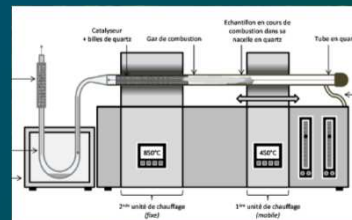
La technique de lyophilisation est principalement utilisée pour la déshydratation dans le cas de la mesure de ^3H et/ou ^{14}C .

Les échantillons sont lyophilisés afin de séparer la phase solide déshydratée de l'eau (permettant ainsi de réaliser les mesures de TED et de TOL).



À la sortie de l'étuve ou du lyophilisateur, les échantillons peuvent être conservés temporairement dans un dessiccateur étanche renfermant un agent déshydratant ou placé à l'abri de l'air dans un contenant étanche.

Broyage



Combustion
(ex : four tubulaire)

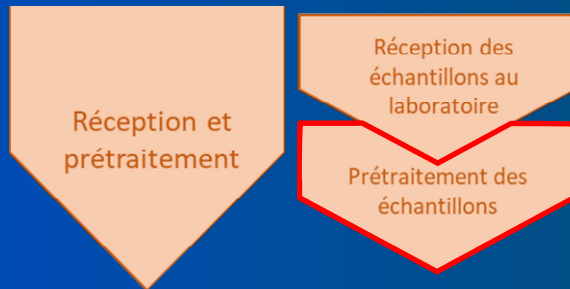
Eau de
combustion

Neutralisation
Distillation

Mesure du Tritium de l'eau de déshydratation
(TED) par scintillation liquide

Mesure du Tritium
organiquement lié (TOL)
par scintillation liquide

Prétraitement des échantillons



Broyage - Homogénéisation

Les échantillons susceptibles d'être analysés, sous une forme fraîche ou après déshydratation, doivent être homogénéisés. Cette étape est généralement réalisée par broyage.

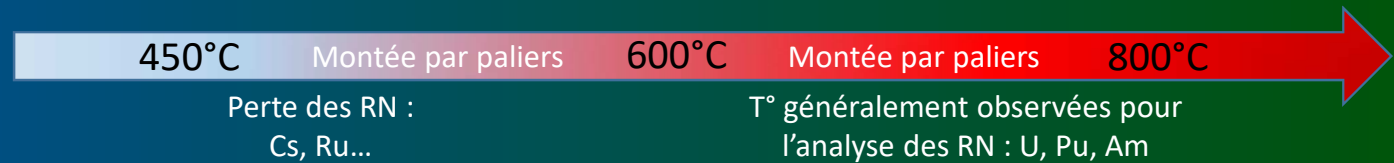
Dans le cas de la préparation des échantillons pour l'analyse du TOL, le broyage de l'échantillon après lyophilisation a pour objectif d'obtenir une granulométrie la plus homogène possible (incidence sur la qualité de la combustion).

Le broyage ne doit pas provoquer la surchauffe des échantillons (risque de perte de ^3H).



Calcination

Les échantillons déshydratés (secs) et homogénéisés qui doivent être mesurés sous forme de cendres sont calcinés dans un four.



En fonction du type de mesure souhaité (spectrométrie gamma, spectrométrie alpha), une calcination partielle ou complète des échantillons peut être réalisée.



Etat de l'art normatif

Des travaux de normalisation novateurs menés en France
au sein du BNEN

➔ 1997 – 2001

Les travaux de rédaction de normes de mesurages de la radioactivité dans des matrices de type « bioindicateurs » réalisés par la commission M60-3 (mesure de la radioactivité dans l'environnement) du BNEN (Bureau de normalisation des équipements nucléaires) se sont basés sur les protocoles utilisés dans les laboratoires français puisqu'il n'existait aucune norme internationale CEN et ISO sur le sujet.

Les experts de la commission M60-3 ont rédigé 9 projets, publiés entre mai 1997 et mars 2001 en normes AFNOR (série M60-780).

➔ 2015 – 2020

Ces normes ont fait l'objet d'un long processus de révision entre 2015 et 2019.

En mars 2020, 4 nouvelles normes de la série M60-780 ont été publiées. Les laboratoires disposent aujourd'hui d'un corpus normatif très complet pour l'échantillonnage, le conditionnement et le prétraitement de bioindicateurs dans les différents milieux de l'environnement (terrestre, aquatique dulçaquicole et marin).



Etat de l'art normatif

Le travail se poursuit au niveau national et international

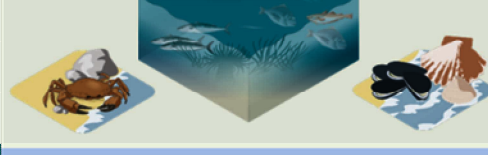
Devant l'absence de normes sur ce même sujet au niveau international ISO, les travaux normatifs français (NF M60-780) ont été proposés en 2021 au niveau international ISO afin de les valoriser sur le plan technique.

➡ Le groupe de travail « bioindicateurs » du BNEN M60-3 a également piloté la publication de normes de mesurages du tritium (NF M60-824) et du carbone 14 (NF M60-812-2, actuellement en fin de processus de révision) dans des matrices environnementales.



Ces normes sont d'une importance primordiale pour les laboratoires d'essais.

Elles leur permettent d'utiliser des méthodes consensuelles validées pour leur permettre de répondre aux demandes réglementaires de conformité à la norme ISO/IEC 17025 sur les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais pour les mesurages de la radioactivité dans l'environnement.

	NF M 60-780-0 (Mars 2020) Mesurage de la radioactivité dans l'environnement - Bioindicateurs Partie 0 : Guide général pour l'échantillonnage, le conditionnement et le prétraitement de bioindicateurs dans l'environnement
	NF M 60-780-1 (Mars 2020) Mesurage de la radioactivité dans l'environnement - Bioindicateurs Partie 1 : Guide général pour l'échantillonnage, le conditionnement et le prétraitement de bioindicateurs du milieu terrestre
	NF M 60-780-2 (Mars 2020) Mesurage de la radioactivité dans l'environnement - Bioindicateurs Partie 2 : Guide général pour l'échantillonnage, le conditionnement et le prétraitement de bioindicateurs du milieu dulçaquicole
	NF M 60-780-3 (Mars 2020) Mesurage de la radioactivité dans l'environnement - Bioindicateurs Partie 3 : Guide général pour l'échantillonnage, le conditionnement et le prétraitement de bioindicateurs du milieu marin
	NF M 60-824 (Novembre 2020) Mesurage 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
	NF M 60-812-2 (Août 2006) <i>(Révision en cours - GT Bioindicateurs)</i> Mesurage de la radioactivité dans l'environnement Mesurage de l'activité du carbone 14 par scintillation liquide dans les matrices carbonées de l'environnement

Et demain ?

- ➔ Les experts ont besoin de documents techniques de qualité pour les études d'aujourd'hui et de demain. Pour conserver une base technique robuste, une mutualisation des connaissances et des compétences est nécessaire.
- ➔ La **CETAMA** et ses groupes de travail sont des instances permettant les échanges techniques et scientifiques, ainsi que la publication de méthodes. Le **BNEN** et ses groupes de travail s'appuient notamment sur ces méthodes pour rédiger les normes qui seront demain intégrées dans la réglementation.

Appel à tous les experts

Rejoignez la CETAMA et/ou le BNEN et participez aux débats techniques au sein des différents GT et à l'élaboration ou la révision des méthodes / normes qui vous concernent.



WE NEED YOU!

MERCI DE VOTRE ATTENTION !

Nicolas Baglan

AUTORITE DE SÛRETÉ NUCLEAIRE

15 rue Louis Lejeune
92120 – Montrouge



E-mail

nicolas.baglan@asn.fr

Fabrice Leprieur

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES

DAM Ile-de-France – Bruyères-le-Châtel
91297 – Arpajon Cedex

E-mail

fabrice.leprieur@cea.fr

